UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

EVALUACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Eryngium heterophyllum* (HIERBA DEL SAPO); PARA COMPROBAR SU ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE Y ANTIINFLAMATORIA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

JESSICA SOLEDAD SÁNCHEZ FLORES

Director de tesis: M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez

Asesor: Dr. Rubén Marroquín Segura

LUGAR DE DESARROLLO:

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II
Laboratorio 312, Laboratorio 1 planta alta UMIEZ

México D.F. 18 febrero2013

AGRADECIMIENTOS

Expreso mis sinceros agradecimiento a:

A la máxima casa de estudio, la Universidad Nacional Autónoma de México por darme la oportunidad de cumplir con uno de mis mayores sueños.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la que me siento orgullosa de formar parte y agradezco me haya dado la oportunidad de concluir la tesis en sus instalaciones.

A mis padres que dedicaron tiempo a educarme, que se desvelaron y esforzaron, quienes esperaron con paciencia para hoy poder ver el fruto de esos esfuerzos.

A mi novio que estuvo al pendiente en todo el proceso de mi tesis y que no escatimo en brindarme su apoyo.

A mi director de tesis M. en C. Rodolfo Carreón Sánchez y mi asesor Dr. Rubén Marroquín Segura que me brindaron todo su apoyo y tiempo además de facilitarme todo lo necesario para poder llevar a cabo esta tesis.

Al Q. Carlos Salvador Valadez Sánchez que me brindó su apoyo y tiempo, además me compartió de sus conocimientos para enriquecer la tesis.

Al Dr. José Luis Alfredo Mora Guevara que me brindo su apoyo y me dedicó su tiempo para revisar y profundizar mi tesis.

A cada uno de los miembros del jurado, que estuvieron siempre dispuestos a recibirme, brindarme su tiempo y apoyarme para realizar mis trámites con facilidad.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
I. MARCO TEÓRICO	3
1.1 PLANTAS MEDICINALES	3
1.1.1. Principios activos de las plantas medicinales	4
1.1.2 Metabolitos secundarios	5
1.1.3 Factores que afectan los metabolitos secundarios de una planta medicinal	6
1.1.3.1 Factores fisicoquímicos o abióticos	6
1.1.3.2 Factores biológicos	7
1.1.3.3 Fenología	7
1.2. ESTUDIO DE LAS PLANTAS MEDICINALES	8
1.2.1 Farmacognosia	8
1.2.2 Fitoquímica	9
1.2.3 Bioensayos	9
1.3 MODELOS DE INVESTIGACIÓN EN ANIMALES	10
1.3.1 Modelo animal	10
1.3.2 Animal de laboratorio	10
1.3.3 Diseño del modelo animal	11
1.3.4 Especies de animales más utilizadas	12
1.4 TRATAMIENTO DE LAS PLANTAS PARA SU ESTUDIO	13
1.4.1 Extracto	14
1.4.2 Extracción	14
1.4.3 Métodos de extracción	14
1.5 ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS COMPONENTES DE LAS PLANTAS	17
1.6 HIERBA DEL SAPO (*Eryngium heterophyllum)*	18
1.6.1 Clasificación Taxonómica	19
1.6.2 Descripción	19
1.6.3 Distribución en México	20
1.6.4 Usos de la hierba del sapo (*Eryngium heterophyllum)*	20
1.6.5 Estudios experimentales de la hierba del sapo	21

CONTENIDO

1.7 DIABETES MELLITUS 22

1.7.1 Páncreas 23

1.7.2 Insulina, glucagón y glucosa 24

1.7.3 Glucemia 25

1.7.3.1. Hiperglucemia 25

1.7.3.2. Hipoglucemia 26

1.7.4 Complicaciones de la diabetes 26

1.7.4.1. Glucosuria 26

1.7.4.2. Poliurina 26

1.7.4.3 Polidipsia 26

1.7.4.4 Polifagia 27

1.7.5 Clasificación de la diabetes 27

1.7.6 Diabetes tipo 1 (DM 1) 29

1.7.6.1 Tratamiento para DM 1(Insulina) 29

1.7.7 Diabetes tipo 2 (DM 2) 30

1.7.7.1 Tratamiento para DM 2 (Hipoglucemiantes Orales) 31

a) Secretagogos de la insulina 33

1. Sulfonilureas 33

2. No sulfonilureas 35

b) Sensibilizadores de la acción de la insulina 35

1. Biguanidas 35

2. Glitazonas o tiazolidinedionas 36

c) Acción sobre la digestión y absorción de los carbohidratos (inhibidores de las α-glucosidasas) 36

1.7.8 Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) 36

1.7.8.1 Tratamiento para DMG 37

1.8 INFLAMACIÓN 38

1.8.1 Reacciones básicas de la inflamación 38

1.8.2 Células de la inflamación 40

1.8.3 Mediadores 42

CONTENIDO

1.8.4 Reactantes de fase aguda 47
1.8.5 Inflamación aguda 48
1.8.6 Inflamación crónica 48
1.8.7 Hidrocortisona (Flebocortid) 49
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 51
III. OBJETIVOS 52
IV. HIPÓTESIS 53
V. MATERIAL 54
VI. MÉTODOS 56
1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA 56
2. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE 56
3. CONCENTRADO DEL EXTRACTO 57
4. PRUEBA DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO 57
5. PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA 58
5.1 Inflamación crónica 58
5.1.1 Determinación de ceruloplasmina 59
5.1.2 Determinación de peroxidación lipídica 59
5.1.3 Determinación de nitritos 60
5.2 Inflamación aguda 61
VII. RESULTADOS 62
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS 69
IX. CONCLUSIONES 73
X. PROPUESTA 74
XI. REFERENCIAS 75

INTRODUCCIÓN

En México las plantas medicinales han sido parte importante de la historia desde los pueblos indígenas, el uso y aplicación constituyen un conocimiento que aún se transmite de generación en generación como parte de las tradiciones heredadas,[1,2,3,4] siendo esta una parte importante para el comienzo de los estudios de la farmacología. Los remedios empíricos utilizados con el método de ensayo error son hoy en día el origen de muchos medicamentos utilizados en la práctica de la medicina ortodoxa.[3,4]

Existen personas que dominan el conocimiento empírico de las plantas medicinales, otros solo las comercializan desconociendo sus propiedades y efectos; dos especies de plantas de las misma familia pueden tener una gran similitud fisionómica lo cual no significa que se puedan emplear para las mismas enfermedades o incluso una de ellas puede ser tóxica; además los nombres comunes asignados para una misma planta pueden variar según la región, ocasionando la ingesta de plantas completamente distintas en sus componentes bajo el mismo nombre común con que se le denomina en otro lugar y un factor más depende del consumidor, al mezclar la medicina alópata con los remedios herbolarios, costumbre que se generaliza más día con día.[1] Por todas estas razones, diariamente se presentan en los hospitales casos de intoxicación atribuidas al mal uso de las plantas medicinales, fundamentalmente debidos a la auto prescripción, desconocimiento de las especies, abuso de la dosis, falta de conocimiento de la preparación y/o empleo.[3] El uso indiscriminado se debe a la creencia que lo natural es sinónimo de inocuo.[3,4]

A pesar que en México contamos con la Ley General de Salud, en donde estipula que todos los remedios herbolarios se clasifican como medicamentos y nos dice que su eficacia terapéutica y seguridad debe ser comprobada científicamente, seguimos consumiendo medicamentos herbolarios a los que no

se les han realizado las pruebas suficientes para comprobar su utilidad, ni los efectos secundarios.[6]

La presente tesis se enfoca al estudio del extracto etanólico de la hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum)***, una de las plantas medicinales conocida por la cantidad de usos medicinales atribuidos, una de ellos contra la Diabetes Mellitus (DM) enfermedad que tiene uno de los primeros lugares de mortalidad y morbilidad en nuestro país. O conocida por la actividad antiinflamatoria, la inflamación es un mecanismo que de no ser activado por el organismo contra infecciones, agentes externos, entre otros, podrían causar hasta la muerte.

El trabajo experimental que se llevó a cabo en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza se delimita a la comprobación de la actividad hipoglucemiante (disminución de los niveles de glucosa en la sangre) y el efecto antiinflamatorio, ambos mediante un modelo en ratones que permite observar la actividad farmacológica.

I. MARCO TEÓRICO

1.1 PLANTAS MEDICINALES

Una planta medicinal es cualquier especie vegetal que contenga en uno de sus órganos, o en toda la planta, los principios activos con actividad farmacológica que se puedan utilizar con fines terapéuticos o que se pueda emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por hemisíntesis.[7]

A pesar de ser la medicina natural una alternativa para la cura de diferentes enfermedades, aún no tiene suficiente auge para su consumo como la medicina alópata, debido a múltiples factores, uno de los más importantes es la falta de la investigación fitoquímica y farmacológica de las plantas tradicionalmente usadas, por esta razón, es necesario que los consumidores dispongan de información que les permitan llevar tratamientos adecuados, seguros y eficaces.[5]

Por ejemplo; un estudio realizado por la Asociación Americana de Diabetes por sus siglas en inglés ADA en los Estados Unidos de América (EUA), con respecto al consumo de medicinas alternativas en pacientes diabéticos, observan que el control glucémico y la eficacia son controversiales debido a la falta de efectos adversos bien documentados o a causa de que los pacientes con diabetes con frecuencia toman prescripciones medicas múltiples.[8]

En México se encuentra una cantidad abundante de medicamentos herbolarios de los cuales no se tiene la certeza de su especie, mucho menos de la acción terapéutica, los efectos secundarios o su toxicidad.

México y E.U no son los únicos países que tienen este problema, la atención primaria de salud de hasta un 80 % de la población de los países en desarrollo se basa en la medicina tradicional por costumbre, cultural o porque no existen otras opciones. En los países desarrollados, muchas personas recurren a diversos tipos de remedios naturales porque consideran que por ser de origen

"natural" no representan daños a la salud. A medida que aumenta el uso de las medicinas tradicionales o alternativas, también aumenta el número de informes sobre reacciones adversas,[5] aunque es difícil determinar si ésta es causada por una planta o su extracto o bien una mezcla de plantas o sus extractos, el efecto de medicinas combinadas o sus extractos es diferente de los compuestos purificados, por lo tanto, es difícil asignar un efecto terapéutico, si no se cuenta con un estudio químico y farmacológico de la planta.[9]

Por lo anterior es importante realizar estudios fitoquímicos y farmacológicos a las plantas medicinales.

Los productos naturales pueden contribuir a la búsqueda de nuevos medicamentos de tres modos diferentes:

- Como nuevos medicamentos que pueden ser empleadas sin modificarse.
- Proporcionando componentes básicos químicos para sintetizar moléculas más complejas.
- Como nuevos modos de acción farmacológica que permiten la síntesis completa de análogos nuevos.[10]

1.1.1. Principios activos de las plantas medicinales

Un principio activo es una sustancia química pura (aislada de la planta medicinal) responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico que se le atribuye a la planta.[7,11]

Los principios activos, generalmente son producto del metabolismo secundario de la planta, algunos actúan como antibióticos, antisépticos, sedantes, analgésicos, otros operan como estimulantes sobre el sistema nervioso, tienen actividad neuromuscular o muscular, entre otros efectos.

La detección e identificación de los principios activos es importante por las siguientes razones:

- Permite corroborar o rechazar las propiedades atribuidas a las plantas.
- Detectar posibles nuevas aplicaciones. La acción fisiológica de cada sustancia depende de su estructura química de tal manera que las de estructura similar pueden actuar también de forma similar sobre el organismo.
- Permite una elección más racional de las especies a estudiar y facilita el descubrimiento de nuevos productos medicinales. [11]

1.1.2 Metabolitos secundarios

Compuestos químicos sintetizados por algunas plantas que no parecen tener una función directa en procesos básicos de la planta (fotosintéticos, respiratorios, asimilación de nutrientes, transporte de solutos o síntesis de proteínas, entre otros).

Los metabolitos secundarios presentan una distribución restringida en el reino vegetal, no todos los metabolitos secundarios se encuentran en todos los grupos de plantas. Se sintetizan en pequeñas cantidades y no de forma generalizada, estando a menudo su producción restringida a un determinado género de plantas, a una familia, o incluso a algunas especies.

Algunos productos del metabolismo secundario tienen funciones ecológicas específicas como atrayentes o repelentes de animales. Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, o atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas.

Otros compuestos tienen función protectora frente a predadores, actuando como repelentes, proporcionando a la planta sabores amargos, haciéndolas indigestas o venenosas. También intervienen en los mecanismos de defensa de las plantas frente a diferentes patógenos, actuando como pesticidas.[3,12,13,15]

1.1.3 Factores que afectan los metabolitos secundarios de una planta medicinal

El desarrollo de la planta y la cantidad de metabolitos secundarios son determinados por factores ambientales. Los factores se pueden dividir en dos grandes grupos: Fisicoquímicos o abióticos y biológicos.

1.1.3.1 Factores fisicoquímicos o abióticos.

Los factores fisicoquímicos que afectan una planta medicinal son: El clima, determinado principalmente por la precipitación (lluvia, granizo, nieve y niebla); la temperatura; la luz; el viento; la atmósfera; el suelo (incluyendo el sustrato geológico); la topografía; latitud; longitud y presión atmosférica.

Luz

La cantidad de luz al día (fotoperiodo), influye de manera favorable en la floración y en el carácter anual o bianual de una especie.

El viento

Es importante para la polinización y además este factor modifica la temperatura y la humedad ambiental.

La atmósfera y presión atmosférica

Los gases que se encuentran en la atmósfera tienen influencia sobre los seres vivos, citados por el porcentaje del oxígeno (elemento que junto con el carbono y el hidrógeno entran en composición de los azúcares y los lípidos), nitrógeno (entra en la composición de todos los aminoácidos y por lo tanto las proteínas celulares), bióxido de carbono (representa la fuente principal de carbono), el vapor de agua que se encuentra en cantidades variables según las condiciones metereológicas y la localidad.

Altitud

La temperatura promedio baja de cinco a seis grados centígrados por cada mil metros que se asciende.

Latitud y longitud

Influye en la asimilación de la luz.

1.1.3.2 Factores biológicos

Son los animales que las depredan, las bacterias y los hongos son los principales desintegradores, saprófitos, se alimentan del material orgánico y lo convierten en humus el cual es absorbido por las raíces.

1.1.3.3 Fenología

Otro factor que afecta a las plantas medicinales es su fenología o la forma empírica en las que las personas las obtienen, esta implica costumbres que en ocasiones dependen de mitos y leyendas, que forma parte de la cultura etnomédica, algunos mitos son propagados por los curanderos para evitar la competencia, para conservar sus secretos de los conocimientos que han

obtenido de las plantas medicinales de acuerdo con la época del año u hora de recolección. Estudios científicos relativos a la fisiología vegetal han revelado que la composición de una planta cambia a lo largo del día, depende también si el día es soleado o nublado, entre otros.

La interacción de los factores ecológicos, físicos, químicos y biológicos en donde se desarrolla una planta medicinal y su fenología van a influir sobre la producción cuali-cuantitativa de los metabolitos secundarios,[3,14] en algunos casos las plantas sólo elaboran determinadas sustancias, como respuesta a uno o más factores estresantes del medio, los que son: pH y/o salinidad del suelo, la desecación, la presencia y ataque de insectos o un agente patógeno, el crecimiento o cercanía de otra especie, su fenología, entre otros.[3]

1.2. ESTUDIO DE LAS PLANTAS MEDICINALES

El estudio de las sustancias de origen natural que poseen una virtud medicinal se conoce como farmacognosia y el efecto que ocasionan esas sustancias en el organismo se estudian en farmacología. La fitoquímica permite detectar y posteriormente identificar los principios activos responsables de las propiedades atribuidas a las plantas.[11]

1.2.1 Farmacognosia

Es la rama de las ciencias farmacéuticas que estudia las materias primas y las sustancias de origen biológico (vegetal, animal o microbiológico) con fines terapéuticos.[16,17] Estudia tanto sustancias con propiedades terapéuticas como sustancias tóxicas, excipientes u otras sustancias de interés farmacéutico.[16]

1.2.2 Fitoquímica

La fitoquímica es una rama de la química orgánica que comprende el aislamiento, separación, identificación y determinación de metabolitos secundarios.[3]

La fitoquímica tratará el tema de la biosíntesis de los metabolitos secundarios en las plantas, por ejemplo: alcaloides, taninos, ceras, aceites, terpenos, entre otros.[11]

Los avances en comprensión de fitoquímica están relacionados directamente con la explotación acertada de técnicas conocidas y el desarrollo continuo de nuevas técnicas.[18] La investigación fitoquímica de una planta puede implicar lo siguiente: identificación y extracción del material vegetal; separación y aislamiento de los componentes de caracterización de interés de los compuestos aislados y evaluaciones cuantitativas. Paralela a esto, tal vez, la evaluación farmacológica de los componentes separados.[14,19]

1.2.3 Bioensayos

Un bioensayo permite determinar la actividad farmacológica de una planta, cuando no se encuentra la actividad farmacológica esperada, se puede seguir investigando la planta empleando diferentes bioensayos para comprobar diferentes actividades.[10]

La cromatografía de alta resolución (CLAR) y la cromatografía en capa fina (CCF) son métodos para comprobar la pureza de muestras químicas, especialmente cuando se tiene alguna idea de lo que podría estar en la muestra. Sin embargo, si se investigará la actividad farmacológica de la planta por primera vez, los métodos antes mencionados no son útiles porque estas técnicas no miden la actividad biológica de compuestos, con las técnicas mencionadas se puede realizar la separación y purificación de compuestos para su posterior

identificación, pero es un proceso innecesario si no se tiene certeza que el extracto de una planta cuenta con actividad farmacológica, por esta razón, se tiene que usar un bioensayo, que es un término general para los métodos que miden la respuesta biológica.[20,21]

1.3 MODELOS DE INVESTIGACIÓN EN ANIMALES

1.3.1 Modelo animal

Un modelo animal puede definirse como el uso de un animal de experimentación que reproduce una enfermedad (o procesos de una enfermedad) de manera parecida al humano para permitir su conocimiento o abordaje mediante diferentes técnicas terapéuticas.[22]

1.3.2 Animal de laboratorio

El animal de laboratorio es “cualquier especie animal que se mantiene bajo condiciones determinadas y se utiliza con fines científicos”.

El reactivo biológico es un animal estandarizado, lo que significa que tiene una composición genético-sanitaria definida, es criado y mantenido en ambientes controlados que cumplen con los requerimientos específicos para cada especie, los cuales garantizan, además el bienestar animal. El estado sanitario de los animales de laboratorio está determinado además de la biología del animal, el perfil genético, por las condiciones ambientales del habitat, manejo y alimento.[22,23]

Con el fin de proveer animales sanitariamente definidos, se han desarrollado animales libres de gérmenes; con flora bacteriana o vírica conocida y libres de gérmenes patógenos específicos. Las líneas consanguíneas (cepas endocriadas) son los animales genéticamente estandarizados, que son el resultado de 20 o

más generaciones consecutivas de acoplamiento; estos animales se caracterizan por tener genes iguales, perfil genético propio, uniformes fenotípicamente, sensibles a cambios del ambiente y son de distribución mundial. La homogeneidad genética de estos animales permite que la composición genética no tenga que ser considerada como una variable en las investigaciones; por lo que la variabilidad de los resultados de las investigaciones se pueden deber a factores ambientales o metodológicos.[23]

1.3.3 Diseño del modelo animal

Dentro de los modelos de experimentación sin duda, el ratón es el más conocido y utilizado en la mayor parte de las experiencias in vivo de biología y medicina, es en general el modelo elegido para conocer la reacción de un organismo mamífero frente a una intoxicación o una infección experimental. Muchos investigadores consideran al ratón como un modelo animal casi perfecto por su corto tiempo de gestación y fácil manejo.

El diseño del experimento es solo una parte del desarrollo de la investigación, su éxito depende de las condiciones de vida del animal y de la calidad de los recursos humanos (especialización y acreditación).

Para el diseño del experimento se determinar las siguientes especificaciones:

- Seleccionar el modelo animal adecuado, el cual depende de la especie, cepa y de la calidad del animal.
- Justificar el número de animales seleccionados, no deberá superar el mínimo necesario para asegurar la confiabilidad de los resultados.
- La selección del inóculo: dosis, vía y frecuencia.[23]

Además la FDA considera los siguientes puntos para un modelo animal:

- Los animales son sistemas biológicos complejos que tendrán variación animal individual
- Los estudios deben ser reproducibles.
- Utilizar instrumentos y procedimientos estandarizados.
- Las técnicas o métodos debe ser lo suficientemente sensible como para hacer comparaciones en los estudios y entre las especies.
- Resultados comparables si el estudio se vuelve a llevar a cabo. [24]

1.3.4 Especies de animales más utilizadas

El cuadro 1 contiene las especies de animales más utilizadas y las características de cada especie que determinan el uso de estudios específicos.[25]

Cuadro 1. ESPECIES DE ANIMALES MÁS UTILIZADAS

Especie	Nombre Común	Características generales	Uso
Canis familiaris	Perro	Se utiliza la raza Beagle	Toxicología, Cirugia, Medicina
Felis Cattus	Gato	Se usan cruzas entre Abisinio y Europeo	Neurología, Gastroenterología Sistema respiratorio y otorrinología Oncología, Virología, Parasitología
Mus musculus	Ratón	Muy susceptibles a desarrollar tumores. Escasa longevidad Los albinos son menos nerviosos que los coloreados	Toxicología, Inmunología, Oncología Medicina, Geriatría
Rattus norvegicus	Rata	El más usado en microcirugía Longevidad de 2 a 3 años	Toxicología, Farmacología, Medicina Microcirugía, Geriatría

ESPECIES DE ANIMALES MÁS UTILIZADAS

Especie	Nombre Común	Características generales	Uso
Cavia porcellus	Cobayo	Fácil sensibilización Alta susceptibilidad a patologías Favorable anatomía del oído medio	Inmunología, Medicina, Nutrición Investigación auditiva
Cricetulus griseus y Mesocricetus auratus	Hámster chino dorado	Crecimiento continuo Elevada incidencia de diabetes	Estudio de la carie dentales Nutrición, Medicina, Citogénesis Teratología y genética Citología e histología
Meriones unguiculatus	Jerbo	Crisis epileptiformes con rápida recuperación sin secuelas Hospedador de diversos microorganismos y parásitos	Nutrición, epilepsia, Medicina Estudios de arterioesclerosis y
Oryctolagus cuniculus	Conejo	sistema nervioso inestable, fragilidad vascular y ósea sensibilidad a anestésicos y tendencia a la obesidad	Inmunología, Toxicología, Reproducción, Farmacología

El uso de la experimentación animal puede explicarse por las siguientes razones:

- No se puede aplicar directamente en el ser humano muchos descubrimientos científicos sin una previa comprobación en un ser vivo.
- Se necesita saber la cantidad y calidad de los nuevos descubrimientos, y comprobarlo en un número adecuado de elementos vivos más o menos comparables con el ser humano, para conseguir una validez estadística.
- La experimentación humana en las primeras fases de una nueva investigación puede ser censurable.[22]

.

1.4 TRATAMIENTO DE LAS PLANTAS PARA SU ESTUDIO

Para el estudio de las plantas medicinales se debe recolectar la planta, secar, moler y extraer en un disolvente conveniente para obtener un extracto, que entonces es probado en un bioensayo para evaluar la actividad biológica.[14]

1.4.1 Extracto

Es el concentrado de los compuestos presentes de las plantas medicinales obtenidas por maceración o percolación y su posterior concentración de la solución por evaporación parcial o total del disolvente, estos pueden ser líquidos, polvos o mezclas viscosas de compuestos químicos. [16,26,27]

1.4.2 Extracción

Cualquier ejemplar de una planta colectada al azar puede ser investigado usando los métodos fitoquímicos disponibles. El material de la planta a ser investigado puede ser seleccionado sobre la base de algunos usos específicos tradicionales (etnomédicos); o bien, la planta puede ser seleccionada basada en datos químicotaxonómicos, esto quiere decir, que si se conoce la especie/género relacionada con la planta en la investigación por contener compuestos específicos, entonces puede esperarse que la planta contenga compuestos similares. El empleo de base de datos de la literatura en el proceso de selección puede proporcionar alguna información preliminar sobre el tipo de productos naturales ya aislados de la planta y los métodos de extracción empleados para su aislamiento.[26]

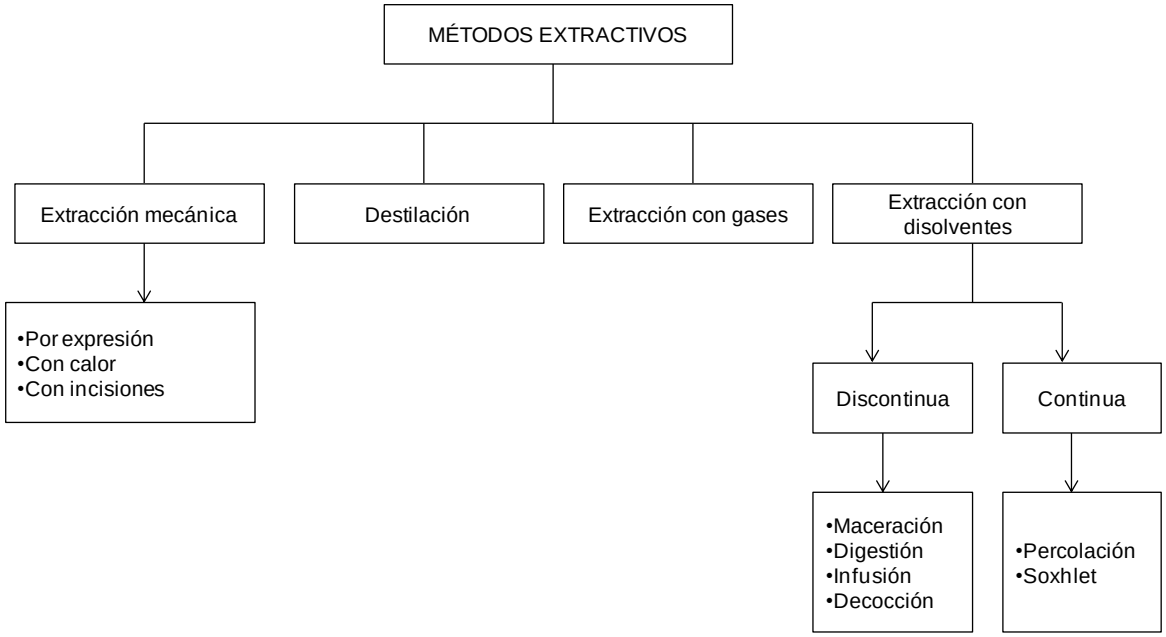
1.4.3 Métodos de extracción

Una vez definido los componentes a extraer se elige el método de extracción. La elección del método va a depender de la naturaleza del material, de la fuente y los compuestos para ser aislados, estos pueden ser:

- Un compuesto de actividad desconocida.
- Un compuesto que se sabe está presente en la planta
- Un grupo de compuestos dentro de la planta que estructuralmente están relacionados.
- Todos los metabolitos secundarios producidos por la planta.[10]

Los métodos de extracción son mostrados en el cuadro 2 a continuación.

Cuadro 2. MÉTODOS EXTRACTIVOS



Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural.[16]

a. Extracción mecánica. Es una técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta.

b. Destilación. Es una técnica que se basa en la diferente volatilidad (punto de ebullición) de los componentes de la planta, lo cual permite la separación de componentes volátiles de otros que son menos o nada volátiles. Es un método en el que se utiliza una fuente de calor, por lo que sólo es aplicable a principios activos termoestables.

c. Extracción con gases en condiciones supercríticas. Se trabaja con dispositivos especiales donde es posible controlar la presión y la temperatura y se trabaja a presión (p) y temperaturas (t) superiores a la p y t críticas. Los gases más utilizados son el dióxido de carbono y el butano. La extracción con gases suele ser muy selectiva y posteriormente es relativamente sencillo eliminar el gas extractor, pero resulta muy cara y es difícil encontrar las condiciones óptimas de presión y temperatura.

d. Extracción con disolventes. Consiste en colocar en contacto la planta con un disolvente que solubiliza los principios activos. Estos deben pasar de la planta al disolvente de manera que se obtenga un extracto líquido, posteriormente dicho extracto se puede concentrar eliminando la mayor cantidad de disolvente. [10,16,28]

En la investigación científica de plantas medicinales, cuando se busca el principio activo, por lo general se utilizan disolventes de diferentes polaridades para extraer los componentes de la planta, con los extractos resultantes debe probarse la actividad medicinal de la planta.[20]

También se deben conocer las ventajas y desventajas de los métodos de extracción para evitar la pérdida de compuestos activos. Por ejemplo, al utilizar la calefacción fuerte con un disolvente, puede causar la degradación de productos naturales por lo consiguiente la pérdida de actividad biológica.[26]

Numerosos métodos de extracción están disponibles, la extracción más simple es en frío en el cual la planta ya seca se extrae a temperatura ambiente utilizando disolventes con diferentes polaridades, comenzando con los de menor polaridad y finalizando con los de mayor polaridad, p. ej: primero hexano (o el éter de petróleo), después el cloroformo (o diclorometano), el acetato de etilo, la acetona, el etanol y finalmente agua. La ventaja principal de este método consiste en que es un método que no utiliza calor por lo tanto hay pocas posibilidades de degradación de los componentes del extracto. El empleo de los disolventes secuenciales de polaridad creciente permite la división de productos naturales según su solubilidad (y la polaridad) en los disolventes de extracción, (ver cuadro 3).[10,14,26,29]

Cuadro 3. POLARIDAD DE LOS DISOLVENTES

DISOLVENTE	INDICE DE POLARIDAD
n-hexano	0
Diclorometano	3.1
n-butanol	3.9
Iso-propanol	3.9
n-propanol	4
Cloroformo	4.1
Acetato de etilo	4.4
Acetona	5.1
Metanol	5.1
Etanol	5.2
Agua	9

Extracción polar: *agua, etanol, metanol*
Extracción de polaridad media*: acetato de etilo, diclorometano*
Extracción polaridad baja: *n-hexano, éter de petróleo, cloroformo*

Gray.I. A. Natural Products Isolation[10]

Los disolventes de polaridad media son usados para extraer los compuestos de polaridad intermedia (ej., algunos alcaloides), mientras aumenta la polaridad, compuestos más polares son extraídos (p.ej. flavonoides glicosidos, taninos).[10,14]

1.5 ESTUDIO FARMACOLÓGICO DE LOS COMPONENTES DE LAS PLANTAS

El estudio farmacológico de los componentes de las plantas tiene como finalidad:

- Establecer las acciones farmacológicas, es decir, determinar la actividad de dichos componentes sobre los organismos vivos, pretende determinar tanto la actividad farmacológica como los efectos secundarios.
- Determinar la estructura de las sustancias que son las responsables de dichas acciones farmacológicas, en otras palabras, establecer qué componentes de las plantas constituyen los principios activos.

- Realizar estudios de toxicidad para evaluar los posibles efectos tóxicos de las componentes de las plantas que se están estudiando
- Establecer el margen terapéutico, es decir, determinar la diferencia entre la dosis terapéutica y dosis tóxica. Generalmente, la manifestación de efectos terapéuticos o tóxicos depende de la dosis en ocasiones, la diferencia entre dosis terapéutica (dosis a la que se desarrolla una acción eficaz) y dosis tóxica (dosis a la que aparecen manifestaciones nocivas) es muy pequeña.[16]

Indudablemente, aún existen muchas especies de plantas que contienen sustancias de valor medicinal que no han sido descubiertas; cada vez aumenta el número de plantas que están siendo protegidas por su posible valor farmacológico (en particular su actividad antiinflamatoria, hipotensiva, hipoglucémica, amoebicida, antifertilidad, citotóxica, antibiótico y propiedades anti-parkinson).[14]

1.6 HIERBA DEL SAPO (*Eryngium heterophyllum)*

El género Eryngium habita principalmente en los bosques de pino-encino en las partes altas del país; existen algunas especies que prosperan en lugares perturbados. Se encuentra frecuentemente en sitios abiertos de las orillas de parcelas, en los alrededores de casas, en superficies degradadas y también en zonas de cultivo.[30]

1.6.1 Clasificación Taxonómica

Reino: Plantae
Subreino: Traqueobionta
Superdivisión: Spermatophyta
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Apiales
Familia: Apiaceae
Género: Eryngium
Especie: heterophyllum[31]

1.6.2 Descripción

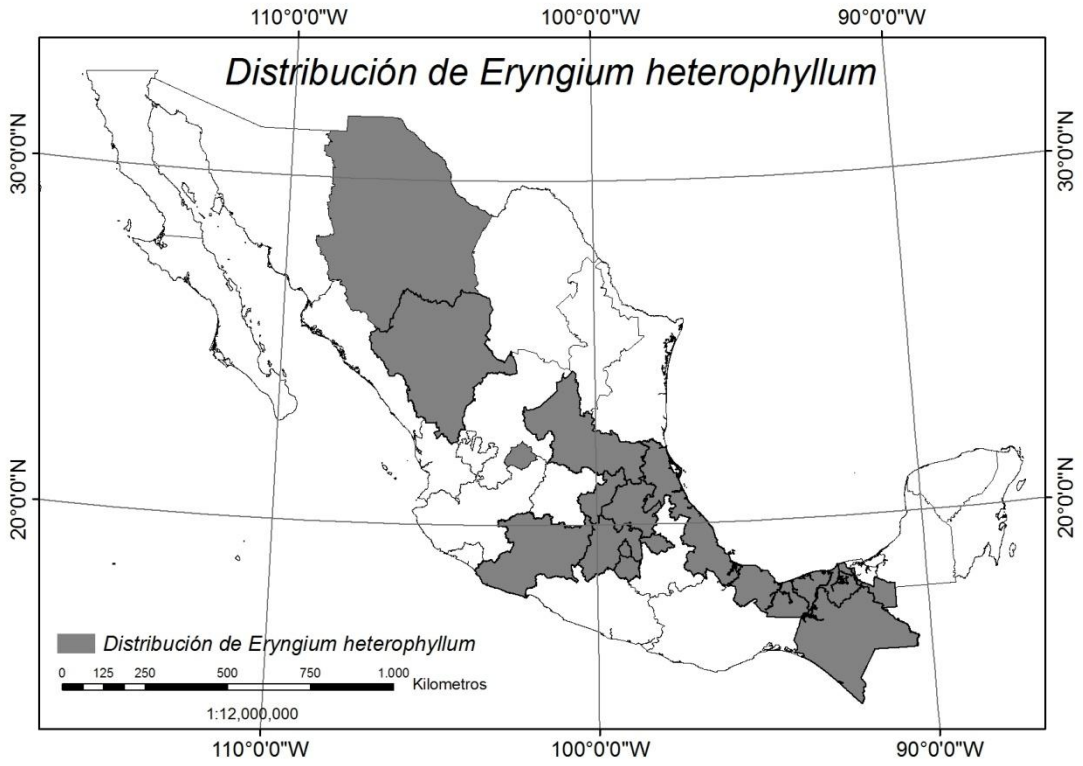
Hierba de 40 cm a 1 m de altura. Las hojas son ásperas, rígidas, espinosas y con los bordes y nervios de color blanco. Las flores son unas esferillas verdes [32] (ver figura 1).

Figura 1. HIERBA DEL SAPO (*Eryngium heterophyllum)*

1.6.3 Distribución en México

En México se distribuye altitudinalmente hasta los 3950 msnm (metros sobre el nivel del mar), se reporta en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Chihuahua, Distrito Federal, Durango, Hidalgo, Estado de México, Michoacán, Morelos, Querétaro, San Luís Potosí, Tabasco, Tlaxcala y Veracruz.[33] (ver figura 2).

Figura 2. DISTRIBUCIÓN DE *Eryngium heterophyllum* (hierba del sapo)



Elaboración propia

1.6.4 Usos de la hierba del sapo (*Eryngium heterophyllum)*

La hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***), es una planta a la que la población le atribuye efectos medicinales como alternativa para el tratamiento de las enfermedades o padecimientos como colesterol, hipertensión, embolias, trombosis, infartos cerebrales, migrañas, varices, diabetes, triglicéridos, ácido úrico, cálculos biliares y renales, arteriosclerosis, impotencia, problemas de la próstata, angina de pecho, asma, cáncer, otras enfermedades crónico

degenerativas, cardiopatías, cólicos en la mujer, bronquitis, tos, diarrea, dolor de estómago, fiebres, padecimientos de vejiga, afecciones del hígado, padecimientos pulmonares, tos ferina, colelitiasis y bronconeumonía.[32,34-36]

El Dr. Erick Estrada Lugo de la Universidad Autónoma de Chapingo menciona haber estudiado la hierba del sapo durante 22 años en pruebas en pacientes voluntarios con los que ha observado su acción preventiva y curativa en diversas enfermedades. [35,37]

Aunque por otra parte menciona no se han realizado estudios hospitalarios, ni comparativos, como doble ciego, por lo que el interés del Dr. Estrada es validar sus resultados con los estándares científicos establecidos que permitan la sistematización de la dosis.[37,38]

La Dra. Martínez del equipo médico del Instituto de Medicina Alternativa advierte que la hierba del sapo no puede ser usada por todas las personas con colesterol alto ni ingerida en la misma dosis pues su uso prolongado afecta los riñones y el hígado.[39]

1.6.5 Estudios experimentales de la hierba del sapo

En el 2006, en la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, La Dra. Miranda y colaboradores; realizaron el estudio que lleva por título: Evaluación de actividad hipocolesterolémica y toxicidad de extractos de hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***); con el objetivo de determinar la actividad hipocolesterolémica de extractos metanólico, etanólico y acuoso de ***Eryngium heterophyllum*** sus resultados mostraron una respuesta hipocolesterolémica únicamente en el extracto acuoso a una dosis[40] de 100 mg/kg en un 9 %.

En 1990 el Dr. Navarrete realizó un estudio del extracto acuoso y metanólico de ***Eryngium heterophyllum***, debido al efecto colesterolémico atribuido

popularmente en México. Los principales compuestos aislados responsables de la actividad fueron manitol, glucosa y β-sitosterol. Los resultados mostraron efectos hipocolesterolémicos significativos en ratas, reduciéndoles el nivel de colesterol en un 20 % o 27 % según fueran tratadas con extractos acuosos o metanólicos respectivamente. El experimento se repitió con mujeres de edades comprendidas entre 30 y 35 años, pero a diferencia de los resultados con las ratas, los obtenidos sobre humanos no revelaron cambios significativos en los niveles de colesterol en la sangre, aunque se observaron efectos significativos como hipotensor.[41]

En 1986 la tesista Friedman, realizó un estudio a la hierba del sapo para comprobar la disminución o eliminación de cálculos biliares, la extracción la realizó con cuatro disolventes benceno, cloroformo, hexano y etanol, se indujo la enfermedad en hamsters dorados con dietas semejantes a las que producen la enfermedad en humanos, sin embargo no se logró el objetivo de disminuir los cálculos biliares**.** [42]

El interés del estudio de la hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***) surge por la preocupación en la falta de estudios publicados que describan las pruebas realizadas para evaluar su actividad farmacológica (excepto el efecto hipocolesterolémico) y los efectos secundarios que se observan.

1.7 DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas cuyo denominador común es la hiperglucemia, producida por una disminución de la secreción o de la acción de la insulina o ambas. La deficiencia de la insulina puede estar condicionada tanto por factores genéticos como por diversas circunstancias particulares de cada paciente (autoinmunidad, obesidad, gestación, infecciones, etc.).[43-47]

En la actualidad, México cuenta con alrededor de 6.5 millones de personas con diabetes, de los cuales 35 % desconoce que la padece. Las estimaciones para 2025 sugieren que estas cifras se duplicarán alcanzando los 12.6 millones, de no tomarse las medidas de prevención de la salud y educación convenientes. [48]

Datos obtenidos del Instituto Nacional Estadística Geografía e Información (INEGI) en el 2002 reportan que la diabetes se encuentra dentro de las tres primeras causas de mortalidad en el país en la población en adultos de 30 a 59 años, los porcentajes en hombres son del 10.6 % y para mujeres[46] del 16.8 %.
En poblaciones específicas, como los derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) también se observan prevalencias de la diabetes tipo 2, superiores a 11 %, en México la frecuencia de diabetes aumenta con la edad y es mayor en las mujeres. [49]

1.7.1 Páncreas

El páncreas es el órgano en donde se secreta la insulina. El 98 % del páncreas está constituido por el páncreas exócrino**,** el 2 % restante está constituido por células endócrinas. Esta pequeña porción constituye el páncreas insular formado por los islotes de Langerhans [44]

Dentro de los islotes de Langerhans se distinguen cuatro tipos celulares: células A o α, que representan el 20 % de las células insulares células B o β, que constituyen del 70 al 80 % de la población celular de los islotes células D o δ representan del 3 al 5 % y células PP o F constituyen del 1 al 2 % de las células de los islotes. [44,48,40-52]

En el cuadro 4 se muestran los productos que secretan cada tipo de célula. [53]

Cuadro 4. CÉLULAS DE LOS ISLOTES DE LANGERHANS

TIPOS CELULARES	PRODUCTOS SECRETADOS
Células a (α)	Glucagón
Células b (β)	Insulina, y péptido amilina
Células d (δ)	Somatostatina
Célula pp (célula pp)	Polipéptido pancreático

Katzung BG. Farmacología Básica Clínica. [52] Greenspar FS, Strew ler GJ. Endocrinología Básica.[53]

1.7.2 Insulina, glucagón y glucosa

Insulina

La insulina es una hormona polipeptidica que se segrega por las células β de los islotes pancreáticos[44] que actúa sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, los lípidos y las grasas. El músculo y el tejido adiposo constituyen sus principales órganos diana.[50,54] El principal estímulo que desencadena la secreción de la insulina es la glucosa.

La insulina suprime la secreción de glucagón. El glucagón estimula la secreción de insulina y somatostatina (SS).[44] La insulina es anabólica (incrementa las reservas energéticas); mientras que el glucagón es catabólico (moviliza y utiliza estas reservas).[48]

Glucagón

El glucagón es un polipéptido de 29 aminoácidos,[44,48] es la hormona contrareguladora más potente, secretada por las células α de los islotes pancreáticos.[48,55] el aumento de glucagón va asociado siempre a una disminución de la insulina. Por el contrario, cuando la glucemia aumenta, la secreción de glucagón se suprime; este efecto está en gran parte mediado por el

incremento en la secreción de insulina, inducida por la hiperglucemia, que inhibe la secreción de glucagón.[44]

El glucagón aumenta la concentración de glucosa en el plasma y este efecto también incrementa la secreción de insulina. La liberación de la insulina por el glucagón no depende, sin embargo, de la concentración de glucosa en la sangre, porque el glucagón actúa muy rápido y causa la liberación de la insulina antes de ocasionar hiperglucemia. [54]

Glucosa

Sin insulina, la glucosa no puede entrar en las células (éstas necesitan glucosa para producir energía) y la glucosa se acumula en la sangre. Con el tiempo las concentraciones elevadas de glucosa en la sangre pueden dañar los ojos, los riñones, los nervios, el corazón y los vasos sanguíneos.[44,57]

1.7.3 Glucemia

La cantidad de glucosa presente en la sangre se denomina glucemia.[57] El mantenimiento de la glucemia en valores normales depende del correcto funcionamiento de diferentes órganos (páncreas, glándulas suprarrenales, hipófisis e hígado) que producen hormonas implicadas en la glucoregulación (insulina, glucagón, catecolaminas, glucocorticoides y hormona de crecimiento) o bien son órganos diana de las mismas.[44]

1.7.3.1. Hiperglucemia

Es la concentración elevada de glucosa en la sangre, [57] que se debe a una producción excesiva de glucosa, principalmente por el hígado y a su menor utilización por varios tejidos.[58]

En condiciones normales, cuando aumenta la glucemia, el hígado deja de liberar glucosa y se acelera la tasa de utilización de la glucosa por los tejidos periféricos. Sin embargo, en el diabético estos mecanismos que dependen de la insulina no funcionan y ambos factores contribuyen a la hiperglucemia.[50,56]

1.7.3.2. Hipoglucemia

La hipoglucemia se puede definir como cifras de glucemia por debajo de los rangos normales (< 70 mg/dL), asociado o no a la presencia de síntomas y que desaparecen con la administración de glucosa. [48]

1.7.4 Complicaciones de la diabetes

1.7.4.1. Glucosuria

Cuando la glucemia no está en límites normales debido a la deficiencia de insulina, no se resorbe toda la glucosa filtrada por los glomérulos renales la glucosa se excede y se elimina glucosa en la orina [56]

1.7.4.2. Poliurina

Consiste en el exceso de orina. Se origina por la presencia de glucosa en la orina, que debe ser solubilizada, necesitando más agua y aumentando así la diuresis hasta cuatro o seis litros por día.[44,56,58]

1.7.4.3 Polidipsia

Surge para compensar la poliurina. La pérdida de agua por la poliurina provoca sed y hace que el diabético beba más agua.[44, 56]

1.7.4.4 Polifagia

A pesar del exceso de glucosa en la sangre, las células son deficientes porque no entra glucosa a las células con suficiente rapidez; por tanto el paciente está hambriento y consume más alimentos especialmente hidrocarbonados.[44,56]

1.7.5 Clasificación de la diabetes

La Diabetes Mellitus se clasifica según la OMS en: Diabetes Mellitus 1(DM 1), Diabetes Mellitus 2 (DM 2), Diabetes Mellitus Gestacional (DMG) y otros tipos específicos[44,47,48](ver cuadro 5).

Cuadro 5. CLASES CLÍNICAS DE LA DIABETES MELLITUS

Diabetes tipo 1 (Destrucción de las células β, que habitualmente provoca deficit absoluto de insulina)
a. Autoinmunitaria
b. Idiopática
Diabetes tipo 2 (Varia entre resistencia a la insulina predominante con déficit relativo de insulina y defecto secretor de insulina predominante con resistencia a la insulina)
Otros tipos específicos
Enfermedad pancreática
De etiología hormonal
Inducida por sustancias químicas o fármacos
Anormalidades del receptor de insulina
Síndromes genéticos
Diabetes mellitus gestacional (DMG)

Jara A. A. Endocrinología.[44] Alcañiz F.J., Endocrinologìa Clìnica.[45] Dennis L. K.; Harrison Endocrinología.[47]Cabeza de Flores A.,Zaccari C. Endocrinología.[58] Islas A. S.; Diabetes Mellitus.[60]

La DM 1 representa el 5-8 % de los casos; la DM 2 agrupa los casos con mayor frecuencia 90 %; las restantes causas de diabetes representan menos del 5 %. [43,59] En el cuadro 6 se presentan las diferencias entre DM 1 y DM 2.

Cuadro 6. COMPARACIÓN DE CARACTERÍSTICAS ENTRE DM 1 Y DM 2

Características	DM 1	DM2
Inicio	Brusco	Lento
Tiempo de evolución al establecer el diagnóstico	Enfermedad crónica.	Enfermedad crónica
Síntomas	Sed, polifagia, fatiga, baja de peso, poliurina	Asintomático o pocos síntomas
Edad	Ocurre a cualquier edad pero es más común en jóvenes	Ocurre a cualquier edad, pero es más frecuente en adultos
Sexo	Mínima frecuencia en géneros	En algunos estudios predomina en mujeres
Peso corporal	Delgados	Obesos
Historia familiar	Poco frecuente	Muy frecuente
Factores ambientales	Virus, toxinas, Estimulación autoinmune	Obesidad, nutrición, estrés sedentarismo
Dependencia de insulina	Es indispensable para vivir	Es independiente, pero se puede utilizar en cuadros agudos o en descontrol severo
Sensibilidad a la insulina	Sensible	Resistente
Niveles de insulina en la sangre	Deficiencia severa desde el inicio que progresa a deficiencia absoluta; péptido C bajo	Normal basal o elevada. Estímulo: respuesta tardía mayor en el obeso

Características	DM 1	DM2
Respuesta a fármacos orales	No responde como tratamiento único	Puede responder inicialmente o mostrar fracasos primarios o secundarios generalmente
Células β del islote	Muy escasas o ausentes	Presente, hipertrofia

Alcañiz FJ. Endocrinología Clìnica.[45] Guerra LJ. Endocrinología-1. Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología[46]

1.7.6 Diabetes tipo 1 (DM 1)

La DM 1 es consecuencia de la destrucción de las células β de los islotes pancreáticos y una falta absoluta de insulina 43 ocasionada por un proceso autoinmune.48 Se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos contra la célula β.58

Se presenta con mayor frecuencia en jóvenes, pero en ocasiones se desarrolla en adultos, especialmente delgados y aquellos que tienen edad no avanzada cuando la hiperglucemia se presenta por primera vez.

1.7.6.1 Tratamiento para DM 1(Insulina)

La insulina de procedencia exógena es el agente hipoglucemiante por excelencia, imprescindible en los pacientes con DM 1 y necesarios en algunos casos de DM 2. Las insulinas son:

- Insulina regular
- Análogos de insulina de acción ultracorta.
- Insulina de efecto amplio (con inicio de acción intermedia o prolongada).[43]

1.7.7 Diabetes tipo 2 (DM 2)

La diabetes tipo 2 es la combinación de defectos en la secreción y acción de la insulina, que va desde una resistencia predominante a la insulina con una relativa deficiencia de insulina, hasta un defecto secretor predominante con resistencia a la insulina.[48] La DM 2 se encuentra dentro de los tres primeros lugares de mortalidad en México. En el cuadro 7 se muestra el número que ocupa la DM 2 por rango de edad.

En la DM 2 Cuando la dieta sola no es capaz de controlar la diabetes, se aconsejará el tratamiento con insulina o hipoglucemiantes, según las características clínicas de cada caso y grado de deficiencia de la insulina endógena.[54]

Cuadro 7. LUGAR QUE OCUPA LA DM 2 POR GRUPOS DE EDAD.

Lugar que ocupa la DM 2 según grupo de edad, de acuerdo al N. de fallecimientos de 1998 a 1999; 2002 a 2003

Grupo de edad	1998 a 1999	2002 a 2003
5 a 14	—	19°
15 a 24	15°	13°
25 a 34	9°	8°
35 a 44	3°	3°
45 a 64	1°	1°
65 y más	2°	2°

Fuente: INEGI, Estadística Sector Salud y Seguridad Social y Estadísticas demográficas: 1998-1999, 2002y 2003

1.7.7.1 Tratamiento para DM 2 (Hipoglucemiantes Orales).

Según su mecanismo de acción los fármacos orales para el tratamiento de la DM 2 se puede clasificar en:

a) Secretagogos de insulina: Son fármacos que estimulan principalmente la secreción endógena de insulina, como las clásicas sulfonilureas y los nuevos secretagogos de insulina no sulfonilureas de acción corta y rápida (repaglinida y nateglinida), conocidas también como glinidas.
b) Fármacos sensibilizadores de acción de la insulina, como las biguanidas (metformina y butformina) y las glitazonas (rosiglitazonas y pioglitazonas), que mejoran la utilización tisular de la insulina en los tejidos sensibles a la misma.
c) Fármacos que modifican la absorción de los hidratos de carbono como inhibidores de la α-glucosidasa, que inhiben la hidrólisis de algunos hidratos de carbono y enlentecen el proceso absortivo.[44,54]

En el cuadro 8 se muestra el mecanismo general de cada fármaco según el grupo al que pertenece.

Cuadro 8. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS HIPOGLUCEMIANTES

FARMACO	MECANISMO DE ACCIÒN
SECRETAGOGOS DE INSULINA	
Sulfonilureas Glibenclamida Glipicida Gliclacida Gliquidona Glimepirida	Insulino secresión por cierre de los canales K-ATP (acción diferida y prolongada) en la célula β pancreática
Secretagogos de insulina no sulfonilureas (Análogos de meglitinidas o Glinidas) Repaglinida Nateglinida	Insulino secresiòn por cierre de los canales K-ATP (acción rápida y corta) en la célula β pancreática
SENSIBILIZADORES DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA	
Biguanidas Butformina Metformina	Disminuye la producción hepática de glucosa
Glitazona o Tiazolidinedionas Rosiglitazona Pioglitazona	Aumenta la captación de glucosa mediada por la insulina (adipocito, Mùsculo)
ACCIÓN SOBRE LA DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN DE CARBOHIDRATOS	
Inhibidores de las α-glucosidasas Acarbosa Miglitol	Inhibe la hidrólisis de los oligosacàridos (enterocitos del intestino delgado)

Alcañiz F.J., Endocrinologìa Clìnica.[45]

a) Secretagogos de la insulina

1. Sulfonilureas

Las sulfonilureas (SU) son fármacos derivados de sulfonamidas que estimulan la secreción de insulina basal en respuesta a la toma de alimentos; además, la disminución crónica de la glucemia, al disminuir la glucotoxicidad, mejora la secreción y acción de la insulina, disminuyendo así la resistencia periférica a la misma.[44]

Todas ellas son arilsulfonilureas sustituidas; difieren por sustituciones en la posición para del anillo de benceno y nitrógeno que corresponde a la parte de la urea.[43]

Por su mecanismo de acción, el efecto adverso más importante es la hipoglucemia que es mayor en sujetos ancianos con daño renal, y con irregularidades en su alimentación.[58]

Sulfonilureas de primera generación

La Tolbutamida se absorbe bien pero se metaboliza rápido en el hígado, la duración de su efecto es relativamente corta, con una vida media de eliminación de 4 a 5 horas. [52]

La Tolbutamida es el hipoglucemiante de acción más corta y menos potente, tiene pocos efectos secundarios, su metabolismo es hepático y 50 % se elimina por riñón.[60]

La clorpropamida. Tiene una vida media de 32 horas y es metabolizada con lentitud; aproximadamente 20 a 30 % se excreta sin cambios en la orina.
Las reacciones hipoglucémicas prolongadas son más frecuentes que con la tolbutamida. [52] La Clorpropamida 20 % se excreta por riñón sin modificaciones;

es el medicamento con más efectos secundarios como hipoglucemia acentuada, hiponatremia y efecto antabuse. [60]

La Tolazamida. Es comparable a la Clorpropamida en potencia, pero tiene acción más breve. La Tolazamida se absorbe con mayor lentitud que las demás sulfonilureas. Su vida media es aproximadamente de siete horas.[52]

Sulfonilureas de segunda generación

No se ha establecido que los fármacos de segunda generación sean más eficientes que la clorpropamida (primera generación), a pesar que tienen menos efectos adversos.[52]

La Glibenclamida (Gliburida). Es metabolizada en el hígado en productos con baja actividad hipoglucemiante. Los efectos biológicos de la glibenclamida son persistentes 24 horas después de una sola dosis [52] su absorción es lenta y pudiera no controlar la hiperglucemia pospandrial.

Glicacida. Tiene metabolismo similar a la glibenclamida, con vida media más corta.

Glipicida. Corrige la hiperglucemia pospandrial; se ha utilizado en pacientes con intolerancia a carbohidratos provocando disminución en la progresión de DM 2 y retraso en la aparición de las complicaciones crónicas.[60] Tiene la vida media más breve (2 a 4 horas) de los fármacos más eficaces.[52]

Glimepirida. Mecanismo de acción similar a Glipicida, puede administrarse en una sola dosis, es segura y bien tolerada, sin embargo, su costo es más elevado.[58]Es metabolizada por el hígado, es de duración prolongada tiene una vida media de cinco horas.[52]

2. No sulfonilureas

Los secretagogos de insulina no sulfonilureas o Meglitinidas son derivados del ácido benzoico y de la D-fenilalanina; son una familia de hipoglucemiantes orales reguladores de la glucemia pandrial temprana para el tratamiento de la DM 2. Son agentes insulinotrópicos de rápido inicio y corta duración, que estimulan la secreción de insulina.[46]

La repaglinida y la nateglinida aumentan la secreción de insulina. Su indicación principal es evitar los picos de hipoglucemia pospandrial. [58]

Por su mecanismo de acción los secretagogos de insulina son los únicos fármacos orales para la terapia de la DM 2 capaces de producir hipoglucemia[54]

b) Sensibilizadores de la acción de la insulina

1. Biguanidas

Las biguanidas están indicadas en la DM 2 que no se controla con dieta ni ejercicio, y sobre todo si se asocia a obesidad, en monoterapia o con otros agentes hipoglucemiantes. [43]

Se destaca que no involucra la secreción de insulina y mejora la insulinoresistencia ni causa hipoglucemia. Su efecto hipoglucemiante más notable es en ayuno y requiere de insulina circulante.[58]

La metformina disminuye la producción hepática de glucosa, incrementa la sensibilidad periférica a la insulina, reduce la absorción intestinal de glucosa y modifica el peso corporal por un efecto anorexigénico. [46]

2. Glitazonas o tiazolidinedionas

Son fármacos que actúan disminuyendo la resistencia a la acción fisiológica de la insulina en los órganos periféricos, especialmente hígado, músculo y tejido adiposo; por tanto disminuyen el nivel de glucemia al mejorar la sensibilidad a la acción de la insulina sin producir aumento de su secreción endógena. [44]

La pioglitazona ejerce acciones interesantes en el metabolismo lipídico, ya que reduce los niveles de colesterol. LDL-colesterol y triglicéridos e incrementa los de HDL-colesterol. [43]

Las glitazonas tienden a reducir la densidad ósea, incrementando el riesgo de fracturas. [43]

c) Acción sobre la digestión y absorción de los carbohidratos (inhibidores de las α-glucosidasas)

Los inhibidores de α-glucosidasa (acarbosa, miglitol) son los primeros y más potentes fármacos que actúan específicamente sobre la glucemia pospandrial retrasando la digestión y posterior absorción de azúcares complejos.[44]
La acarbosa prácticamente no se absorbe, sus productos de degradación se eliminan por riñón y el resto en las heces.
La vida media del miglitol es de 2-3 horas. Sus niveles plasmáticos aumentan si hay insuficiencia renal.[43]

1.7.8 Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

Se define como una alteración del metabolismo de la glucosa que se presenta durante la gestación.[58]

En el embarazo se puede desarrollar y descubrir por primera vez intolerancia a la glucosa [47] generalmente durante el segundo trimestre. Durante el embarazo, la placenta produce hormonas que contribuyen al desarrollo del bebé. Estas hormonas también bloquean los efectos de la insulina en el cuerpo de la mujer, lo cual aumenta los niveles de azúcar en la sangre. [61]

La mujer debe ser reclasificada seis semanas después del parto, ya que en la mayoría de los casos la regulación de la glucosa se normaliza.[58]

La DMG afecta entre 4 y 8 % de todas las mujeres embarazadas. Su frecuencia en las mujeres mexicanas es mayor que la observada en mujeres caucásicas. La tasa de progresión hacía la DM es muy rápida si consideramos que el 10 – 16 % la desarrolla inmediatamente después del parto y un 50 – 54 % en los cinco años sucesivos.[53,58]

1.7.8.1 Tratamiento para DMG

Llevar una dieta saludable y bien equilibrada y hacer ejercicio con base rutinaria son medidas importantes para prevenir y tratar la DMG. Si la dieta y el ejercicio no son suficientes, puede necesitar medicamentos orales contra la diabetes o insulina. [61]

1.8 INFLAMACIÓN

La inflamación es una respuesta de los vasos sanguíneos y de las células endoteliales que los delimitan; sirve como una función protectora importante, puesto que activa los procesos de defensa, sanación y reparación.[62,63] Las manifestaciones clínicas son: calor, dolor, rubor y tumor.[64]

La inflamación no se considera una reacción solo inmune, porque se puede desencadenar en presencia de infección bacteriana, trauma contuso, quemaduras por agentes físicos o químicos, laceraciones o trauma por radiación.[52]

La inflamación consiste en la acumulación y la activación de leucocitos y de proteínas plasmáticas en un sitio de infección, exposición a toxinas o lesión celular. La inflamación se inicia por cambios en los vasos sanguíneos que promueven el reclutamiento de leucocitos.[63]

Los agentes de la inflamación son microorganismos, agentes físicos (calor, frío), agentes químicos (toxinas, fármacos), cuerpos extraños, reparación de los tejidos. [64]

Los elementos que intervienen en la inflamación son mediadores químicos, células de la sangre, los tejidos, otros elementos del plasma y de los espacios extracelulares.[64]

1.8.1 Reacciones básicas de la inflamación

La aparición de la inflamación precisa de una multiplicidad de mecanismos, cada mecanismo condiciona una alteración morfológica. Los fenómenos morfológicos básicos de la inflamación son:

- Lesión del tejido. Desencadenante inicial de la reacción.
- Reacción vascular. Consiste en una vasodilatación arteriolar, aumenta varías veces el flujo sanguíneo y la velocidad de la sangre en el foco inflamatorio.
  a) La reacción inicial es inmediata y se caracteriza por la aparición de una zona roja mate.
  b) La fase precoz dura de 3 a 10 minutos y se produce una vasodilatación periférica que se traduce en un halo rojo intenso.
  c) La fase tardía dura de 30 minutos a 4 horas y regresa en menos de 6 horas. Esta fase se debe a la liberación de los mediadores químicos tardíos de la inflamación.
- Trastorno de la permeabilidad vascular. Produce una exudación de líquido plasmático, que a su vez condiciona una concentración local de las células sanguíneas y un enlentecimiento de la corriente sanguínea.
- Reacción leucocitaria. Se produce la marginación y emigración de los leucocitos al foco. Así aparece el infiltrado inflamatorio con gran capacidad de fagocitosis de material necrótico.
- Proliferación del tejido conectivo-vascular. Especialmente si hay necrosis del tejido inflamado tiene lugar una proliferación de fibroblastos y células endoteliales que forman capilares, acompañadas de linfocitos, macrófagos y células plasmáticas. Así se forma un tejido de granulación reparativo.
- Cicatrización. Los fibroblastos forman colágena y otras fibras dejando una cicatriz.

La inflamación en la que son más importantes los fenómenos celulares y de proliferación de granulación son inflamaciones crónicas, en la que la respuesta es tardía y más específica. [64]

1.8.2 Células de la inflamación

Lo que caracteriza morfológicamente a una inflamación es la presencia en el foco inflamatorio de las células de la sangre, especialmente leucocitos polimorfonucleares, monocitos, linfocitos y otras células plasmáticas, fibroblastos y células endoteliales.

Leucocitos polimorfonucleares neutrófilos (LPMN)

Son las primeras células que llegan al foco inflamatorio, aparecen en gran cantidad, participan en la fagocitosis, liberación de enzimas y formación de los factores quimiotácticos. La cantidad de los LPMN para dañar los tejidos se basa principalmente en su capacidad de liberar gránulos tóxicos de su citoplasma o de generar radicales libres derivados del oxígeno, los LPMN liberan agentes oxidantes que inactivan a inhibidores de las proteínas tisulares y condicionan un ambiente que facilita la actuación de enzimas colagenasa, elastasa y gelatinasa.

Eosinófilos

Los eosinófilos tienen una vida media entre 8 y 12 días, en muchas inflamaciones la aparición de eosinófilos es signo de regresión y resolución de la inflamación. Los eosinófilos tienen capacidad de fagocitosis especialmente en presencia de factores bacterianos e inmunocomplejos.

Basófilos y células cebadas

Evitan la coagulación en el foco inflamatorio y controlan la exudación.

Monocitos

Aparecen precozmente en el foco inflamatorio, antes de 48 horas como respuesta a los mediadores por los LPMN. Su función es principalmente la liberación de múltiples productos esenciales en la inflamación, algunos de ellos son: Radicales libres derivados de O_2; óxido nítrico, transferina, entre otros.

Linfocitos

Aparecen en el foco en la fase tardía y tienden a acumularse alrededor de los vasos. Es posible que la activación de estas células se deba a un proceso de liberación de antígenos por los tejidos necróticos.

Células plasmáticas

Junto con los linfocitos aparecen en la fase tardía de la inflamación, en enfermedades granulomatosas y en enfermedades producidas por los virus y bacterias.

Fibroblastos

Proliferan en la fase tardía o crónica y forman el tejido de granulación, posteriormente sintetizan colágena, que es esencial para la cicatrización y curación de las heridas.

Células endoteliales

El papel más importante del endotelio en la inflamación está relacionado con la adherencia de los leucocitos y el paso de células. [64-66]

1.8.3 Mediadores

Los mediadores inflamatorios son una clase de moléculas que comprenden muchas proteínas, péptidos y compuestos orgánicos pequeños no relacionados, cada uno con efectos biológicos únicos.[52]

Dependiendo de su disponibilidad inmediata, se conocen tres tipos de mediadores químicos de la inflamación:

- **Mediadores primarios:** Histamina, serotonina, tetrapeptidos y oligopeptidos con actividad quimiotactica, arilsulfatasa A, óxido nítrico que en medio fisiológico difunde fácilmente desde el granulo liberado por las células cebadas, basófilos y células endoteliales.
- **Mediadores asociados:** Acetil β-glucosaminidasa, heparina macromolecular, quinasas.
- **Mediadores secundarios:** Proteasas plasmáticas, factor activador de las plaquetas, metabolitos del ácido araquidónico, metabolitos tóxicos del oxígeno y linfocinas.[64]

Aminas vasoactivas

Actúan especialmente en la primera fase de la inflamación producen vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular.

Proteasas plasmáticas

Constituyen un gran número de proteínas del plasma, que entre sus propiedades incluyen la de actuar como mediadores químicos de la inflamación. Entre estas proteínas están: El sistema del complemento, las quininas y los factores de la coagulación, especialmente el sistema fibrinolítico.

Complemento. El sistema del complemento está formado por sustancias proteicas que se encuentran en el suero cuando, a modo de la cascada de la coagulación, se activan para mediar numerosas reacciones biológicas como la permeabilidad vascular, quimiotaxis y opsonización. El sistema del complemento se activa en las inflamaciones mediadas por estímulos inmunológicos. Las sustancias más activas son C3a y C5a, que actúan sobre la liberación de histamina por las células cebadas y las plaquetas.

Quininas. Son polipeptidos producidos a partir de moléculas mayores, aumentan el tono vascular, la permeabilidad vascular y facilitan la liberación de mediadores leucocitarios. La activación de este sistema pone en marcha la fibrinólisis, formando plasmina y se activa la vía del complemento. Los leucocitos activados pueden liberar enzimas con capacidad de generar directamente actividad de quininas-leucoquininas a partir de proteínas plasmáticas. [64-67]

Metabolitos tóxicos del oxígeno

Cuando se produce la estimulación de la fagocitocis, los fagocitos incrementan el consumo de O_2 y generan radicales libres, entre los que se incluyen el anión superóxido (O_2-), H_2O_2 y el radical hidróxilo (•OH). Estos radicales libres necrosan células del foco inflamatorio, incluyendo el endotelio vascular, con el consiguiente aumento de la permeabilidad vascular, activan el metabolismo del ácido araquidónico e inactivan antiproteasas como la α-1-antitripsina. [64]

- Radicales libres

Un radical libre es toda especie molecular que contiene uno o más electrones no apareados en sus orbitales,[67,68] ese cambio le confiere una gran estabilidad química con tendencia generalmente a adquirir electrones de las moléculas vecinas, para recuperar su configuración electrónica normal. Debido a esa tendencia, los radicales libres también se conocen como especies reactivas. Las moléculas “atacadas” por los radicales libre sufren por tanto una pérdida de

electrones (oxidación) con la consiguiente alteración de la estructura de la que forma parte, convirtiéndose además en nuevas especies reactivas, que actúan sobre otras moléculas promoviendo así una reacción en cadena.[65,67]

En las condiciones fisiológicas se producen continuamente pequeñas cantidades de radicales libres de oxígeno, en el curso de reacciones oxido-reducción celular, entre los que se incluye el radical superóxido (O_2) y el radical hidroxilo (•OH). Cuando existe un desequilibrio entre generación e inactivación de radicales libres a favor de la primera, sobre la célula actúa un exceso de dichas moléculas reactivas, lesionando sus estructuras (estrés oxidativo). A esta situación se llega por vías muy diversas, entre las que se destacan:

a) efecto de radiaciones ionizantes.
b) efecto de tóxicos.
c) depósito en los parénquimas de un exceso de hierro o cobre libres, lo que genera también cantidades altas de radical hidroxilo.
d) liberación de radicales libres de oxígeno a partir de los fagocitos, en el curso de la fagocitosis, la inflamación y la isquemia.[67]

- Peroxidación lipídica

La peroxidación lipídica es cuando la reacción del superóxido con el ión férrico produce formación de ion ferroso que reacciona con el peróxido de hidrógeno para formar radicales oxhidrilo. Los radicales oxhidrilo reaccionan con fosfolípidos de la pared celular bacteriana, causando pérdida de integridad de la membrana celular bacteriana.[69]

Bajo condiciones apropiadas, el NO puede formar un potente compuesto oxidante llamado peroxinitrito, con una vida media inferior a un segundo que se descompone y genera RLO (Radical Libre de Oxigeno) muy reactivos. Tanto el peroxinitrito como los productos obtenidos tras su degradación, son capaces de producir peroxidación lipídica, nitrosilación de moléculas de tirosina que regulan

la función enzimática y las señales de los segundos mensajeros, inactivación de canales de sodio e interacción con numerosos metales de transición.

Todo proceso de peroxidación de macromoléculas ocurre en tres etapas: iniciación, propagación y terminación. El hierro es un estimulador de la peroxidación lipídica, pudiendo participar en las reacciones de iniciación o propagación. De acuerdo con esto la desferroxiamina es un potente inhibidor de la peroxidación lipídica estimulada por hierro.[68]

Metabolitos del ácido araquidónico

El metabolismo del ácido araquidónico (AA) produce una serie de hormonas de actividad local y vida muy corta, pero de gran importancia fisiológica en algunos sistemas como renal, respiratorio, hepático, cardiovascular y endócrino. El metabolismo del AA puede producirse por dos vías diferentes: lipooxigenasa y ciclooxigenasa.

El metabolismo del AA utilizando lipooxigenasa produce ácidos eicosatetranoicos (HETE) o leucotrienos, que tienen actividad quimiotáctica, vasoconstrictora y de aumento de la permeabilidad vascular.

El metabolismo del AA por la vía de la enzima ciclooxigenasa, da lugar a metabolitos de las prostaglandinas y leucotrienos, que producen vasoconstricción, quimiotactismo especialmente para los neutrófilos y aumento de la permeabilidad vascular.

Linfocinas

Las linfocinas son productos liberados por los linfocitos T, especialmente en las inflamaciones producidas por mecanismos inmunes.

Factor activador de las plaquetas (FAP)

Tiene acción de agregación plaquetaria y vasoconstricción por liberación de aminas vasoactivas, mientras que a bajas dosis es vasodilatador.

Heparina

Controla la proliferación celular, controla la respuesta de hipersensibilidad retardada e inhibición de la coagulación en la superficie de los macrófagos.[64]

Óxido nítrico

El óxido nítrico (NO) es una pequeña molécula de señalización gaseosa que se genera a partir del aminoácido arginina y oxígeno molecular.[52,65]
Es un potente vasodilatador y aumenta la permeabilidad vascular.
Como importante intermediario de oxígeno reactivo, también puede mediar en la muerte de células y bacterias,[65] en los macrófagos actúa como un potente agente microbicida para destruir a los microorganismos ingeridos.[63]

- Estudios del óxido nítrico

Las primeras observaciones del papel biológico del óxido nítrico generado por vía endógena fueron hechas en macrófagos de roedores y en neutrófilos: la exposición in vitro de estas células a las endotoxinas de tipo lipopolisacáridos ocasiona la acumulación de montos significativos de nitritos y nitratos en los medios de cultivo celulares. Además de la inyección de endotoxinas en animales se obtienen concentraciones urinarias de nitritos y de nitratos, los dos son productos de oxidación del óxido nítrico.[52]

1.8.4 Reactantes de fase aguda

Ceruloplasmina

La ceruloplasmina (Cp) es la principal proteína transportadora de cobre en la circulación; su concentración es abundante en plasma, se sintetiza principalmente en el hígado.[70]

Durante el desarrollo de la fase aguda se liberan citocinas otros mediadores que desencadenan, entre otros efectos la variación de las concentraciones de ciertas proteínas presentes en el plasma, denominadas PROTEÍNAS DE FASE AGUDA, las causas que pueden provocar esta respuesta, es la inflamación aguda o crónica, entre otras. Las proteínas de fase aguda se dividen en: negativas (son aquellas cuyos niveles se ven disminuidos cuando se produce la respuesta de fase aguda) y positivas (son aquellas cuyos niveles se ven aumentados cuando se produce la respuesta de fase aguda).[71,72]

Existen tres proteínas de fase aguda positivas: Las que aumentan sus niveles en un 50% como la ceruloplasmina. Las que presentan aumentos de 2 0 3 veces su concentración normal. Y las que presentan aumentos rápidos de hasta 1000 veces su concentración normal.[72]

Según su función biológica las proteínas de fase aguda positiva se dividen así: Las proteínas de fase aguda que intervienen en la defesa del hospedador. Las proteínas inhibidoras de las serinproteasas. Y las proteínas transportadoras con actividad antioxidante, como la ceruloplasmina.[71,72]

La ceruloplasmina inhibe la producción de radicales libres de oxígeno y la acción de enzimas proteolíticas, limitando la lesión tisular en la inflamación.[67]

1.8.5 Inflamación aguda

La respuesta inflamatoria aguda es la respuesta tisular precoz más frecuente frente a la lesión y destrucción tisular. [65]

La zona afectada es ocupada por un material transitorio denominado exudado inflamatorio agudo. Este exudado aporta proteínas, líquido y células de los vasos sanguíneos a la zona lesionada para poner en marcha las defensas locales. Si hay un agente infeccioso (p. ej una bacteria) en la zona lesionada, puede ser destruido y eliminado por los componentes del exudado. El tejido lesionado puede ser desintegrado y parcialmente licuado, y los detritus eliminados de la zona lesionada.[65,71]

1.8.6 Inflamación crónica

Cuando un estímulo nocivo persiste, no es posible la reparación completa entonces se produce una inflamación crónica. Los mecanismos inmunológicos dominan las respuestas celulares en la inflamación crónica, aquí los macrófagos no solo actúan como células fagocitarias (eliminando y destruyendo restos celulares), sino que se activan para realizar otras funciones inmunológicas y secretoras. Dado que los linfocitos, células plasmáticas y macrófagos están presentes.[65]

Por lo general deben transcurrir 7 a 10 días antes de la llegada de un número significativo de macrófagos al sitio del daño. Su presencia casi siempre acompañada de linfocitos define un patrón de respuesta del huésped conocido como inflamación crónica o hipersensibilidad tipo tardía. [64,65]

1.8.7 Hidrocortisona (Flebocortid)

Esta hormona actúa uniéndose a receptores citoplasmáticos, formando complejos hormona-receptor que entran al núcleo y regulan la transcripción genética en diversos tipos celulares. Gran parte de los efectos inmunosupresores y antiinflamatorios de los glucocorticoides (independientemente del tipo celular) resulta de uno de los siguientes mecanismos:

1) Inhibición de la síntesis de citocinas (IL-1 “interleucina 1”, TNF “factor de necrosis tumoral”, IL-2 “interleucina 2”, entre otras) o sus receptores;
2) Inducción de la producción de lipocortina-1, que inhibe la síntesis de eicosanoides;
3) Inhibición de la síntesis de moléculas MHC (Complejo mayor de histocompatibilidad) de clase II y moléculas de adhesión intercelular, involucradas en la interacción directa entre las diversas células del sistema inmune.[71]

En los humanos, el principal glucocorticoide es el cortisol (también llamado hidrocortisona). Normalmente la vida media del cortisol en la circulación es de alrededor de 60 a 90 minutos.[52]

<u>Efectos sobre los neutrófilos, eosinófilos, basófilos y células cebadas</u>

Los glucocorticoides inhiben la adhesión de los neutrófilos, eosinófilos y basófilos a las células endoteliales, lo que disminuye el reclutamiento de neutrófilos, eosinófilos y basófilos en sitios de inflamación e inhiben la liberación de histamina y LTC4 (linfocito T citotóxico) por los basófilos y la degranulación de las células cebadas.

Células endoteliales

Los glucocorticoides inhiben el aumento de la permeabilidad vascular en los lugares de inflamación, finalmente, inhiben la producción de diversos factores proinflamatorios.

Fibroblastos

Los glucocorticoides inhiben la proliferación de los fibroblastos, y la síntesis de factores proinflamatorios como la IL-1 y metabolitos del ácido araquidónico.

Linfocitos

Los glucocorticoides suprimen potentemente la función de los linfocitos Th1 (que favorecen la inmunidad celular), sin un efecto directo inhibitorio notable sobre los linfocitos Th2 (que favorecen la inmunidad humoral y las reacciones de hipersensibilidad inmediata). Finalmente, los glucocorticoides inhiben la activación de los linfocitos B, aunque una vez activados, son resistentes a estos efectos; por ello, su diferenciación a células plasmáticas no se afecta notablemente.[71]

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Hasta el día de hoy las plantas medicinales y/o remedios herbolarios en México son parte de una tradición del conocimiento empírico que se transmite de generación en generación, circunstancia que no exonera al consumidor de presentar efectos adversos o secundarios, como consecuencia de la falta de investigación fitoquímica y farmacológicos de las plantas.

La hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***), conocida popularmente por ser un auxiliar o curar enfermedades como diabetes mellitus, la cual se encuentra dentro de las tres principales causas de mortalidad en México; o bien conocida por su acción como un desinflamante, proceso que se presenta en un gran número de enfermedades. Los estudios farmacológicos realizados a la hierba del sapo hasta el día de hoy, se han enfocado en comprobar la actividad hipocolesterolémica y la disminución de cálculos biliares, razón por la que surge el interés de comprobar otras actividades mediante un modelo de ratones que permiten determinar si existe actividad hipoglucemiante y actividad antiinflamatoria en la hierba del sapo.

III. OBJETIVOS

A. Objetivo general

Obtener el extracto etanólico de la hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***) y evaluar la actividad hipoglucemiante y antiinflamatoria.

B. Objetivos particulares

1. Obtener el extracto etanólico de ***Eryngium heterophyllum***.

2. Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de ***Eryngium heterophyllum*** en un modelo de ratones CD1.

3. Evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de ***Eryngium heterophyllum*** en un modelo de ratones CD1.

IV. HIPÓTESIS.

La hierba del sapo (***Eryngium heterophyllum***) es usada por personas diabéticas y que sufren de inflamación por artritis. Por lo que se espera que el extracto etanólico de ***Eryngium heterophyllum*** muestre efectos en la disminución de los niveles de glucosa y actividad antiinflamatoria en un modelo de ratones CD1.

V. MATERIAL

MATERIAL DE LABORATORIO

Embudo grande tallo largo de plástico
Parrilla de agitación
Canastilla de calentamiento
Matraz bola 250 mL, 3 L, 5 L
Cabeza de destilación
Columna de Vigraux
Termómetro
Refrigerante
Colector de destilación
Adaptador de destilación para vacío
Adaptador para termómetro
Manómetro de mercurio
Pinza de Müller
Agujas hipodérmicas (DLP 22G x32mm con pabellon Luer-Lock, estéril, no tóxica)
Sondas gástricas (popper, 20G x 1-1/2")
Gradilla
Mechero Fisher
Puntas para micropipeta desechable
Pipetas graduadas 1,5 mL y 10 mL
Vasos de precipitado 100 ml
Matraces Erlenmeyer 125 mL y 250 mL
Trampas para vacío
Tiras reactivas (one touch ultra)
Torunda
Cámara de éter
Bisturí
Pellet de algodón
Placa de microtitulación
Micropipeta
Tubos de ensayo
Vortex
Caja Falcon
Tubos eppendorf
Oradador
Tubos de ensayo 13 x 10
Pellet de algodón

REACTIVOS
Etanol (Reproquifin)
Tolbutamida (Pureza: 99.51 % . Laboratorio SILANES)
Hierba del sapo (*Eryngium heteropyllum*)
Extracto etanólico
Goma gathi
Agua destilada
NaOH (Hidróxido de Sodio JT Baker)
Glibenclamida (Pureza 99.20 %. Laboratorios SILANES)
Glucosa solución inyectable (Solución inyectable , libre de pirógenos. Laboratorio PISA)
Cloruro de sodio (Solución isotónica. Solución inyectable 0.9 % PISA)
Yodo
Éter
Agarosa 1%
Azida de sodio (JT Baker)
Agar (Dibico)
Suero de conejo anticeruloplasmina
Hidrocortisona (Sol. Inyectable. Janssen-Cilag)
BHT (Butil hidroxitolueno Sigma)
PBS (Solución buffer de fosfatos)
H_3PO_4 (ácido fosfórico JT Baker)
TBA (Ácido tiobarbitúrico Sigma)
n-butanol (JT Baker)
Cloruro de sodio (solución saturada JT Baker)
Cadmio metálico
Ácido clorhídrico 0.1 N (EM Science)
Sulfato de cobre al 5 % (Sigma)
Cloruro de amonio al 5 % (JT Baker)
Agua destilada
Sulfato de Zinc (Sigma)
Indometacina (Cápsulas. Aspen port)
Carragenina al 1% (Sigma N. C-3889)

MATERIAL BIOLÓGICO
Ratones CD 1 (entre 20 -35 g)

EQUIPO
Rotavapor
Equipo de medición (one touch ultra johnson & johnson medical)
Bomba de alto vacío
Potenciómetro
Sonicador
Molino de plantas
Parrilla de agitación
Canastilla de calentamiento
Recirculador
Espectrofotómetro
Centrífuga
Vernier
Balanza granataria (tecno cor)

VI. MÉTODOS

Se recibió la planta de ***Eryngium heterophyllum*** (N. 834846) por el Dr. Robert Bye y la M en C. Edelmira Linárez del Instituto de Biología UNAM, recolectada en el estado de Chihuahua en el mes de Septiembre.

1. PREPARACIÓN DE LA PLANTA

La planta del sapo llamada ***Eryngium heterophyllum*** se dejó secar a temperatura ambiente, a la sombra; posteriormente se trituró con un molino manual y se procedió a la extracción con etanol.

2. EXTRACCIÓN CON DISOLVENTE

Se colocó en un garrafón de vidrio de 5 L, la planta ***Eryngium heterophyllum*** triturada y se vertió el disolvente hasta tapar por completo la planta, dejando a

temperatura ambiente por tres días, se filtro el extracto ocupando un embudo de plástico de tallo largo.

3. CONCENTRADO DEL EXTRACTO

Una vez filtrado el extracto etanólico de la hierba del sapo, se eliminó el disolvente a vacío en rotavapor para evitar temperaturas altas que pudieran descomponer algún compuesto del extracto. Una vez obtenido el extracto libre de disolvente se mantuvo en refrigeración.

4. PRUEBA DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO

- Se realizó con 24 ratones CD 1 divididos en 4 grupos (control negativo, controles positivos y problema), cada grupo de ratones de seis miembros, cada grupo fue separado en cajas para ratones, se sometieron a un ayuno de 18 horas para la lectura basal.
- Los ratones de cada grupo fueron pesados individualmente y marcados en la cola del uno al seis para su identificación en la medición de glucosa.
- Primero se tomó y registró la lectura de glucosa al tiempo 0.
- Después los ratones recibieron por vía oral con sonda gástrica los siguientes tratamientos:
- Grupo 1 (control negativo) 10 mL / Kg de solución salina.
- Grupo 2 (control positivo) 0.8 mg/Kg de Glibenclamida
- Grupo 3 (control positivo) 40 mg/Kg de Tolbutamida
- Grupo 4 (problema) 80 mg/Kg de Extracto etanólico de la hierba del sapo
- Inmediatamente después de la administración de cada tratamiento se les administró glucosa al 50% (2g/Kg) por aplicación subcutánea.
- Después de 60 minutos de la administración se tomó la lectura de glucosa con un sistema de automedición de glucosa en sangre one touch ultra; obteniendo la sangre de los ratones por incisión de la porción distal de la cola,

inmediatamente de la lectura de glucosa se administró nuevamente otra dosis de glucosa.

- A los 60 minutos de la administración se tomó la segunda lectura de glucosa.
- Después de 60 minutos más se tomo la tercera lectura de glucosa.[73]

5. PRUEBA DE ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

5.1 Inflamación crónica

Se realizó con tres grupos, cada grupo con seis ratones CD1. Se pesó cada ratón y se marcó en la cola del uno al seis mediante líneas.

Se sujetó a cada ratón por la espalda inmovilizándolo se colocó yodo con una torunda en la espalda y se realizó una pequeña incisión con un bisturí, se implantó subcutáneamente el pellet de algodón de 10 mg con una sonda (previamente esterilizada y cargada con el pellet de algodón).

Una vez que fueron colocados los pellets en cada ratón, se hizo la primera administración del control positivo hidrocortisona (15 mg/Kg), control negativo solución salina (10 mL/Kg) y extracto (100 mg/Kg). La administración se realizó diario durante 7 días, durante los siete días los ratones tiene acceso libre a agua y comida. En el octavo día se anestesiaron los ratones en cámara de éter uno por uno se hizo un corte en el plexo axial para colectar sangre, (las muestras se centrifugaron a 5000 rpm por 5 minutos, para obtener del suero) se sacrificaron los ratones y se retiró el pellet este se colocó en una placa de microtitulación, después se pesaron los pellets (húmedos), terminando de pesar la placa se metió a la estufa en donde permanecieron una semana a 37°C para posteriormente pesar los pellets (seco).[74]

Se extrajeron los órganos: bazo, hígado y riñón, para su evaluación y peso.

5.1.1 Determinación de ceruloplasmina

Preparación de las placas

Se preparó agarosa al 1%, (0.2g. en 20mL de PBS), se mezcló a temperatura ambiente por 20 minutos, después se metió al horno de microondas 3 veces (10 minutos por ocasión), para disolver, enseguida se agrega 1 mg de azida de sodio. Se colocaron 2mL de agar a cada uno de los tubos de ensaye, y a cada tubo se le agregaron 150 µL de suero de conejo anti ceruloplasmina y se mezcló en un vórtex.

El contenido de cada tubo se vertió a cada uno de los círculos de la caja Falcon, dejando gelificar por 4 minutos a temperatura ambiente. A cada círculo se le realizaron cuatro pozos en donde se depositó la muestra.

Procesamiento de la muestra

Se colocaron 5 µL de cada muestra (hidrocortisona, solución salina y extracto) en cada pozo de la placa (en el sentido de las manecillas del reloj), posteriormente la placa permaneció en refrigeración durante 48 horas para después medir el halo de precipitación para obtener la concentración (Se tomó como referencia una concentración de 21.6 mg/dL de ceruloplasmina para un halo de precipitación de 4 mm de diámetro.)

5.1.2 Determinación de peroxidación lipídica.

Método de TBA (ácido tiobarbiturico)

Colectadas las muestras de 100 µL de suero de cada ratón en tubos eppendorf con BHT, cada muestra se diluyó con 400 µL de PBS y se mezcló. Se tomaron 400 µL de la mezcla y se le agregaron 50 µL de BHT 12.6 mM y 400 µL de acido orto fosfórico 0.2 M, se mezclaron en un vórtex durante 10 segundos y se adicionaron 50 µL de TBA 0.11M/L, se mezcló nuevamente en un vórtex.

Determinación de color

Se colocaron los tubos de ensayo que contenían la preparación de las muestras tapados en un baño de agua a 90ºC por 15 minutos, se enfriaron en agua con hielo, posteriormente se les agregó 1000 µL de n-butanol y 100 µL de NaCl (solución saturada), se agitó con ayuda del vortex durante 30 segundos, se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos.
Se transfirieron 500 µL de la fase n-butanol a una celda, y se realizó la lectura a 535 nm y a 572 nm para corregir la absorbancia, y se realizó la curva estándar de MDA.

5.1.3 Determinación de nitritos

Plateamiento de cadmio

A 30 tubos de ensaye de 13 x 10 se les colocaron 0.5 g de cadmio metálico, y se lavaron con acido clorhídrico 0.1 N. Posteriormente se le agregó 2 mL de sulfato de cobre al 5 %, se agitaron por 10 minutos con un agitador de placa horizontal, y se lavan tres veces con agua destilada, esto para eliminar el cobre. Se volvieron a lavar con acido clorhídrico 0.1 N, mediante centrifugación a 3500 rpm durante 5 minutos. Después se lavaron con cloruro de amonio al 5% pH= 9 y se centrifugaron a 3500 rpm durante 5 minutos.

Preparación de la muestra

A 100 µL de la muestra de suero obtenido de los ratones se les agregaron 300 µL de agua destilada y se agitó. Se adicionaron 20 µL de sulfato de zinc, se mezcló y posteriormente se centrifugó a 10 000 rpm durante 5 minutos, se eliminó el cloruro de amonio de los tubos con cadmio activado y se adicionó el sobrenadante del centrifugado anterior.
Se agitó en un rocker durante 15 minutos y se centrifugó a 3500 rpm durante 5 minutos.

Se tomaron 200 µL del sobrenadante de cada muestra para el ensayo, adicionaron 700 µL de agua destilada. Se realizó la curva de calibración.

5.2 Inflamación aguda

A tres grupos de seis ratones cada uno en ayuno de 16 horas, con acceso libre de agua, se les administró oralmente mediante cánula 150 mg/Kg del extracto etanólico de hierba del sapo *(**Eryngium heterophyllum**)*. El grupo de referencia recibió Indometacina (10 mg/Kg, vía oral), el grupo control negativo recibió solución salina fisiológica (10 mL/Kg, vía oral). Una hora después se inyecta 0.05 mL de carragenina al 1 % en el cojinete plantar de la pata izquierda. El grosor de la pata se midió a los tiempos 0, 1, 2, 3, 4 y 5 horas después de la inyección de la carragenina, utilizando un micrómetro. Después se sacrificaron a los ratones en cámara de éter.[74]

VII. RESULTADOS

Se realizó el análisis estadístico ANOVA utilizando el programa SPSS. Los resultados de la actividad hipoglucemiante, actividad antiinflamatoria (crónica y aguda), se muestran a continuación en las siguientes tablas.

ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE

Tabla 1. Comparación de medias en la actividad hipoglucemiante

		MEDIA
Tiempo 0	Salina	36.6667 mg/dL
	Glibenclamida	34.6667 mg/dL
	Tolbutamina	35 mg/dL
	Extracto	32.6667 mg/dL
Tiempo 1	Salina	169.667 mg/dL
	Glibenclamida	145 mg/dL
	Tolbutamina	87 mg/dL
	Extracto	136.5 mg/dL
Tiempo 2	Salina	206.333 mg/dL
	Glibenclamida	123.833 mg/dL
	Tolbutamina	118.333 mg/dL
	Extracto	186.833 mg/dL
Tiempo 3	Salina	101 mg/dL
	Glibenclamida	60.3333 mg/dL
	Tolbutamina	48.6667 mg/dL
	Extracto	102.667 mg/dL

Se muestran las medias obtenidas de la lectura de glucosa del estudio realizado con 4 grupos de seis ratones cada uno, teniendo tolbutamida y glibenclamida como control positivo; la solución salina como control negativo y el extracto etanólico de la hierba del sapo como grupo de prueba. Observando con claridad al tiempo 3 que las medias de la solución salina y el extracto son semejantes, pero diferentes a los controles positivos que presentan medias por debajo de la solución salina y el extracto en casi un 50 % demostrando que la hierba del sapo se comporta como un placebo.

Tabla 2. Valores de significancia en la actividad hipoglucemiante

			Sig
Tiempo 0	Extracto	Salina	0.847
		Glibenclamida	0.997
		Tolbutamida	0.964
Tiempo 1	Extracto	Salina	0.659
		Glibenclamida	0.991
		Tolbutamida	0.336
Tiempo 2	Extracto	Salina	0.951
		Glibenclamida	0.345
		Tolbutamida	0.277
Tiempo 3	Extracto	Salina	0.999
		Glibenclamida	0.012
		Tolbutamida	0.001

Esta tabla muestra la significancia entre grupos con una α 0.05. Se observa que en el tiempo 3 no hubo significancia entre el extracto y la solución salina, es decir; el valor de significancia de 0.999 demostró que el extracto y la solución salina tuvieron el mismo comportamiento, por otra parte si hubo significancia entre el extracto y los controles positivos (Glibenclamida y Tolbutamida), como se aprecia en los valores de 0.012 y 0.001, es decir la hierba del sapo no tiene efecto hipoglucemiante ya que no se comporta como los controles positivos.

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

En la evaluación de la actividad antiinflamatoria crónica y aguda se obtuvieron los siguientes resultados expresados en las tablas que se muestran a continuación.

INFLAMACIÓN CRÓNICA

Tabla 3. Medias de los marcadores en la inflamación crónica

		Media
M. renal	Salina	1.35088 g
	Hidrocortisona	1.3397 g
	Extracto	1.40278 g
M. hepático	Salina	5.26216 g
	Hidrocortisona	5.88877 g
	Extracto	5.77423 g
M. esplénico	Salina	0.55784 g
	Hidrocortisona	0.258 g
	Extracto	0.44453 g

Se muestran las medias obtenidas con solución salina (control negativo), hidrocortisona (control positivo) y extracto etanólico de la hierba del sapo; en los índices renal, hepático y esplénico.

Tabla 4. Valor de significancia en los marcadores en la inflamación crónica

			Sig
M. Renal	Extracto	Salina	0.77
		Hidrocortisona	0.657
M. Hepático	Extracto	Salina	0.223
		Hidrocortisona	0.912
M. Esplénico	Extracto	Salina	0.161
		Hidrocortisona	0.012

Teniendo una α=0.05. Se observa que la significancia, solo existe en el índice esplénico con hidrocortisona. Es un resultado esperado debido a que el vaso es

un reservorio de leucocitos, los cuales migran al sitio de inflamación y con la hidrocortisona hay apoptosis de leucocitos.

Tabla 5. Medias obtenidas del peso húmedo de los pellets y peso seco en la inflamación crónica

		Media
Peso húmedo	Salina	0.08406 g
	Hidrocortisona	0.07253 g
	Extracto	0.12548 g
Peso seco	Salina	0.02048 g
	Hidrocortisona	0.01365 g
	Extracto	0.02773 g

Se muestran las medias obtenidas para cada grupo, el peso del pellet cuando el ratón estaba recién sacrificado y el peso seco después de permanecer los pellets 7 días a 37 °C.

El método por granuloma es empleado para evaluar la exudación y proliferación de componentes de la inflamación crónica, el peso seco del pellet es igual a la cantidad de tejido granulomatoso formado alrededor del cuerpo extraño, como se observa en las medias tanto el resultado del pellet húmedo como el pellet seco es el más alto de incluso que la media del grupo de la solución salina lo que nos indica que el extracto no actúa como un desinflamante del cual se espera la inhibición de los componentes de la inflamación crónica

Tabla 6. Valores de significancia del peso húmedo y peso seco de los pellets de la hierba del sapo en la inflamación crónica

			Sig
Peso húmedo	Extracto	Salina	0.001
		Hidrocortisona	0.001
Peso seco	Extracto	Salina	0.002
		Hidrocortisona	0.001

Con una α= 0.05. Se muestra la significancia que existió entre en el peso húmedo y peso seco entre la hierba del sapo y la solución salina e hidrocortisona.

Tabla 7. Medias obtenidas en las pruebas de nitritos, peroxidación y ceruloplasmina en la inflamación crónica

		Media
Nitritos	Salina	0.912 mg/mL
	Hidrocortisona	0.85 mg/mL
	Extracto	0.543333 mg/mL
Peroxidación	Salina	18.2425 µg/L
	Hidrocortisona	17.65 µg/L
	Extracto	14.29333 µg/L
Ceruloplasmina	Salina	43.2 mg/dL
	Hidrocortisona	41.4 mg/dL
	Extracto	36.9 mg/dL

En esta tabla se muestra la media obtenida para nitritos y peroxidación lipídica que representan la presencia de mediadores activados en el proceso de inflamación, también se observa la media de ceruloplasmina que es el reactante de fase aguda positivo activado para contrarrestar los radicales libres en el proceso de inflamación. Observando con la media más baja corresponde al extracto etanólico.

Tabla 8. Valores de significancia en las pruebas realizadas de nitritos, peroxidación y ceruloplasmina en la inflamación crónica

.

			Sig
Nitritos	Extracto	Salina	0.592
		Hidrocortisona	0.669
Peroxidación	Extracto	Salina	0.64
		Hidrocortisona	0.667
Ceruloplasmina	Extracto	Salina	0.434
		Hidrocortisona	0.618

Con una α= 0.05. A pesar de que el extracto etanólico obtuvo una media menor a la hidrocortisona y solución salina en esta tabla se observa que no hay valor significativo del extracto etanólico.

INFLAMACIÓN AGUDA

Tabla 9. Medias obtenidas del grosor de las patas de los ratones en la inflamación aguda

		Media
Grosor	Salina	4.441667 mm
	Indometacina	3.033333 mm
	Extracto	4.233333 mm

Muestra las medias obtenidas en la medición de la pata de los ratones, observando que la media entre la solución salina y la hierba del sapo tienen valores similares, ambos alejados de la indometacina que presenta un valor de 3.03.

Tabla 10. Valor de significancia de las medidas de las patas de los ratones en la inflamación aguda

			Sig
Grosor	Extracto	Salina	0.526
		Indometacina	0.001

Con una α 0.05, se observa que el extracto de la hierba del sapo se comporta como la solución salina (control negativo) es decir no presenta efecto antiinflamatorio en fase aguda, ya que el valor de significancia entre el extracto y salina es de 0.526, mientras que para el extracto y la indometacina el valor de significancia es 0.01, es decir existe una diferencia entre ambos porque el extracto etanólico de la hierba del sapo no presenta efecto antiinflamatorio como la indometacina.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se decidió realizar la extracción de la hierba del sapo (*Eryngium heterophyllum*) utilizando un disolvente orgánico, etanol, el cual es un disolvente de alta polaridad frecuentemente ocupado además del agua en estudios realizados a plantas con factibles propiedades medicinales, debido a que es un disolvente muy polar, la probabilidad de extraer el mayor número de principios activos es mayor que con un disolvente de polaridad baja o media. Además se realizó en condiciones a temperatura ambiente con agitación cada 24 horas, se evitó el calentamiento con la finalidad de que algún principio activo sufriera degradación si existieran compuestos termolábiles.

Se decidió evaluar la actividad hipoglucemiante la cual no ha sido estudiada en otros trabajos farmacológicos realizados a la hierba del sapo, pero que estadísticamente se sabe la enfermedad diabetes mellitus es una enfermedad colocada dentro de los tres primeros lugares de mortalidad en México. La inflamación es un proceso que se presenta cotidianamente como el mecanismo de defensa y reparación ante algún agente nocivo, esta actividad tampoco ha sido evaluada anteriormente a la hierba del sapo; ambas actividades provienen del conocimiento empírico de la población que consume plantas medicinales.

Para comprobar la actividad farmacológica como planta con actividad hipoglucemiante, se utilizó un modelo en ratones que consiste de 4 grupos de seis ratones cada uno en donde se tiene el grupo negativo, los grupos positivos y el grupo en el que se determina la actividad de la planta (hierba del sapo) los controles positivos son fármacos Tolbutamida y Glibenclamida, los cuales pertenecen al grupo de las SU de primer y segunda generación, ambos medicamentos son de primera elección en el tratamiento de DM 2 según el cuadro básico de salud. La Tolbutamida de primera generación; tiene una acción corta, mientras que la Glibenclamida de segunda generación, es de absorción lenta y tiene una respuesta prolongada. Tolbutamida y Glibenclamida son medicamentos alópatas de los que se conoce su farmacología, medicamentos

con los cuales los ratones debían presentar disminución en la lectura de glucosa, efectivamente como se muestra en la tabla 1 las medias en cada tiempo y posteriormente en la tabla 2 se muestra la significancia entre los grupos, se comprueba que el extracto etanólico de la hierba del sapo tiene un comportamiento similar a la solución salina (control negativo) con lo que se confirma que el extracto etanólico de la hierba del sapo no tiene efecto hipoglucemiante.

Para comprobar el efecto antiinflamatorio de la hierba del sapo se realizó un modelo en ratones para inflamación crónica y otro para inflamación aguda.
Para el caso de la **actividad antiinflamatoria crónica**, en el que también se ocupa un modelo de ratones a los que se les introdujo un pellet (que funciona como el agente extraño que provoca la inflamación en el ratón) por siete días en los cuales se administró hierba del sapo y se monitoreo, no se observa ninguna baja de ratones, tampoco se muestra cambio en el comportamiento de los ratones como ansiedad, fatiga, aletargamiento, lo cual indica que la dosis no es tóxica, se realizaron las pruebas de nitritos, peroxidación, que son mediadores desencadenados a partir en este caso del cuerpo extraño (pellet) y la ceruloplasmina, que es el reactante de fase aguda positiva que se produce en defensa de los radicales libres, los tres funcionaron como marcadores de inflamación crónica para determinar si el extracto etanólico de la hierba del sapo presentaba efecto antiinflamatorio.

La tabla 7 representa las medias y en la tabla 8 los valores de la significancia entre cada prueba con respecto a la hierba del sapo. En la tabla 8 observamos que ningún valor es significativo, la hierba del sapo se comportó como la solución salina.

En la **actividad antiinflamatoria aguda** se produjo inflamación en la pata izquierda de los ratones con carragenina y se trato un grupo con indometacina, medicamento alopático del que se conoce la actividad farmacológica, el cual es un desinflamante no esteroideo, el otro grupo tratado con solución salina y el

último con la hierba del sapo. A simple vista midiendo las patas de cada grupo de ratones no se observó disminución en la inflamación del grupo tratado con la hierba del sapo, los resultados obtenidos por el programa estadístico que se muestran en la tabla 9 con las medias y la tabla 10 con el valor de significancia se observa que la hierba del sapo se comporta como la solución salina (control negativo), es decir no presenta efecto antiinflamatorio como lo muestra la indometacina (control positivo).

La hierba del sapo es muy famosa porque ha sido estudiada por el Dr. Estrada desde hace 22 años, comenta que la hierba del sapo que él ha probado en pacientes voluntarios no es la que se encuentra en el campo, la hierba del sapo ha sido modificada genéticamente obteniendo un 50 % más de actividad. Por lo que en el estudio realizado en la presente tesis a pesar de no ocupar la hierba del sapo que el Dr. Estrada ha modificado, la hierba del sapo utilizada para el estudio debió haber mostrado algún resultado en las actividades evaluadas por mínima que fuera la concentración de los principios activos.

De acuerdo a la revisión bibliográfica, la ausencia de actividad hipoglucemiante y antiinflamatoria puede tener relación con:

1. El consumidor que asegura haber obtenido una cura para la diabetes o como antiinflamatorio no ha llevado un tratamiento exclusivamente con hierba del sapo, posiblemente lleve una dieta que en el caso del diabético es básica para controlar sus niveles de azúcar, la cual este provocando el efecto hipoglucemiante.
2. Debido a que la automedicación es un problema general en el país y además las plantas no son consideradas por muchas personas como medicamentos, existe la posibilidad que la ingesta de la hierba del sapo haya sido a la par de algún medicamento alópata.
3. Las condiciones y lugar de recolección de la hierba del sapo. El Dr. Estrada comenta que es una planta que se tiene en Chapingo y se ha modificado genéticamente, la Hierba del Sapo que se ocupó en este trabajo, se recolectó en

el estado de Chihuahua por lo que hay una diferencia notoria de la altitud, latitud, condiciones del ambiente, y la temporada de recolección está fue recolectada en tiempo de lluvias.

Es difícil realizar una comparación de la actividad entre la hierba del sapo estudiada en la tesis y la hierba del sapo mencionada por el Dr. Estrada por falta de reportes de evaluación farmacológica que haya realizado con la hierba del sapo, sería muy interesante, saber desde la recolección, el tipo de estudio que ha realizado para la confirmación de la cura o solo funciona como un auxiliar en el tratamiento de las enfermedades mencionadas.

IX. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de la hierba del sapo recolectada en el estado de Chihuahua en temporada de lluvias no demostró tener actividad hipoglucemiante a una dosis de 80 mg / Kg a pesar de que los lugareños la conocen como una planta medicinal.
- La hierba del sapo demostró no tener actividad antiinflamatoria a nivel agudo en dosis de 150 mg / Kg y crónico a una dosis de 100 mg / Kg, confirmando por las pruebas realizadas de ceruloplasmina, nitritos y peroxidación, las cuales no mostraron valor significativo.

X. PROPUESTA

- Lo ideal sería realizar un estudio comparativo bajo las mismas condiciones de evaluación con la hierba del sapo recolectada en el estado de Chihuahua y la usada en Chapingo.

- Extraer la hierba del sapo en medio acuoso a reflujo que es lo que se asemeja al modo de uso en la población y evaluar la actividad hipoglucemiante y antiinflamatoria.

XI. REFERENCIAS

1. Linares ME, Bye AR, Flores B. Las plantas medicinales de México, usos y remedios tradicionales. México. Botas. 2004. Vol I: 5-13.
2. Linares E, Bye R, Flores B. Tés Curativos de México. México 1990: 9-17
3. Waizel JB. Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria. Instituto Politécnico Nacional. México. 2006: 409-488
4. Watson RR, Preedy RV, Botanical Medicine in clinical practice. London. Cromwell Press. 2008:64-66,131-136,547-560.
5. OMS. Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales. 2004. [en línea] <http://www.who.int/ mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/index.html> [17 octubre 2010].
6. LGS. Título decimosegundo artículo 224. 2009.
7. Osorio DEJ. Aspectos Básicos de Farmacognosia. 2009 [en línea] http://farmacia.udea.edu.co/~ff/Farmacognosia.pdf. [05 Junio 2012]
8. Birdee GS, Yeh G. American Diabetes Association. Clinical Diabetes. Complementary and Alternative Medicine Therapies for Diabetes: A Clinical Review. 2010; 28: 147-155. http://clinical.diabetesjournals.org/content/28/4/147.full.pdf+html [17 octubre 2010]
9. Ramawat KG. Biotechnology of Medicinal Plants Vitalizer and Therapeutic. 4 ed. Estados Unidos. Science Publishers, 2004: 1-5
10. Gray. IA, Lafit Z, Sarker SD. Natural Products Isolation. New Jersey. 2°ed. Human Press. 2006:1-73.
11. González EM, López EIL, González EMS, Tena FJA. Plantas Medicinales del Estado de Durango y Zonas Aledañas. México. Talleres Gráficos de la Dirección de Publicaciones del Instituto Politécnico Nacional. 2004:11-31 http://www.libros.publicaciones.ipn.mx/PDF/1490.pdf [15 octubre 2010]

12. Ávalos AG. Pérez EUC. Metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2 (3): 119-145, 2009 [en línea] http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf [25 enero 2011]
13. Daniel M. Medicinal Plants. Estados Unidos. Publishers. 2006:6-8.
14. Charles EW. Trease and Evans Pharmacognosy. Toronto. 15° ed. Saunders. 2002: 3-10, 60-127.
15. Sepúlveda JG, Porta DH, Rocha SM. La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fisiopatología. 2003 vol. 21:355-363 [en línea] http://redalyc.uaemex.mx/pdf/612/61221317.pdf. [23 Junio 2012].
16. Kuklinski C. Farmacognosia. Estudio de las drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural. Barcelona. Omega. 2000:21-53.
17. Bruneton J. Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales. España. 2° ed. Acribia, S.A. 2001:1-5.
18. Harbone JB. Phytochemical Methods. London. 3° ed. Chapman & Hall 1998:1-11.
19. Gilbert JC, Martin SF. Experimental Organic Chemistry. Florida. 2° ed. Saunders College Publishing. 1998: 156.
20. Hanson BA. Understanding Medicinal Plants. Estados Unidos. The Haworth Herbal Press. 2005:119-139.
21. Hostettmann K, Marston A, Maillard M, Hamburger M. Phytochemistry of plants. Oxford. Sciences publication .1995:17-27.
22. Herráez V. Herranz RM. López MIG. ¿Qué es un modelo animal?. Gaceta Óptica. N° 382. Mayo 2004: 20-24.
23. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. BIOMEDICINA, 2006, 2 (3) - 252-256.
24. Guidance for Industry. Animal Models. Essential Elements to Address Efficacy Under the Animal Rule [en línea] http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm078923.pdf [27 octubre 2010]

25. Boada SM, Comí CA, Echeverría CN. La Experimentación Animal.
26. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotheraphy. Toronto. Churchill livingstone. 2004:130-160.
27. Erikvan WB, Wink M. Medicinal plants of the word. Estados Unidos. Timber Press. 2004: 18-26
28. Williamson EM; Okpako DT; Evans JF. Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material. England. Ed John Wiley & Sons. 1998; vol I: 15-23.
29. Colegate SM, Molyneux RJ. Bioactive Natural Products. Florida. CRC Press. 2008: 2-45
30. Rzedowski, GC. Flora fanerogámica del Valle de México. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. 2a ed. 2001
31. Herbario Virtual Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO) [en línea] http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/2inicio/home-malezas-mexico.htm [19 octubre 2010].
32. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. México.[en línea]. 2009 http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/index.php [17 Octubre 2010]
33. Villaseñor RJL, Espinosa G. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. México. Fondo de Cultura Económica. 1998
34. Lira CS. La Jornada. La hierba del sapo aleja el infarto. México. [en línea]. 2002. http://www.jornada.unam.mx/2002/07/10/048n1con.php?origen=index.html [17 Octubre 2010].
35. Muñetón PP. Revista Digital Universitaria. Plantas Medicinales: Un complemento vital para la salud de los mexicanos. Entrevista con el Dr. Erick Estrada Lugo. [en línea].2009, Vol. 10, No. 9. http://www.revista.unam.mx/vol.10/num9/art58/art58.pdf [17 Octubre 2010].

36. Fernández E. El universal. En Chapingo usan poder del Sapo. México [en línea] 2009. http://www.eluniversal.com.mx/ciudad/95528.html. [13 Octubre 2010].
37. Estrada E. Fórmulas Herbolarias. Antecedentes de la hierba del sapo. [en línea]. México.2004-2010. http://www.erickestrada.com.mx/yerbadelsapo.html [13 octubre 2010].
38. Servan M. La Jornada. Lunes en la Ciencia. Herbolaria contra el Colesterol. [en línea]. México. 2001. http://www.jornada.unam.mx/2001/10/22/cien-mirna.html. [13 Octubre 2010].
39. Página del Consumidor. La Jornada en la Economía. Según el Sapo. México. 2005. [en línea]. N. 72. http://www.jornada.unam.mx/2005/08/29/3n1sec.html [13 octubre 2010].
40. Miranda LGV, Oranday CA, Chávez MA, Villanueva CMA, Lozano GG, Cruz VDE. Revista Salud Pública y Nutrición. Actividad Hipocolesterolémica de Extractos de Eryngium heterophyllum. [en línea]. México. Edición Especial 2006. No. 9. http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2006/ee-09-2006/documentos/seccion_1/01-20.htm. [17 Octubre 2010].
41. Navarrete A, Niño D, Reyes B, Sixtos C, Aguirre E, Estrada E. On the hypocholesterolemic effect of Eryngium heterophyllum. Fitoterapia Vol. 61 No. 2. 1990: 182-184.
42. Friedman MCL. Estudio biológico de las extracciones fraccionadas de la planta completa llamada Yerba de sapo (*Eryngium Heterophyllum Engelm*). México. 1986. tesis
43. Lorenzo P, Moreno A, Lizasoain I, Leza JC, Moro MA, Portales A. Velázquez Farmacología Básica y Clínica. España. 18° ed. Médica Panamericana. 2008:621-643.
44. Jara AA. Endocrinología. Buenos Aires. Médica Panamericana. 2003: 443-462,479-483,556-614.
45. Alcañiz FJ, Alvarez EC, Gonzalez CI, Gracia BR, Fernandez PJ. Endocrinología Clínica. España. Díaz de Santos. 2005: 315-383.

46. Guerra LJ, Hernández JS, Pèrez EB, Rodríguez CS. Endocrinología-1. Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología. México. Sistemas Inter. 2001:265-279.
47. Dennis LK, Antonhy SF, Dan LL, Eugene B, Stephen LH, Larry J. Harrison Endocrinología. España. Mc-Graw-Hill Interamericana 2007:283-325.
48. Dorantes CAY, Martínez SC, Guzman BA. Endocrinología Clínica. México. 3°ed. Manual Moderno. 2008:357-516.
49. INEGI. Estadística a Propósito del día de la Mujer. [en línea].2006. http://www.inegi.gob.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2006/mujer06.pdf [20 octubre 2010].
50. Ganong WF. Fisiología Médica. México. 19° ed. Manual Moderno. 2004: 366-388.
51. Ronald KC, King LG, Weir C, Jacobson AM, Moses AC. Joslin´s Diabetes Mellitus, Boston. 14° ed. Williams & Wilkins. 2007: 21,23,65-69,95-145,331-338.
52. Katzung BG. Farmacología Básica Clínica. México. 10° ed. El Manual Moderno. 2007: 315-319;659-6698,01-825.
53. Greenspar FS, Strewler GJ. Endocrinología Básica.4° ed. México. Manual Moderno.2000:645-714.
54. Figuerola D. Objetivos del tratamiento y esquema terapéutico en Diabetes. Barcelona. 4° ed. Masson. 2003: 25-46,133-150,248-251 442-614.
55. Cardinalli PD, Dvorkin MA, Iermoli RH. Bases Fisiológicas de la práctica Médica. Argentina. 13 ed. Panamericana. 2003:701-732
56. Vick RL. Fisiología Médica Contemporanea. Mc Graw Hill. México. 1996: 871-875
57. American Diabetes Association. Diabetes de la A a la Z. Barcelona. Paidos. 2004:41-45,160-168, 173-178.
58. Cabeza de Flores A, Zaccari CE, Lozano FF. Endocrinología. México. 5 ed. Méndez Editores. 2005:391-467.
59. Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen R. Williams Tratado de Endocrinología. España. 11 ed. Elsevier Saunders. 2009:1341-1383.

60. Islas AS, Revilla MMC. Diabetes Mellitus. México. 3° ed. Mc Graw Hill. 2005:3-10,40-44,87-90,125-131.
61. Mestman J, Umpierrez G. Diabetes Gestacional. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2007; 92(6): [en línea]. http://jcem.endojournals.org/cgi/content/full/92/6/0-a [22 Octubre 2010].
62. Pérez TR; López C. E. Principios de Patología. México 4° ed. Médica Panamericana. 2007: 37-47
63. Abbas KA; Lichtman HA; Pober J. Inmunología Celular y Molecular. Madrid. 4°ed. McGraw-Hill Interamericana. 2002: 256,257,314,315,502,503,508, 509.
64. Pardo MFJ. Anatomía Patológica. Madrid. Harcourt. 2000: 177-213
65. Stevens A; Lowe J. Anatomía patológica. Madrid. 2°ed. Harcourd. 2001:36-60.
66. Parslow TG, Sittes PD, Terr IA, Imboden BJ. Inmunología básica y clínica. 10°ed. México. Manual moderno. 2002:215-222
67. Laso G., Javier F. Patología General. Introducción a la medicina clínica. Barcelona. MASSON. 2004: 27-49.
68. Navarro de HL .Papel del óxido nítrico como mediador de la respuesta inflamatoria a la inhalación de humos asociado o no a quemaduras cutáneas Madrid. 2001: 31-69.
69. Taylor CR. Patología general. 3°ed. México. Manual Moderno. 1999: 42-46
70. De Wikinski RLW. Acta Bioquímica Clínica Latinoaméricana. Ceruloplasmina: determinación de su actividad ferroxidasa. Argentina julio-septiembre vol.41 número 003 año 2007: 347-351.
71. Chirinos JM. LA REVISTA MÉDICA DEL C.I.E.M. Neuroendocrinoinmunología de la Respuesta de Fase Aguda. [en línea] http://ucsm.edu.pe/ciemucsm/larev/neuro.htm [2 diciembre 2011]
72. Martínez SS, Tecles F, Parra MD, Cerón JJ. Proteínas de fase aguda: principios básicos y principales aplicaciones clínicas en medicina veterinaria. España. 2001. [en línea] http://revistas.um.es/index.php/analesvet/article/view/16381 [2 diciembre 2011].

73. Marroquín RS, Flores PM, Mercedes MM, Mora GJL, Sánchez RJF, Aguilar CA. Efecto antihiperglucemiante de un extracto acuoso de colubrina elliptica. Revista Mexicana de Ciencia Farmaceúticas. volumen 36 #3 julio-Septiembre 2005: 27-32
74. Marroquín SR, Flores PM, Carreón SR, García BMM, Mora GJLA, Aguilar CA, Hernández A VJ. The effect of the aqueous extract of Helietta parvifolia A. Gray (Rutaceae) stem bark on carrageenan – induced paw oedema and granuloma tissue formation in mice. J. Etnopharmacology. 2009: 124: 639-641.