

Universidad de Guadalajara

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

EVALUACION DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE NOPAL (*Opuntia ficus indica* (L) Miller) CARENTE DE FIBRA EN RATAS WISTAR CON DIABETES MELLITUS INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
 LICENCIADO EN BIOLOGIA
 P R E S E N T A
 MIRIAM RUTH BUENO TOPETE

GUADALAJARA, JALISCO 1991

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

*AGUSTIN Y RUTH , QUIENES SIN ESCATIMAR ESFUERZOS, ME HAN FORJADO EN LA VIDAY
HAN CONTRIBUIDO EN MI FORMACION PERSONAL, GRACIAS POR SU AMOR Y DEDICA -
CION.*

*ALGUNOS PIENSAN QUE EL LENGUAJE DEL DESTINO
ES LA CASUALIDAD.....?.*

*A TODOS AQUELLOS SERES QUE COINCIDIMOS EN AL
GUN LUGAR DEL UNIVERSO Y COMPARTIMOS ALGUN TI
PO DE SENTIMIENTO O MISION ESPECIAL.*

GRACIAS POR EXISTIR.

DIOS:

*BASTA CON MIRAR EL FIRMAMENTO EN UNA NOCHE POR OSCURA QUE SEA Y
ENCONTRAR EL RESPLANDOR DE UNA ESTRELLA.*

" GRACIAS POR TU LUZ "

I N D I C E

- 1.- ANTECEDENTES GENERALES
 - 1.1.- INTRODUCCION
 - 1.2.- LA DIABETES COMO PROBLEMA SOCIAL
 - 1.3.- CONCEPTO DE DIABETES MELLITUS
 - 1.4.- CLASIFICACION DE LA DIABETES MELLITUS
 - 1.5.- MORFOLOGIA Y FUNCION DEL PANCREAS
 - 1.6.- ETIOLOGIA DE LA DIABETES TIPO I
 - 1.7.- ETIOLOGIA DE LA DIABETES TIPO II
 - 1.8.- METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS
 - 1.9.- TRANSMISION DE LA DIABETES MELLITUS
 - 1.10.- DIAGNOSTICO DE LA DIABETES
 - 1.11.- COMPLICACIONES DE LA DIABETES
 - 1.11.- TRATAMIENTO DE LA DIABETES
- 2.- INVESTIGACIONES PROPIAS
 - 2.1.- ESTUDIOS REALIZADOS CON NOPAL
 - 2.2.- MODELOS EXPERIMENTALES CON ESTREPTOZOTOCINA
 - 2.3.- MECANISMOS DE ACCION DE LA ESTREPTOZOTOCINA, DAÑO DIRECTO TOXICO Y AUTOINMUNE.
- 3.- ANTECEDENTES PARTICULARES
 - 3.1.- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA / JUSTIFICACION
 - 3.2.- HIPOTESIS
 - 3.3.- OBJETIVOS
 - 3.4.- MATERIAL Y METODO
 - 3.5.- RESULTADOS
 - 3.6.- BIBLIOGRAFIA

I N T R O D U C C I O N

La Diabetes Mellitus (D.M.) es la enfermedad metabólica más común en la actualidad, se presenta en aproximadamente el 3% de la población (1), aunque reportes recientes de la Secretaría de Salud y Bienestar Social afirman que su incidencia en la población es mucho más alta de lo que se tiene registrada ya que muchas defunciones se atribuyen a las complicaciones y no se mencionan como tales (1).

Por otra parte, los tratamientos actuales con los que se cuenta en la práctica médica muestran ciertas limitaciones que impiden el buen control del paciente diabético. Dentro de los hipoglucemiantes orales, algunos producen complicaciones secundarias importantes como la Acidosis Láctica (2), otros después de utilizarlos por algún tiempo con buenos resultados disminuyen su eficacia incluso hasta mostrar resistencia, quedando como último recurso la insulina (3).

La O.M.S. lanzó un atento llamado a las diferentes Unidades de Investigación para crear consciencia de la problemática e iniciar la búsqueda de nuevos productos.]

Consideramos que la herbolaria mexicana puede ser fuente importante ya que en la medicina popular varias plantas son utilizadas en esta enfermedad al parecer con éxito.

El Nopal (Opuntia s.p.) parece ser una de las prometedoras, ya que algunos grupos han reportado que la administración de esta - cactacea tiene efectos hipoglucémicos (4) (5), se sugiere que el - efecto podría deberse al alto contenido en fibra (6), sin embargo - también es posible que su efecto se deba a compuestos independientes - de la fibra (7) (8).

Por lo que, este estudio pretende evaluar si el efecto hipo-- glucémico del Nopal se sigue manifestando en ausencia de fibra.

LA DIABETES MELLITUS COMO PROBLEMA SOCIAL

La Diabetes Mellitus se considera uno de los principales problemas de salud debido a su elevada incidencia.

En los últimos 5 años se ha colocado entre las 10 principales causas de muerte. Las complicaciones que se derivan de la Diabetes son las que por lo general conducen a la muerte (1), siendo la Nefropatía Diabética y las Alteraciones de las Arterias Coronarias -- las más importantes (9).(10).

En el año 1989, el Centro de Estudios Epidemiológicos del I.M.S.S. de Occidente, informó que 757 casos murieron por este padecimiento ubicándolo como la primer causa de muerte en Jalisco; así mismo 5857 casos de morbilidad fueron registrados (11).

MORBILIDAD DE LA DIABETES MELLITUS

	EDAD (AÑOS)						
Casos total	-1	1-4	5-14	15-24	25-44	45-64	65 y más
5857	2	1	24	147	1275	2921	1420
Ignorada							
67							

Algunos estudios en los que utilizan Drogas Diabetogénicas como la Estreptozotocina se ha demostrado que los machos presentan una susceptibilidad de un 100% a esta droga, en cambio en las hembras esto disminuye en un 15%.

La susceptibilidad del macho puede ser suprimida por la administración de Estrogenos y la normal resistencia de la hembra puede ser altamente susceptible como el macho por la administración de Andrógenos (12).

Datos epidemiológicos sugieren que la incidencia de la Diabetes tipo I es más alto en varones que en hembras (13). Por lo tanto se concluye que la predisposición a la Diabetes tipo I en humanos y en animales experimentales tienen una base etiológica que está bajo control de hormonas sexuales (12).

CONCEPTO DE DIABETES MELLITUS

La Diabetes Mellitus (D.M.) es un trastorno metabólico - que cruza con Hiperglucemia, la que a su vez es consecuencia de una deficiencia absoluta o relativa de insulina (14).

CLASIFICACION DE LA DIABETES

MELLITUS

La clasificación actual se fundamenta más en criterios Epidemiológicos y Fisiopatológicos, ya que en la mayoría de los casos la causa es desconocida; es posible que surjan modificaciones a medida que se conozca mejor la Etiopatogenia (14).

Por ahora se conocen 4 clases:

- 1.- Diabetes Mellitus Tipo I
(Dependiente de Insulina) (IDDM)

- 2.- Diabetes Mellitus Tipo II
(No Dependiente de Insulina) (NIDDM)
Asociada o no con la obesidad.

- 3.- Diabetes Gestacional

- 4.- Diabetes Mellitus Secundaria
(Intolerancia a la Glucosa) a:
 - * Enfermedad Pancreática
 - * Disendocrina
(Cushing, Tirotoxicosis, Etc.)
 - * Anormalidad de Receptores de Insulina
(Acantosis)
 - * Transtornos Genéticos.

CARACTERISTICAS GENERALES DE DIABETES TIPO I Y II

(Consideramos importante enfocarnos específicamente en éstos 2 - Tipos de Diabetes dada su elevada prevalencia.)

	TIPO I	TIPO II
Locus Genético	Cromosoma 6	Cromosoma II
Inicio de la enfermedad	< 40	> 40
Prevalencia	0.5%	2-4%
Peso	Normal o menor	Obesos 80%
Insulina Plasmática	Baja o Ausente	Normal o Alta
Genética	Asociado al sistema HLA. Índice de concordancia en gemelos 40-50%.	No asociado a HLA. Concordancia en gemelos 95-100%
Anticuerpos circulan- tes vs Células Insu- lares.	50-85%	10%
Complicaciones	Cetoacidosis	Coma Hiperosmolar

El término Insulino Dependiente no es equivalente a la Terapia con Insulina, significa que los pacientes tienen un factor de riesgo a Cetoacidosis en ausencia de Insulina. Pacientes clasificados como No Insulinos Dependientes bajo ciertas condiciones requieren el uso de esta, pero no llegan a ser Cetoacidóticos si la Insulina es retirada (15).

MORFOLOGIA Y FUNCION DEL PANCREAS (16)

El Páncreas es una glándula que está relacionada directamente con la enfermedad, presenta un color rojo grisáceo, de forma alargada, de origen endodérmico situado detrás del Peritoneo a la altura de la 2 y 3 Vértebra Lumbal.

Posee una doble función secretora, una exocrina compuesta por Células Cónicas que forman los Acinos, cuya secreción es Jugo Pancreático el cual es recogido por el conducto principal o de Wirsung y el Conducto de Santorini que desembocan independientemente en el duodeno.

La porción Endocrina conformada por acumulos de células poliédricas esparcidos por el Parenquima que constituyen los Islotes de Lagherhans (I.L.), éstas células son ricas en vasos sanguíneos que drenan a la vena porta. En los I.L. se han identificado 4 tipos de células:

	SECRECCION	FUNCION
Células Alfa	Glucagón	Antagoniza la acción de la Insulina y eleva los niveles de glucosa en sangre.
Células Beta	Insulina	Controla el transporte de la glucosa desde el torrente sanguíneo hasta las células donde es oxidada.
Células Delta	Somatostatina	Se propone que module la absorción de nutrientes.
Células F	Polipeptido Pancreático	Se propone que regule la liberación de enzimas digestivas.

FACTORES QUE MODULAN LA SECRECCION DE INSULINA (17)

FACTORES LIBERADORES DE INSULINA

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Aminoácidos (Leucina y Arginina) - Glucosa y otras Hexosas - Glucagón ▲ Peptido inhibidor gástrico ▲ Secretina ▲ Gastrina ▲ Colecistocinina - Neuropeptidos V.I.P. - Encefalinas | <ul style="list-style-type: none"> - Estimulación vagal ▼ Hormona del crecimiento - Lactato Placentaria - Corticotrofina (ACTH) - Adrenalina actuando en receptores beta. - Sulfonilureas |
|--|---|

I N H I B I D O R E S :

- | | |
|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Serotonina - Somatostatina - Adrenalina y Noradrenalina sobre receptores alfa. - Insulina | <ul style="list-style-type: none"> ▲ Amplificadores de la liberación de insulina inducida por la glucosa. ▼ Estimula la síntesis de insulina. |
|--|---|

F A R M A C O S

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Diazoxido, Fenitoina - Vinblastina, Colchicina |
|---|

Es importante mencionar que la ingestión de glucosa por vía oral origina una respuesta insulínica mayor y más prolongada que la glucosa - inyectada intravenosamente. A pesar de que el aumento de la glucosa sea menor por vía oral, la explicación depende de qué hormonas gastrointestinales se liberan hacia la sangre y potencializan la liberación de insulina.

Por otra parte, los I.L. están inervados por fibras colinérgicas y noradrenérgicas, la estimulación vagal provoca la liberación de insulina, este efecto es bloqueado por la atropina.

En algunos experimentos " in vitro " utilizando páncreas desnervado la glucosa induce la liberación de insulina, sin embargo el aumento de la concentración de glucosa para desencadenar un estímulo eficaz es mayor de lo normal. Posiblemente intervenga un reflejo nervioso estimulando glucorreceptores para el control fino de tal liberación (17).

ETIOLOGIA DE LA DIABETES TIPO I (IDDM)

No se ha identificado un solo factor como la causa fundamental de este tipo de Diabetes. Las principales evidencias son: Infecciones Virales, Autoinmunidad y Herencia.

Lo que sí es totalmente claro es que el aspecto histológico de los Islotes de IDDM que fallecen se caracterizan por infiltración linfocítica y pérdida específica de células beta; esta respuesta inflamatoria llamada insulinitis es compatible con un fenómeno viral autoinmune o mixto (18).

I.- FACTORES AMBIENTALES (VIRUS)

- a) La aparición de la enfermedad se relaciona con antecedentes patológicos como Parotiditis, Rubeola Congénita, Hepatitis e Infecciones por el Virus Coxsackie (19).

- b) El virus Coxsackie B4 (CB4) aislado de un páncreas humano produjo Hiperglicemia, Inflamación y Necrosis de los Islotes de Langherhans, así como Antígenos Virales en las células murinas.

Sin embargo, existe controversia en por qué la Diabetes tipo I aparece en menos del 0.5% de la población, mientras que casi la mitad de ésta tiene indicios de este Virus (CB4).

Algunos estudios experimentales tratan de explicar esta situación.

- c) El virus murino de la Encefalomiocarditis (EMC) inoculado en ratas produce Insulitis e Hiperglicemia siempre y cuando el roedor tenga susceptibilidad genética para uno o más genes recesivos (20). Tal como lo indican estudios en gemelos humanos - los factores hereditarios y la capacidad viral - pueden determinar si ocurre destrucción de célu-- las beta (15).
- d) Finalmente la variación estacional . La incidencia máxima tiene lugar a fines de verano o invier no y disminuye el número de casos en primavera o principios de verano. (19)

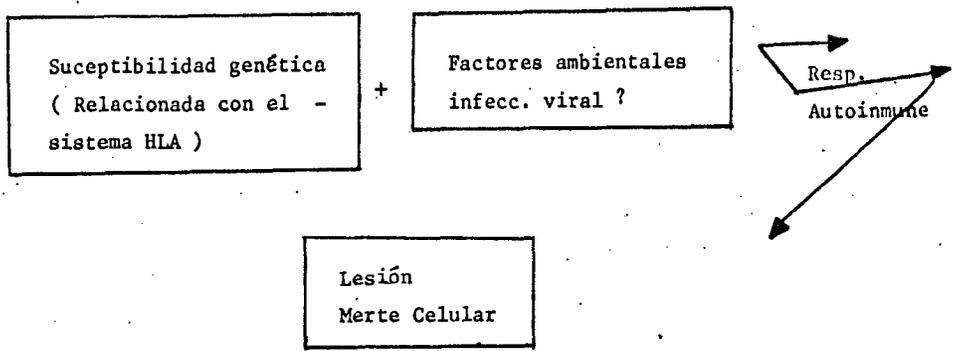
II.- FACTORES AUTOINMUNOLOGICOS

- a) Se vinculan con antígenos de Histocompatibilidad- (HLA) clase II relacionados con una respuesta - inmune anormal. El 90% de los pacientes tienen - antígenos D3, DR3 o D4, DR4 positivos y entre el 50 y 60% tienen ambos antígenos.
- b) Se asocia con otras enfermedades autoinmunes como: Insuficiencia Renal, Anemia Perniciosa, Tiroidi-- tis de Hashimoto, Vitiligo y otras llamadas enfer medades de tejido conectivo. (21)

c) Se han encontrado anticuerpos en contra de la superficie celular y el citoplasma de los Islotes Pancreáticos en un 85% de los pacientes diabéticos durante las primeras semanas de aparición de la enfermedad (21). Y recientemente anticuerpos en contra de una proteína específica de las células B. Es poco lo que se sabe de esta proteína, parece que pesa 64 Kilodaltos, pero lo más importante es que se ha comprobado por pruebas indirectas que los pacientes diabéticos o prediabéticos únicamente reaccionan - contra ésta proteína (22).

d) Finalmente, se sabe que en el cromosoma 6 en sus - brazos cortos se encuentran los genes del complejo - de histocompatibilidad clase II; en ésta región se - localizan tres Locí: DØ, DP y DR, cada una codifica para una proteína formada por dos cadenas A y B; se dice que cuando en la cadena B de DØ en el aminoácido 57 se encuentra " Acido Aspartico ", el gen es - protector, cuando se encuentra otro aminoácido en - esta posición (Serina o Valina), el gen presenta - alta suceptibilidad de presentar la Diabetes. (23)

CONCLUSION:



ETIOLOGIA DE LA DIABETES TIPO II (NIDDM)

En estos pacientes no hay anticuerpos detectables contra las células de los Islotes Pancreáticos ni pruebas de vinculación con el sistema-HLA. Sin embargo, la obesidad puede agravar la tendencia a la diabetes, entre el 60 y el 90% de estos pacientes son obesos (24). Se ha propuesto que personas que mantienen concentraciones crónicamente elevadas de insulina dada la ingesta tan frecuente y por tiempos prolongados como es el caso de la obesidad, llegará el momento en que sus tejidos periféricos muestren resistencia a esta hormona, lo cual ha sido comprobado. (24)

Existen evidencias en que esta resistencia podría obedecer a la disminución de receptores a la insulina. Sin embargo, esto se ha comprobado en solo el 50% de diabéticos tipo II (25), indicando que hay heterogeneidad de dicha resistencia en este padecimiento.

Otra posibilidad sería alteraciones a nivel de acoplamiento insulina - receptor o daños en la señal intracelular. Aunque las evidencias al respecto son muy pocas dado que el mecanismo de acción y procesos moleculares de la insulina aún no se conocen totalmente. (26)

En algunos pacientes también se han detectado problemas en la secreción de insulina (en alguna de sus fases ya que es bifásica.) (15)

Finalmente, se postula la síntesis de insulina anormal o con actividad biológica disminuída. Aunque en realidad son pocas las mutaciones que se han identificado en el cromosoma 11 (gen de la insulina.) (27)

METABOLISMO DE CARBOHIDRATOS (28)

Es muy extenso hablar sobre metabolismo, sin embargo me enfocaré específicamente a nivel hepático ya que es el sitio principal de distribución de la glucosa y acción de la insulina.

El hígado envía diariamente a la circulación 225 gr. de glucosa; en condiciones basales (ayuno nocturno), la homeostasis de la glucemia se mantiene por medio de 2 vías:

- La glucogenólisis (75%)
- La gluconeogenesis (25%)

El músculo y células sanguíneas proporcionan precursores gluconeogénicos como son intermediarios glucolíticos (lactato, piruvato) y aminoácidos como la Alanina.

El adiposito coadyuva con pequeñas cantidades de glicerol.

El cerebro es el sitio principal de utilización del glucido ya que consume de 100-150 g/día. Los elementos f6rmes de la sangre y el músculo en reposo captan cantidades menores de carbohidratos.

El suministro de ácidos grasos al hígado produce cuerpos cet6nicos, su concentración se conserva en menos de 0.5 m M.

En estado basal la señal hormonal que permite iniciar la glucogenolisis, gluconeogenesis y cetogenesis es el descenso de la insulina plasmática, de concentraciones prandiales (30-100 M U/ m l) a valores (10-20 M U/ m l).

La secreción basal de insulina 0.25 a 1.5 u / h aseguran que el ritmo de producción de glucosa y cetona no supere la velocidad con que se utiliza evitando así que aparezca hiperglucemia e hiperetonemia.

En sujetos normales, minutos después de ingerir alimento, el organismo detecta hiperglucemia y envía varias señales, la principal es que cesa la producción hepática de glucosa por la secreción de insulina. En los diabéticos tipo I, en muchos de los casos no encontramos insulina circulante, por lo tanto la producción hepática no se frena posterior a la ingesta y aparece la hiperglucemia. Además esta hiperglucemia se acentúa debido a que existen células que son dependientes de la insulina para transportar glucosa.

En los diabéticos tipo II encontramos resistencia periférica a la glucosa, llega el momento en que el glucogeno hepático se empieza a agotar y se activan vías alternas (aumenta la gluconeogenesis) para satisfacer los requerimientos energéticos de los tejidos.

Dados estos desajustes metabólicos por la deficiencia de insulina aparecen los síntomas clásicos de la diabetes :

- Pérdida de peso (por el catabolismo acelerado de lípidos y proteínas).
- Polifagia (exceso de hambre)
- Poliuria (exceso de orina)
- Polidipsia (sed intensa)

Producción de Glucosa

Utilización de la Glucosa

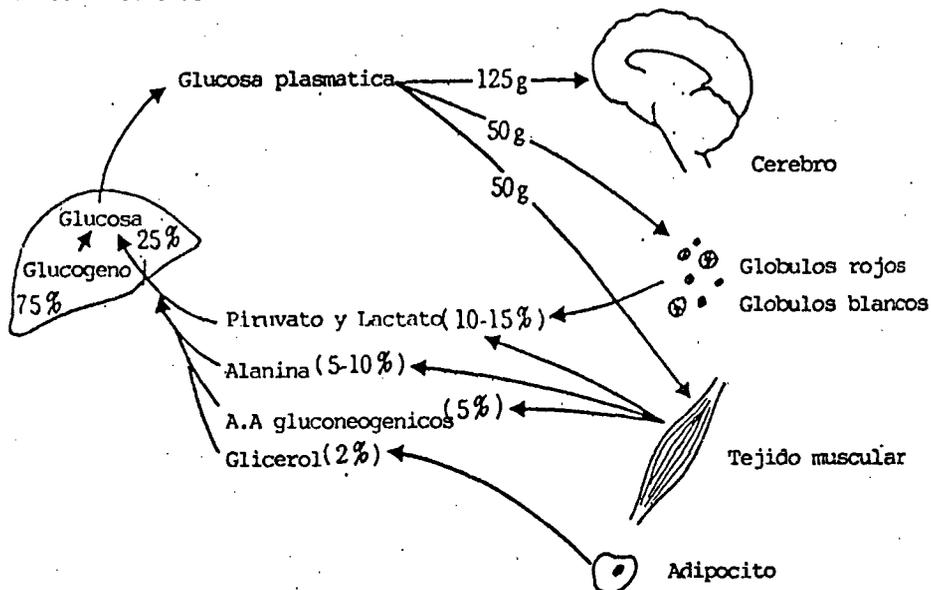


Fig 0 : Recambio de la glucosa, en estado de reposo basal (ayuno nocturno) en personas normales.

TRANSMISION DE LA DIABETES MELLITUS:

La herencia para un individuo de fenotipo obeso o de alto riesgo de MHA sin previa historia diabética, no incrementa grandemente el riesgo de desarrollar diabetes. En cambio, compartir haplotipos en familias en los cuales el primer grado relativo tiene diabetes -- incrementa significativamente el riesgo. (27)

La idea comunmente aceptada fue la herencia recesiva de tipo mendeliano simple.

Sin embargo, cuando se examina la prevalencia de diabetes -- entre la descendencia de un padre y madre diabético, se encuentra -- afectado unicamente 30 y 50% y no el 100% como se esperaría. (15)

Se consideran dos factores que dificultan la definición del -- tipo de transmisión:

- A) Se carece de un indicador que identifique el genotipo diabético en el individuo que no muestra penetrancia.

- B) No se conoce la heterogenicidad genética de todos y cada uno de los diversos tipos clínicos de la enfermedad.

Experimentalmente se ha comprobado una multiplicidad de genes dominantes y recesivos por lo menos en 4 cromosomas de ratón, cada uno capaz de producir obesidad y resistencia a la insulina, pero para producir un fenotipo diabético se requieren interacciones poligénicas. Esto nos indica una base similar heterogénea de predisposición genética en NIDDM. (29)

DIAGNOSTICO DE LA DIABETES:

El diagnóstico de la diabetes sintomática no es difícil cuando un paciente presenta signos y síntomas atribuidos a una diuresis osmótica y se encuentra hiperglicemia, los especialistas están de acuerdo que se trata de diabetes. Asimismo, existen desacuerdos cuando el paciente es asintomático, con persistentes elevaciones de glucosa en ayuno, a tales pacientes se les hace una curva de tolerancia a la glucosa y si los valores son anormales se considera como " Diabetes Química ".

Muchas evidencias sugieren que el stress produce respuestas -- anormales en curvas de tolerancia a la glucosa, se piensa que el mecanismo operativo es la descarga de epinefrina (ésta bloquea la secrección de insulina y estimula la liberación de glucagón). La venipuntura puede generar suficiente epinefrina.

Otros factores que pueden contribuir a la incidencia de exámenes falsos-positivos son la dieta inadecuada y la carencia de ejercicio.

Algunos estudios sugieren que pacientes con alteración en la tolerancia a la glucosa (apróx. 75%) nunca desarrollan diabetes, pero si tienen el riesgo de presentar hiperglicemias rápidas.

Por lo tanto, se cree que ésta prueba sirve en la clínica práctica para confirmar un diagnóstico. (30)

La frecuencia de glucosuria, hiperglicemia y disminución de la tol. a la glucosa aumenta con la edad y pueden aparecer signos diabéticos en personas de edad avanzada sin significación diagnóstica. La tol. a la glucosa también disminuye después de un ayuno prolongado o después de una dieta pobre en carbohidratos. (17)

COMPLICACIONES DE LA DIABETES :

En casi todos los diabéticos surgen cambios patológicos e intervalos variables en el transcurso de su enfermedad llamadas complicaciones tardías. Dichos cambios afectan en su mayoría al aparato vascular, pero también se observan en nervios, piel y cristalino, así como anomalías en el metabolismo de las lipoproteínas. (30)

La insuficiencia renal (Nefropatía Microvascular) se considera la causa fundamental de muerte en diabéticos Tipo I.

Experimentalmente con el uso de estreptozotocina (stz) es posible investigar la función renal y anomalías en la Diabetes Mellitus. Algunos estudios señalan que el coeficiente de filtración glomerular, el peso y talla del riñón están incrementados en ratas con diabetes inducida por stz, tratadas con insulina con un pobre control metabólico, pero sin cetonuria. (31) Estos resultados están de acuerdo con las observaciones hechas en diabéticos insulino dependientes. (32)

Las complicaciones de arterias coronarias en diabéticos Tipo II se considera la causa principal de muerte.

Se están realizando estudios para evaluar hasta que grado el control de la glucemia alivia o interrumpe los cambios que se producen en los vasos sanguíneos. A este respecto, investigaciones a corto plazo (1 año) con pacientes IDDM con retinopatía no proliferativa, sometidos a un riguroso control de glucemia, se concluyó que el progreso de la retinopatía no se retrasa inclusive parecía acelerarla. (16)

Otro grupo con nefropatía diabética bajo las mismas condiciones reportaron que al normalizarse la glucemia la microalbuminuria se redujo considerablemente, encontrándose mejoría funcional más no estructural.

Estudios en prospecto han sugerido que el exceso de mortalidad no está asociado únicamente con el control de la glucemia sino con -- otros factores de riesgo importantes como el cigarrillo y la hipertensión. (16)

TRATAMIENTO DE LA DIABETES

La terapia farmacológica para la diabetes intenta tratar de normalizar los trastornos metabólicos producidos por ésta enfermedad, así como retrasar o prevenir la evolución de la enfermedad microvascular.

La dieta equilibrada y adecuada sigue siendo el elemento fundamental en la terapéutica de la diabetes.

Existen hipoglucemiantes orales como las sulfonilureas y las biguanidas como mecanismos de acción diferentes. Las primeras intensifican la liberación de insulina por las células beta y aumentan la unión de la hormona a sus receptores. Indicaciones diabéticos tipo II. (33) (34)

Las biguanidas no estimulan tal liberación para disminuir la hiperglicemia, se piensa que retarda la absorción intestinal de nutrientes y facilita la unión de la insulina con sus receptores.

Sin embargo, el fenformin (la biguanida más utilizada) se descontinuó del mercado porque produce acidosis láctica, observándose un 25% de mortalidad. (35) Los mecanismos exactos por los que se produce tal anomalía no se conocen.

Algunos estudios sugieren que los niveles de láctico en sangre están significativamente relacionados con la concentración plasmática de la droga , pero ésta no depende de la dosis diaria (35). Esto podría explicarse por sus propiedades farmacocinéticas, el fenformin es metabolizado en forma variable entre un sujeto y otro ya que el metabolismo hepático de hidroxilación es regulado genéticamente. (36)

Por otra parte, de 330 casos de pacientes tratados con fenformin y que desarrollaron acidosis láctica severa, un 50.3% murieron, la mayoría eran pacientes de edad avanzada (\bar{X} 64 años) y sufrieron más frecuentemente choque cardiovascular y el grado de insuficiencia renal era avanzado. (2)

El fenformin se excreta inalterada en la orina y es metabolizado en el hígado, en caso de insuficiencia hepática o renal el riesgo aumenta notablemente. (2)

Esta complicación también podría obedecer a su efecto estimulador de la glucólisis anaerobia (aumentando la producción de lactato), - así como la inhibición de gluconeogenesis. (15)

El tratamiento con biguanidas debe ser reservado a pacientes selectos.

La terapia con insulina está indicada en diabéticos Tipo I y en aquellos pacientes Tipo II cuya hiperglicemia no mejora con hipoglucemiantes orales combinados con la dieta. Frecuentemente resulta muy difícil ajustar la dosis de insulina para equilibrar el metabolismo tisular en todos los estados de alarma que acompañan a la vida diaria. (37)

Por otra parte, existe una categoría de pacientes diabéticos -- Tipo II que después de utilizar las sulfonilureas aproximadamente durante 10 años con buenos resultados disminuyen su eficacia incluso hasta mostrar resistencia. (3) Sólo el 20% de los pacientes responden adecuadamente a éstos farmacos.

Investigaciones recientes demuestran que el uso de sulfonilureas aceleran el riesgo a desarrollar arterioesclerosis por una -- tardía disminución de lipoproteínas de alta densidad (HLA₂), así -- como hiperglicemias más severas en diabéticos tratados con sulfonilureas + dieta, que los tratados únicamente con dieta.(38)

En base a las limitaciones y complicaciones que observamos -- con la medicina actual, es muy necesario buscar alternativas para el control de ésta enfermedad metabólica que ocupa el tercer lugar de -- muerte a nivel mundial, siendo ese el objetivo fundamental de este -- trabajo de investigación.

INVESTIGACIONES REALIZADAS CON NOPAL

El género Opuntia s.p. ha sido utilizado para numerosos propósitos desde épocas muy antiguas (Alimentarios, industriales, forrajes y medicinales). Nosotros nos enfocaremos específicamente en sus propiedades médicas, que según la variada información popular, el -- paciente diabético ve mejorada su sintomatología ingiriendo nopal - (Vía oral) preparado de diversas maneras: Crudo o asado de una a - tres veces al día, en ayuno o antes de cada alimento, dependiendo de la gravedad del paciente. (4)

Una fuente natural de fibra que se encuentra en abundancia en México es el nopal, con proporciones distintas de pectina y celulosa, que varían desde 3.1 hasta 12.7% de su peso. (39)

Cada 100 gr. de hojas de nopal proporcionan 19.93 Kcal.

Las fibras de la dieta son sustancias vegetales que no digieren las enzimas gastrointestinales, no se absorben y por lo tanto, no proporcionan energía. (39) Su acción varía según el estado físico y su preparación. (40) La deficiencia de fibra en la dieta se relaciona con padecimientos como: La obesidad, la diabetes y la cardiopatía isquémica que tiene una frecuencia mayor en sociedades urbanizadas.

COMPOSICION QUIMICA DEL NOPAL

En los siguientes cuadros se presentan los resultados del análisis bromatológico en cladodios (pencas) de dos especies de nopal: Opuntia streptacantha (especie silvestre) y Opuntia ficus indica (especie cultivada). (41),

Análisis bromatológico de cladodios de nopal tunero

(Opuntia ficus-indica) de diferentes edades

(Flores y Bauer 1977; Nobel 1983)

Porcentajes

Edad del cladodio (meses)	Materia seca	Proteína cruda	Grasa cruda	Fibra	ELN	Calcio	Fósforo	Potasio	Sodio
3	8.69	6.15	1.41	9.60	68.74				
4	6.38	6.33	1.33	9.14	67.91				
5	6.76	5.97	1.52	10.74	63.48				
6	6.40	5.28	1.48	10.42	63.75	9.5	0.21	1.0	0.05
7	7.46	4.36	1.56	9.92	66.46				
8	7.31	4.29	1.31	10.93	66.71				

Resultados del análisis bromatológico de cladodios expresados
 en materia seca, colectada en los Estados de Zacatecas
 y San Luis Potosí (López et al. 1977)

Edad del cladodio años	Descripción	Proteína cruda	Componentes			ELN
			Grasa cruda	Cenizas %	Fibra	
0.5	Renuevos o nopalitos	9.4	1.0	21.0	8.0	60.6
1	Penca	5.4	1.29	18.2	12.0	63.1
2	Penca	4.2	1.40	13.2	14.5	66.7
3	Penca	3.7	1.33	14.2	17.0	63.7
4	Tallos suberificados	2.5	1.67	14.4	17.5	63.9

El cladodio se caracteriza por tener un contenido de agua que oscila entre el 88 y 91%, siendo el mayor porcentaje en cladodios jóvenes que en adultos. El contenido de materia seca fluctúa entre el 9 y 12%. En cladodios jóvenes se encuentran porcentajes más bajos de materia seca pero superiores en proteína.

En relación a la composición mineral es notable la acumulación de calcio, llegando a registrarse porcentajes que van de 5 a 9.5%. (41) El calcio es tres veces más alto en cladodios de un año que en cladodios de 7 meses.

A continuación presentaré algunos experimentos que configuran el proyecto de estudios del nopal:

Frati-Munari-Yever (1987), investigaron la influencia de tallos de nopal (especie no clasificada) crudos, licuados en humanos sanos - sobre los niveles de glucosa e insulina, deduciéndolo que dichos niveles - no se modificaron con la ingestión de nopal solo ni con la prueba de - solución glucosada intravenosa. Pero en la prueba de tolerancia a la - glucosa vía oral, la glucemia fue significativamente menor en las prue- - bas de nopal que el grupo testigo. Esto sugiere que el nopal utilizado - disminuye la absorción intestinal de glucosa en forma similar a lo obser- - vado con las fibras dietéticas. (6)

Estos resultados difieren de los estudios realizados anteriormen- - te en humanos, en los que la glucemia en ayuno disminuyó por la ingestión - de nopal asado (no clasificado) lo que hacía sospechar la presencia - de una substancia con propiedades hipoglucemiantes. (7) Los resulta- - dos también son distintos de los obtenidos con animales con Opuntia -- streptacantha L., en los que el efecto hipoglucémico se demostró en prue- - bas de tolerancia a la glucosa parenteral. (4)

En 1988 se realizó un estudio e investigaron si la administra- - ción de dosis mayores de nopal asado (Opuntia streptacantha L.) produce - un efecto más importante en la prueba de tolerancia a la glucosa (vía - oral) , reportaron que los niveles de glucosa no se diferenciaron entre - ambas dosis. En cambio, los niveles de insulina fueron significativamen- - te menores a mayor dosis de nopal. (42)

Aunque la interpretación de éstos resultados debe ser cautelosa, - se podría sospechar que además de las fibras dietéticas el nopal contiene - alguna substancia capaz de mejorar la utilización celular de la glucosa, - haciendo más efectiva la acción de la insulina. (42)

En vista de lo anterior, el presente estudio está encaminado en definir la relación que existe del efecto hipoglucémico y la ausencia - de fibra de un extracto de nopal, es este caso (Opuntia ficus indica -- (L) Miller) Var. Puebla/Milpa Alta.

Es importante mencionar que la mayoría de reportes hasta ahora mencionados se han limitado a modelos de animales y humanos sanos, y - conocidos los mecanismos reguladores endocrinos de los niveles de glucosa en sangre, consideramos indispensable que la evaluación se realice - en modelos de diabetes experimental, por lo que utilizamos el modelo de diabetes mellitus inducida por estreptozotocina (DMIXSTZ) en ratas - wistar.

Por otra parte, el nopal utilizado en los estudios mencionados, en ocasiones no clasifican la especie (s.p.) con la que trabajan. -- ¿ Probablemente no todas las s.p. y variedades de nopal son útiles para la Diabetes Mellitus ?

Finalmente, la variación con la que preparan los extractos difi culta evaluar la utilidad real de ciertas s.p., ya que a veces lo utilizan asado o crudo y las propiedades varían. (40)

MODELOS EXPERIMENTALES CON ESTREPTOZOTOCINA (STZ)

La estreptozotocina (stz) es un antibiotico de amplio espectro y un agente antitumoral. Es producido por el *Streptomyces Achromogenes* variedad 128.

Investigaciones han demostrado que la stz es un agente tóxico - que afecta con relativa selectividad a las células B del páncreas, presenta gran valor para el estudio de diabetes dependiente de insulina. (43).

Desde entonces, ha sido utilizado con esa finalidad a diferentes especies de animales: *Epimys Norvegicus* (rata blanca), *Canis Domesticus* (perro), *Oryctolagus Sylvilagus* (conejo doméstico), *Cricetus Cricetus* (hamster), etc. La dosis requerida para inducir hiperglicemia-permanente y las vías de administración también varían. (44)

Por lo tanto, es importante considerar lo siguiente para utilizar un modelo viable con estreptozotocina:

Definir la severidad de la lesión utilizando la dosis adecuada. - A dosis de stz 120 mg./kg. en ratas Sprague Dawley (100-300 gr.), ninguno sobrevivió por más de tres días; con 60 mg./kg. de stz la mitad sobrevivió después de 10 días; con ambas dosis se presentó cetonuria en todos los animales. Con 45 mg./kg. (stz) ninguna rata murió y sobrevivieron por más de tres meses, sólo el 20% desarrolló cetonuria; la glucemia -- mayor registrada fue 600 mg./100 ml. (45) Se calcula una reducción del - 60% en la insulina plasmática.

En todos los animales entre 24-48 hrs. después de la aplicación de stz, presentaron poliuria, glucosuria e hiperglicemia.

Algunos autores consideran como animales hiperglucémicos cuando la glucemia es mayor a 140 mg./100 ml. (45)

Es considerable tomar en cuenta también la edad de los animales: Cuando una dosis de stz 60 mg./kg., en ratas jóvenes (Lab, - Charles R. Masach). Se desarrolla hiperglicemia gradual (rango 200-300 mg./dl) después de un período latente de una semana, esa misma -- dosis en ratas adultas produce hiperglicemia transitoria 10-12 semanas-después de la aplicación de stz y posteriormente se recuperaron expontaneamente, normoglicemia. (46)

La susceptibilidad es muy importante ya que varía de acuerdo a - la edad y la especie de la rata.

Se propone que antes de iniciar cualquier estudio al respecto - conviene evaluar la stz y considerar al factor tiempo para los fines -- que se convengan.

En ratas Sprague Dawley probamos varias dosis de stz (30, 35,- 40 y 45 mg./kg) seleccionando la que permitiera la vida del animal por más de 6 semanas, con un rango glucémico (250-400 mg./100 ml). Obser vamos que a dosis de 40 y 45 mg./kg de stz, 10 días después de la aplica ción se presentó una elevada mortandad, quedando como óptima 35 mg./kg - (stz).

Existen antecedentes de que la dosis óptima de stz en ratas - Wistar es 45 mg./kg (45), reproduciendo parámetros similares al estudio anterior.

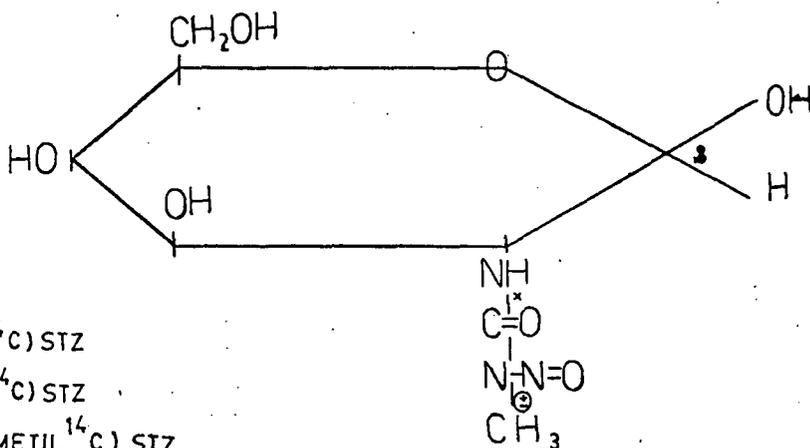
En cuanto a la vía de administración, la aplicación intramuscular o venosa de stz es igualmente efectiva. (45)

MECANISMO DE ACCION DE LA ESTREPTOZOTOCINA (STZ)

Químicamente, la stz es una metilnitrosurea derivada de la 2-desoxiglucosa.

Para estudiar la distribución, metabolismo y mecanismo de acción de la stz, se trazó y reportó la síntesis de stz específicamente y se marcó independientemente con ^{14}C en 3 posiciones de la molécula.

ESTREPTOZOTOCINA



Siguiendo la administración de una de las 3 formas de stz marcadas, se encontró que solo (3 metil 14 c) stz lleva una acumulación pancreática significativa en comparación con la encontrada en sangre, mientras que la (1-14 c) stz y la (2-14 c) stz se encontró en niveles mucho más bajos en pancreas. (47)

Algunos estudios indican que la stz ejerce su inicial efecto bioquímico por la alta generación de iones metilo (CH_3). Estos iones son formados durante la descomposición de metil nitrosurea. Estos iones son capaces de alquilación de ADN en varias posiciones de sus bases. Como parte del proceso para reparar esas lesiones de la poli ADP ribosa sintetaza nuclear es activada para formar poli ADP ribosa utilizando NAD como sustrato. Esta reacción lleva a un agotamiento crítico del NAD, trayendo como última consecuencia muerte celular. (48), (49), (50).

Al parecer, la estructura molecular de la stz facilita que ocupe receptores para glucosa presentes en la célula B y poder ejercer su efecto tóxico. (51)

La nicotinamida, un precursor del NAD y los radicales libres mostraron una reducción de toxicidad directa a nivel de las células beta inducida por una sola dosis de stz. Sin embargo, estos agentes no previenen la diabetes, sugiriendo que la toxicidad directa de la stz en las células B, no es el único mecanismo que produce hiperglicemia, (52) proponiendo la hipótesis autoinmune como parte de este proceso. En la última década se ha obtenido información al respecto.

Anticuerpos superficiales de las células de los islotes eran detectados después de MSZ (múltiples dosis infradiabéticas de stz).- (53) El suero de linfocitos antiratón previno parcialmente o completamente el surgimiento de diabetes MSZ. (54)

Muchos reportes indican que los ratones atímicos son resistentes a la diabetes, (55) así como los ratones hechos inmunodeficientes por irradiación. (56) Se consideró importante encontrar algún medio que hiciera este fenómeno reversible, es decir, que se hicieran susceptibles a la diabetes y se logró en ambos casos mediante la reincorporación de linfocitos T. Las preparaciones enriquecidas con linfocitos B no lograron este efecto. (57) Por lo tanto, la susceptibilidad parece estar ligado con los genes del sistema principal de histocompatibilidad (HLA) (H-2 en ratones), el cual desempeña una función importante en la respuesta inmunitaria. (58)

Por otra parte, se buscó la utilización de algunos compuestos o alguna forma de producir efectos mitogenos que activaran a los linfocitos. La concavalina A tiene esas características y se logró una transfusión exitosa en ratones, al igual que la transferencia de diabetes por medio de linfocitos activados en las ratas receptoras BB/W. (59)

La utilización de compuestos con efectos contrarios a los estudios anteriores fue el uso de compuestos inhibidores de la mitosis en las etapas tempranas de diferenciación de células T.

Se utilizó la ciclosporina que previno la diabetes espontanea en ratones BB/. (60) ,

En resumen, estos datos proveen un apoyo adicional para la hipótesis que la hiperglicemia en ratones después de MSZ, resulta en parte de la activación de una respuesta autoinmune. (61)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dada la elevada frecuencia de población con que se presenta la Diabetes Mellitus, apróximadamente en un 3% en nuestro país. (1) y al considerarse que los tratamientos actuales muestran ciertas limitaciones por presentar algunos de ellos complicaciones secundarias importantes como acidosis láctica (2). Otros, después de -- utilizarlos por más de 10 años como las sulfonilureas bajan su eficacia incluso hasta mostrar resistencia (3), siendo así indispensable buscar alternativas para el control de dicha enfermedad, enfocada en este caso en la herbolaria tradicional mexicana.

H I P O T E S I S

El extracto de nopal carente de fibra conserva sus efecto -
hipoglucémico en ratas Wistar con Diabetes Mellitus inducida por -
estreptozotocina.

O B J E T I V O S

- 1.- Evaluar el efecto crónico del extracto de nopal en ratas Wistar con D.M.I. X STZ, bajo los siguientes parámetros:
 - Peso corporal
 - Glucosa plasmática
 - Curva de tolerancia a la glucosa
 - Exámen general de orina
 - Acido Láctico
 - Peso de riñones
 - Dósis, respuesta variando la concentración del extracto de nopal.
 - Sobrevida.

- 2.- Evaluar el efecto agudo del extracto de nopal en ratas Wistar sanas sobre los niveles de glucosa plasmática.

M E T O D O L O G I A

Para la evaluación del efecto crónico se realizaron dos -
fases. La Diabetes Mellitus (D.M.) se indujo en ratas Wistar --
machos de 14 semanas de edad, con un peso aproximado de 310-360 gr.,
mediante la aplicación de estreptozotocina (stz) a dosis única -
45 mg./kg I.V. en la 1er. fase y 40 mg./kg I.M. en la 2da. fase. La
stz se diluyó en amortiguador de citratos 0.01M, P.H 4.5

1er. Fase:

Se formaron 5 grupos con 7 animales por grupo (N=7)

- Grupo 1.- Ratas con DMI x STZ sin tratamiento
(DIAB AG)
- Grupo 2.- Ratas con DMI x STAZ tratadas con -
el extracto diluido al 50% en agua-
(DIAB OD)
- Grupo 3.- Ratas con DMI x STZ tratadas con el
extracto sin diluir (DIAB OP)
- Grupo 4.- Ratas sanas sin tratamiento
(SANA AG)
- Grupo 5.- Ratas sanas tratadas con extracto -
sin diluir (SANA OP)

4 días después de la aplicación de stz se corroboró la -
inducción de la D M por medio de la cuantificación de los niveles -
de glucosa plasmática y se inició el tratamiento; los grupos trata-
dos recibieron el extracto carente de fibra vía oral diariamente y
a libre demanda en vez de el agua común que se ofrece en los bebede
ros; los grupos no tratados recibieron únicamente agua.

Se realizaron evaluaciones periódicas semanales durante 6 --
semanas del peso corporal y de los niveles de glucosa plasmática en --
no ayuno.

2da. Fase:

Se formaron 3 grupos con 7 animales por grupo

- Grupo 1.- Ratas con DMI x STZ sin tratamiento
(DIAB AG)
- Grupo 2.- Ratas con DMI x STZ tratadas con el
extracto de nopal (DIAB OP)
- Grupo 3.- Ratas sanas sin tratamiento
(SANA AG)

El mismo día de la inducción de stz, se inició la administra-
ción del extracto vía oral y a libre demanda en el grupo tratado y -
únicamente agua al grupo no tratado; esto fue durante las 6 semanas-
que duró el experimento.

PARAMETROS EVALUADOS

- A) Semanalmente se cuantificó el peso corporal.
- B) Al 7° día de tratamiento se realizó una curva de tolerancia
a la glucosa con el siguiente procedimiento:

Las ratas se mantuvieron en ayuno por un -
lapso de 12 hrs., posteriormente se tomó -
una muestra basal sanguínea (tiempo 0'), a
continuación se le administró por sonda -
intragástrica (I.G.) solución glucosada -
(3 grs./kg) y se procedió a tomar muestras
sanguíneas a diferentes intervalos de tiempo
(30' 60' 120. 180')

- C) Semanalmente se continuó determinando glucosa plasmática -
variando los tiempos de ayuno (12 y 24 hrs.)
- D) Se cuantificó Acido Láctico en condiciones de ayuno y no -
ayuno.
- E) Para el exámen general de orina se colocaron las ratas en
cajas metabólicas durante toda la noche. Al día siguiente
en la orina recolectada se analizó por medio de cintas -
destrostix.
- F) Al final del experimento se evaluó sobrevida.
- G) Con la finalidad de detectar hipertrofia a nivel renal aso
ciada con un incremento en la filtración glomerular repor-
tada a corto plazo en ratas con DMI x STZ (31). Se evaluó
peso de riñones; se practicó una disección y con la ayuda-
de una balanza y un micrómetro se evaluó lo establecido.

MODELO EXPERIMENTAL PARA LA EVALUACION DEL
EFEECTO AGUDO.

Se formaron 2 grupos experimentales con sus respectivos - controles con 9 animales por grupo N=9, se utilizaron ratas wistar - machos de 17 semanas de edad con un peso apróximado de (420-470 gr.); todos los grupos fueron ratas sanas.

P R O C E D I M I E N T O :

A) Las ratas se mantuvieron bajo condiciones de ayuno (12 hrs.)

B) Se tomó una muestra basal sanguínea (tiempo 0')

C) Se administró por sonda intragástrica 20 ml./kg de extracto de nopal carente de fibra y a los 30' por la misma vía solución glucosada, esto es para los grupos experimentales. A los controles se les - administró únicamente la solución glucosada:

Grupo 1.- (3 gr./kg de sol ' glucosada)

Grupo 2.- (10 gr./kg de sol ' glucosada)

D) Se procedió a tomar muestras de sangre variando - los tiempos:

Grupo 1.- (tiempos 0' 60' 120' 180')

Grupo 2.- (tiempos 0' 60' 120' 180')

E) Análisis estadístico: Se llevó a cabo con la prue - ba T de Student.

TOMAS DE MUESTRA SANGUINEA

Se introduce el animal en la bolsa de plástico, después se -
sujetan ambos extremos con pinzas para inmovilizarlo dejando un orifi-
cio en la parte superior permitiendo su respiración. En seguida se -
pasa la cola de la rata por agua tibia con la finalidad de provocar -
una vasodilatación y facilitar el flujo sanguíneo; se seca y se --
desinfecta la parte inferior de la cola con benzal, se secciona con -
unas tijeras la mínima cantidad y por medio de masajes se hace fluír
la sangre, se recolecta en tubos capilares heparinizados y se sellan-
por uno de sus extremos, identificando cada uno de ellos con el grupo
de la rata.

Posteriormente se manda al laboratorio para la cuantificación
de glucosa por el Método de Orto-Toluidina.

La determinación del ácido láctico fue por el Método de --
Gutmann y Wahleserd 1974.

METODO DE ORTO-TOLUIDINA (DUBOWSKI 1962)

Fundamento: La reacción de la Orto-Toluidina está basada en -
la capacidad de condensación de muchas aminas aromáticas en solución -
ácida con el grupo aldehído de la glucosa para formar la glucosamina.
Es probable que el producto inicial de la reacción sea un N- glucosido
inestable que se encuentra en equilibrio con la base Shiff estable.

Se lee la absorvancia a 630 nm

Tipo de muestra; suero y orina

Ensayo (suero sin desproteínizar)

Suero	0.02 ml + 2 ml de O-toluidina
Patrón	0.02 ml + 2 ml de O-toluidina
Blanco	0.02 ml de agua + 2 ml de O-toluidina

Mezclar y llevar a baño maría durante 10 minutos. Enfriar y leer a 630 nm.

C A L C U L O S :

$$\text{Conc. Muestra} = \frac{\text{Densidad óptica muestra} \times \text{conc. del patrón}}{\text{Densidad óptica}} \text{ mg/dl}$$

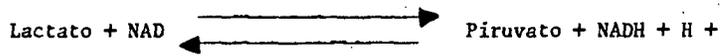
Valores normales (en ayuno)

Sangre venosa: Plasma o suero 55-90 mg./100 ml

Sangre capilar: 60-100 mg./100 ml.

METODO DEL ACIDO LACTICO (GUTMANN Y WAHLEFELD 1974)

Fundamento: El contenido del láctico de la sangre completa se estabiliza por precipitación inmediata de las proteínas con ácido perclórico. El lactato del sobrenedante sin proteínas se transforma en piruvato por adicción de una suspensión deshidrogenasa láctica (LDH); ésta transformación se mide a través de la cantidad de dinucleotido de nicotinamida adenina reducido (NADH) que se produce empleando la absorbancia específica del mismo a 340 nm y comparando este valor con el NADH producido durante la transformación de cantidades conocidas de lactato, se logra que la reacción sea completa combinando el piruvato formado con hidracina.



Material de prueba: Sangre (suero desproteinizado)

REACTIVOS :

Acido perclórico, 5 ml. HClO_4 al 70%, aforar a 100 ml.

Mezcla Reacción (Rxñ):

Buffer de glicina	4 ml	6 ml
Agua destilada	8 ml	12 ml
NAD	20 mg	30 mg
LDH	200 μ	300 μ
	<u>12 ml</u>	<u>18 ml</u>

1.- Preparación de la prueba:

Tomar la muestra de sangre

Efectuar la desproteinización inmediatamente a la extracción

Pipetear en un tubo	
Acido Perclórico (enfriado en hielo)	0.5 ml
Sangre	0.25 ml
Mezclar bien y centrifugar 10 min. a 3,000 rpm.	
Decantar el sobrenadante en un tubo de ensayo.	

2.- Pipetear en los tubos de ensayo:

	BCO	PRUEBA
Sobrenadante	-	0.1 ml.
Acido Perclórico	0.1 ml	-
Mezcla Rx'n	1.0 ml	1.0 ml.

Mezclar, dejar en baño maría a 37°C durante 30'
y medir la extensión de la prueba frente al -
blanco a 340 nm.

3.- CALCULO: La concentración (c) de L-lactato en la prueba se calcula:

Longitud de onda	340 nm
c (mg/100 ml)	49.3 x AE
c (mmol/L)	5.47 x AE

AE= Extensión de la prueba

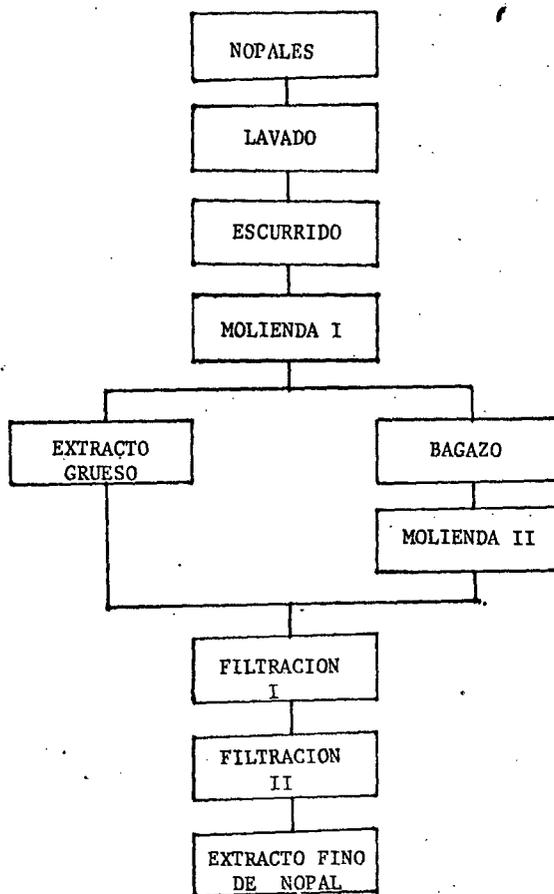
Valores normales: Sangre venosa (ayuno)

9-16 mg/100 ml o resp 1, 0-1, 78 mmol/L.

EXTRACTO DE NOPAL

La obtención del extracto se llevó a cabo por el siguiente procedimiento con el cual se aisló la fibra cruda, esto se acompaña de su respectivo análisis bromatológico.

OBTENCION DE EXTRACTO DE NOPAL
PROCESO I (CON MOLIENDA)



Filtración I: Con malla de plástico
(sencilla)

Filtración II: Con manta de cielo
(doble)

ANALISIS BROMATOLOGICO EN EL EXTRACTODE NOPAL

°Bx	2.5
pH	4.5
Azúcares Reductores Directos (g/100 g)	0.40
Azúcares Reductores Totales (g/100 g)	0.67
% de Cenizas	0.69
% de Humedad	97.40
% de Proteína	1.60
Acidéz (g/l) como Acido Cítrico	0.28
% de Fibra Cruda (B.S.)	0

°Bx.- Los análisis comerciales consideran el grado Bix como el % de materia sólida o como el total de sólidos disueltos en un líquido.

Las pencas de nopal fueron cultivadas y recolectadas en el -
Estado de México, Delegación Milpa Alta.

PROMAN: (Promotora de Maguey y Nopal, SARH) procesó la -
obtención del extracto y proporcionó el nopal durante todo el estu
dio.

Su clasificación taxonómica fue la siguiente:

FAMILIA:	_____	CACTACEAS
GENERO:	_____	OPUNTIA
ESPECIE:	_____	FICUS INDICA
EDAD APORX.	_____	1 AÑO
TAMAÑO PROMEDIO DE LA PENCA:	_____	38 x 9.8 cm.

CONDICIONES DE ALIMENTACION

Los animales se mantuvieron en condiciones óptimas de biote-
rio, ciclos luz, obscuridad 12/12. Se alimentaron con dieta comer
cial nutricubos-purina.

M A T E R I A L :

- * Balanza
- * Pinzas fuertes
- * Bolsas de plástico
- * Lámpara de alcohol
- * Tijeras
- * Algodón
- * Sonda intragástrica
- * Jeringas de insulina y de 20 ml.
- * Capilares de vidrio heparinizados de 250 u L
(American Scientific Products).
- * Cintas destrostix.Bili-Labstix. Lab Miles
- * Benzal
- * Solución glucosada destroxa al 50%
- * Solución amortiguadora de citratos PH 4.5 .OIM
- * Streptozotocina Mixed Anomers, Sigma Chemical, Company.

RESULTADOS

PRIMERA FASE DE T.C. CON EXTRACTO DE NODAL (GRATIAS Y LABIAS)

R E S U L T A D O S

(Primer fase de tratamiento crónico con Opuntia ficus indica)

Efecto de la estreptozotocina sobre los niveles
de glucosa plasmática en ratas wistar:

Los valores de glucosa en sangre, obtenidos 4 días después de la inducción experimental de la diabetes con estreptozotocina a dosis única de 45 mg/kg, vía intravenosa, presentaron valores promedio de - 390 mg/100 ml., mientras que los grupos sanos, es decir los que no -- recibieron estreptozotocina, se encontraron dentro de los límites normales (70-80 mg/100 ml.) (Fig. 2) 6, (Tabla 1A)

Efecto del extracto de nopal por 6 semanas
sobre la glucosa serica y el peso corporal de
ratas sanas:

Durante todo el experimento el grupo sano que recibió el extracto de nopal y el que recibió únicamente agua, presentaron valores muy - semejantes de glucosa plasmática (60-90 mg/dl) y un aumento gradual - del peso corporal de un 4.5% de su valor inicial. (Fig. 1 y 2) 6 (Tabla 1A,1B)

Efecto del extracto de Opuntia ficus indica en ratas diabéticas, sobre
la glucosa sérica prandial evaluada semanalmente hasta
concluir el estudio:

Durante las 3 primeras semanas no se encontraron variaciones - significativas de glucosa serica en los grupos diabéticos experimentales a los que se les administró el extracto de nopal respecto a los valores - del grupo testigo. (Fig. 2) 0° (Tabla 1-A)

En virtud de que los animales diabéticos durante la 4a. y 5a. semana de tratamiento presentaron polidipsia severa como consecuencia de la poliuria característica de la diabetes mellitus, se observó hemoconcentración. Esto dificultaba la obtención de las muestras sanguíneas para cuantificar la glucemia, por lo que se decidió administrar sus tratamientos correspondientes (agua o extracto) y 2 horas después se procedió a la toma de muestra. Bajo ésta condición los grupos diabéticos que recibieron previamente el extracto presentaron un incremento considerable de la glucemia, apreciamos marcada hiperglucemia en el grupo que recibió el extracto de nopal no diluido (572 ± 88 mg/dl) ($P < 0.02$), efecto contrario a lo esperado en el grupo testigo (421 ± 48.1 mg/dl), estos resultados corresponden a la 4a. semana. Durante la 5a. semana se manifiesta de nuevo este incremento significativo de la glucemia en el mismo grupo experimental ($P < 0.02$) (Fig. 2) (Tabla 1-A)

En base a lo anterior, se decidió conocer el comportamiento de la glucemia posterior a la ingesta de nopal 6 o más horas, lo cual se realizó en las siguientes fases del estudio.

Comportamiento del peso corporal de ratas diabéticas tratadas con extracto de Opuntia ficus indica por un período de 6 semanas:

El peso corporal después de la 3er. semana de tratamiento, apreciamos estabilización en los grupos diabéticos tratados (con extracto no diluido) (244.2 ± 12.8 gr.), (con extracto diluido) (227 ± 20.3 gr.), y una pérdida mucho más notable en el grupo testigo (205 ± 19.6 gr.) (Fig. 1) (Tabla 1 B)

La significancia estadística entre el grupo experimental que recibió extracto no diluido y el grupo testigo se presentó desde la primera semana de tratamiento ($P < 0.001$) hasta concluir el estudio (Fig. 1) (Tabla 1 B)

El grupo tratado con extracto diluido mostró una pérdida del 30% de su peso inicial hasta finalizar el experimento, mientras que el grupo testigo disminuyó en un 40%. (Fig. 1) 0 (Tabla 1-B)

Comparación de dos concentraciones de nopal administradas por 6 semanas a ratas diabéticas:

Finalmente se decidió investigar si el extracto de nopal produce efectos dosis/respuesta, dependiendo de su concentración, por lo que se administró a un grupo diabético (extracto diluido al 50% en agua), y a otro grupo (extracto no diluido); se evaluó peso corporal y glucosa plasmática. Concluimos que a mayor concentración del extracto, menor pérdida de peso; se calcula una diferencia de aproximadamente 15 gr. -- entre ambos grupos de sus valores promedio obtenidos semanalmente, --- aunque las diferencias registradas nunca fueron estadísticamente significativas. (Fig. 1) 0 (Tabla 1-B)

La glucosa sérica no presentó un comportamiento uniforme. -
(Fig. 2) 0 (Tabla 1-A)

A CONTINUACION PRESENTO LA REPRESENTACION ESQUEMATICA (EN TABLAS Y GRAFICAS) DE LOS RESULTADOS PREVIAMENTE DESCRITOS.

NOTA:

LA TABLA 1A Y LA FIGURA 2 PRESENTAN LOS MISMOS RESULTADOS, UNICAMENTE ESQUEMATIZADOS EN FORMA DISTINTA.

LA TABLA 1B Y LA FIGURA 1 TAMBIEN SON EQUIVALENTES.

TABLA I.-

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CRONICO DE Opuntia ficus indica
 SOBRE LA GLUCOSA PLASMATICA EN NO AYUNO (A) Y EL PESO
 CORPORAL (B) DE RATAS WISTAR CON D.I X STZ.

1 A)	TIEMPO EN DIAS	GRUPOS	X	S	P
▲ 4		I. DIAB.OP	388.28	28.96	
		II.DIAB.OD	387.71	50.29	
		IIIDIAB.AG	389.33	17.25	
		IV.SANA.OP	60.0	9.25	
		V.SANA.AG	66.0	7.39	
11		I. DIAB.OP	252.28	28.96	
		II.DIAB.OD	290.0	70.09	
		IIIDIAB.AG	256.0	13.0	
		IV.SANA.OP	69.4	4.1	
		V.SANA.AG	71.2	3.08	
18		I. DIAB.OP	302.5	160.2	
		II.DIAB.OD	357.28	140.2	
		IIIDIAB.AG	385.0	36.4	
		IV.SANA.OP	70.8	7.1	
		V.SANA.AG	70.5	8.8	
25		I. DIAB.OP	416.0	78.5	
		II.DIAB.OD	466.8	122.2	
		IIIDIAB.AG	373.1	31.5	
		IV.SANA.OP	66.0	5.4	
		V.SANA.AG	68.3	5.0	
32		I. DIAB.OP	572.0	88.4	I-III < 0.025
		II.DIAB.OD	545.4	166.2	
		IIIDIAB.AG	421.7	48.1	
		IV.SANA.OP	72.7	2.2	
		V.SANA.OD	73.0	3.2	
39		I. DIAB.OP	480.8	97.6	I-III < 0.025
		II.DIAB.OD	397.6	84.8	
		IIIDIAB.AG	345.6	37.8	
		IV.SANA.OP	88.5	3.4	
		V.SANA.AG	81.0	8.3	

GLUCOSA (mg/100ml)

▲ INICIO TRATAMIENTO

TABLA 3

1B)

TIEMPO EN DIAS	GRUPOS	\bar{X}	S	P
0 ▽	I. DIAB.OP	309.57	28.3	
	II. DIAB.OD	304.7	29.1	
	III. DIAB.AG	311.2	6.1	
	IV. SANA.OP	314.8	19.4	
	V. SANA.AG	310.0	10.4	
4 ▲	I. DIAB.OP	284.5	18.1	
	II. DIAB.OD	278.7	26.6	
	III. DIAB.AG	280.1	8.3	
	IV. SANA.OP	316.9	20.0	
	V. SANA.AG	315.2	18.4	
11	I. DIAB.OP	247.7	16.5	I-III < 0.001
	II. DIAB.OD	233.2	21.6	
	III. DIAB.AG	212.4	6.4	
	IV. SANA.OP	310.7	14.4	
	V. SANA.AG	322.0	13.1	
18	I. DIAB.OP	241.1	11.3	I-III < 0.001
	II. DIAB.OD	227.0	20.3	
	III. DIAB.AG	214.7	4.8	
	IV. SANA.OP	308.2	18.4	
	V. SANA.AG	316.4	20.9	
25	I. DIAB.OP	244.2	12.8	I-III < 0.001
	II. DIAB.OD	233.0	20.3	
	III. DIAB.AG	205.9	19.6	
	IV. SANA.OP	308.2	10.3	
	V. SANA.AG	324.9	12.6	
32	I. DIAB.OP	248.6	15.7	I-III < 0.001
	II. DIAB.OD	221.7	23.3	
	III. DIAB.AG	213.2	6.5	
	IV. SANA.OP	311.9	8.9	
	V. SANA.AG	326.1	15.0	
39	I. DIAB.OP	242.8	13.4	I-III < 0.001
	II. DIAB.OD	225.0	20.1	II-III < 0.050
	III. DIAB.AG	206.7	6.3	
	IV. SANA.OP	318.4	18.9	
	V. SANA.AG	312.2	17.1	
45	I. DIAB.OP	222.8	14.6	I-III < 0.005
	II. DIAB.OD	213.0	17.7	II-III < 0.005
	III. DIAB.AG	191.8	7.2	
	IV. SANA.OP	322.6	17.6	
	V. SANA.AG	334.0	11.6	

PESO CORPORAL (gr)

▽ INDUCCION STZ

▲ INICIO TRATAMIENTO.

LISTA DE ABREVIATURAS NECESARIAS PARA INTERPRETAR TITULOS Y PIES
DE GRAFICAS.

T.C.	TRATAMIENTO CRONICO
F.I.	FICUS INDICA
R.W	RATAS WISTAR
D.I x STZ	DIABETES INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA
PESO C	PESO CORPORAL
E.O.F.I.	EXTRACTO DE OPUNTIA FICUS INDICA
C.T.G.	CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA
T.G	TOLERANCIA A LA GLUCOSA
DIAB.OP	RATAS DIABETICAS TRATADAS CON EXTRACTO DE NOPAL SIN DILUIR
DIAB.OD	RATAS DIABETICAS TRATADAS CON EXTRACTO DE NOPAL DILUIDO AL 50% CON AGUA
DIAB.AG	RATAS DIABETICAS NO TRATADAS (ADMON AGUA)
SANA.OP	RATAS SANAS TRATADAS CON EXTRACTO DE NOPAL
SANA.AG	RATAS SANAS NO TRATADAS (ADMON AGUA)

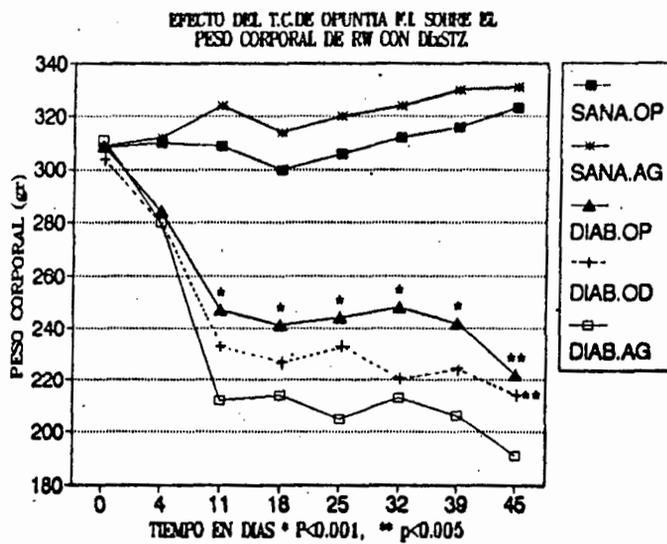


FIGURA 1

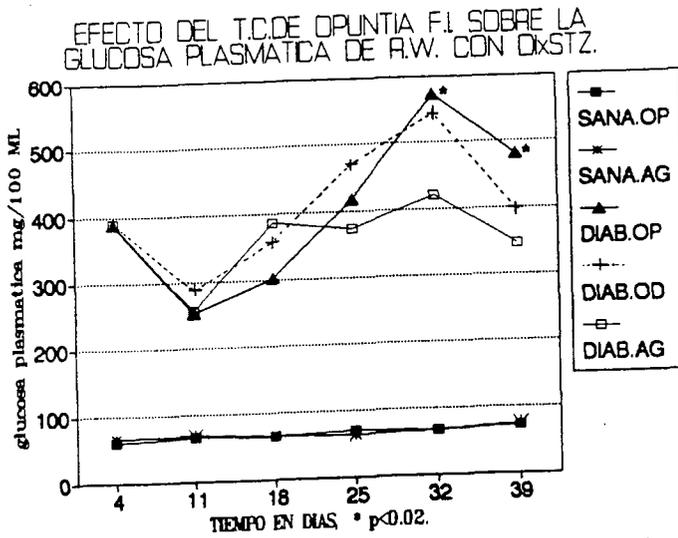


FIGURA 2

RESULTADOS

SEGUNDA BASE DE T.C. CON EXTRACTO DE TROPAL (GRAPICAS Y TABLAS)

R E S U L T A D O S

SEGUNDA FASE DE TRATAMIENTO CRONICO CON Opuntia
ficus indica

En esta fase se administró estreptozotocina a dosis única
40 mg/kg vía intramuscular.

COMPORTAMIENTO DEL PESO CORPORAL EN RATAS DIABETICAS TRATADAS POR 6 -
SEMANAS:

Los resultados obtenidos son muy semejantes a la fase anterior. - El grupo que recibió el extracto mantuvo el peso en mejores condiciones, - ya que finalmente alcanzó valores más cercanos a los valores iniciales a diferencia del grupo que recibió únicamente agua, la pérdida de peso fue progresiva. Se calcula que al final del experimento la pérdida fue de un 3.2% y 18% respectivamente. (Fig. 3)

RESPUESTA DE LA CURVA DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA DESPUES DE 7 DIAS DE TRA-
TAMIENTO CON EXTRACTO DE NOPAL EN RATAS DIABETICAS:

Este estudio se realizó en condiciones de ayuno de 12 hrs. y el - nopal se retiró 6 hrs. antes de realizarse la prueba para no obtener un - efecto inmediato dada la hiperglucemia observada en la primer fase del - estudio. Los resultados mostraron que el grupo experimental, es decir, - el que recibió el extracto de Opuntia ficus indica, presentó una mejor to- lerancia a la glucosa administrada (3 gr/kg). Los valores estadística- mente significativos fueron al minuto 30 (192 ± 43.8 mg/dl) ($P < 0.005$) y al minuto 180 (180 ± 29.4 mg/dl) ($P < 0.001$); respecto a los valores del grupo testigo, al minuto 30 (365 ± 66 mg/dl), al minuto 180 -- (291 ± 37 mg/dl). (Fig. 4)

EFFECTO DEL EXTRACTO DE NOPAL SOBRE LOS NIVELES DE GLUCOSA PLASMATICA EN RATAS DIABETICAS:

La glucosa serica cuantificada en diferentes condiciones (ayuno y no ayuno) a diferentes intervalos de tiempo durante las 6 semanas que duró el estudio, mostraron en todos los casos, el grupo diabético que estuvo bajo tratamiento con extracto presentó valores de la glucemia - significativamente menores que el grupo que recibió únicamente agua. - (Tabla II y III)

Las condiciones específicas de cada evaluación fueron las -- siguientes:

Después de la 1era. y 5a. semana de tratamiento se cuantificó - la glucemia en condición de ayuno (12 hrs.), el nopal se retiró 6 y - 12 hrs. respectivamente antes de la tóma de muestra, los valores fueron los siguientes:

Grupo Experimental	(75 \pm 4 mg/dl) (P < 0.001)
	(83.3 \pm 16.4 mg/dl) (P < 0.001)
Grupo Testigo	(113.4 \pm 7.4 mg/dl) (252 \pm 49.5 mg/dl)
	(Tabla II)

A la cuarta semana la glucemia se cuantificó en condición de - ayuno (24 hrs.), el nopal se retiró con el mismo lapso de tiempo, los valores fueron:

Grupo Experimental	(57.3 \pm 3.1 mg/dl) (P < 0.001)
Grupo Testigo	(86 \pm 22.3 mg/dl)
	(Tabla II)

A la sexta semana, la glucemia se evaluó en condición prandial, el nopal se retiró 8 hrs. antes de la tóma de muestra, los valores fueron los siguientes:

Grupo Experimental (152 ± 26.3 mg/dl) ($P < 0.001$)

Grupo Testigo (370 ± 48.7 mg/dl)
(Tabla III)

EFFECTO DEL Opuntia ficus indica SOBRE EL ACIDO LACTICO EN SANGRE DE RATAS DIABETICAS:

En virtud de que algunos hipoglucemiantes orales del tipo de las biguanidas producen ácidosis láctica, (2) se decidió conocer si la administración crónica del extracto de nopal por 6 semanas produce esta alteración metabólica.

Los resultados mostraron que el extracto no favorece esta ácidosis, incluso se observó una disminución del láctato en comparación con el Grupo Testigo.

A la cuarta semana, la cuantificación se realizó en condición de ayuno (24 hrs.), el nopal se retiró con el mismo lapso de tiempo, los valores fueron:

Grupo Experimental (22.9 ± 6.8 mg/dl) ($P < 0.01$)

Grupo Testigo (39.9 ± 10.2 mg/dl)

(Tabla IV)

Las ratas sanas presentaron cifras muy semejantes al de las diabéticas tratadas con extracto de nopal (27 ± 1.5 mg/dl) (Tabla IV).

Los valores a la sexta semana fueron de nueva cuenta estadísticamente significativos entre ambos grupos diabéticos ($P < 0.05$).
(Tabla IV)

Es importante mencionar que no se encontraron evidencias clínicas de ácidosis láctica como son: Una respiración profunda y laboriosa, así como transtornos de conciencia que van de letargo a coma.

EXAMEN DE ORINA:

Otro de los parámetros evaluados fué el exámen general de orina - con cintas destrostix, sin embargo estos resultados no son reportados debido a que en varias ocasiones encontramos excremento en la orina. Esto dificultaba la interpretación de nuestros resultados.

PESO RENAL DE RATAS DIABETICAS TRATADAS CON EXTRACTO DE NOPAL POR 6 SEMANAS:

Es conocido que los pacientes diabéticos Tipo I después de las primeras semanas de diagnóstico presentan un aumento importante en el peso y - talla de riñones (hipertrofia), después de iniciada la insulino-terapia, - estos parámetros se normalizan. Esta alteración ha sido reproducida en -- ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, por lo que consideramos - importante evaluar el peso de riñones de ratas diabéticas tratadas y no tra-
tadas al finalizar el estudio.

Concluimos que esta hipertrofia no se presentó en ninguno de los dos grupos diabéticos, ya que los valores se mantuvieron por debajo del peso renal de ratas sanas (1.58 ± 0.05 g). Grupo Tratado -- (1.41 ± 0.15 g). Grupo no Tratado (1.29 ± 0.14 g). La diferencia entre estos dos grupos diabéticos es estadísticamente significativa -- ($P < 0.02$), sin embargo creemos que no tiene valor en la clínica. - (Tabla VI)

EFECTO DEL Opuntia ficus indica EN LA SOBREVIDA DE RATAS DIABETICAS:

Dada la elevada mortandad de la diabetes mellitus registrada en los últimos 5 años colocándose dentro de las 10 principales causas de muerte a nivel mundial (1), decidimos evaluar la supervida de ratas -- diabéticas tratadas y no tratadas. Los resultados mostraron que a 6 - semanas de inducida la diabetes experimental, la supervida del grupo tratado fué de un 100%, mientras que en grupo no tratado fué del 71.4%. (Tabla V)

A CONTINUACION PRESENTO LA REPRESENTACION ESQUEMATICA (EN TABLAS Y
GRAFICAS) DE LOS RESULTADOS PREVIAMENTE DESCRITOS.

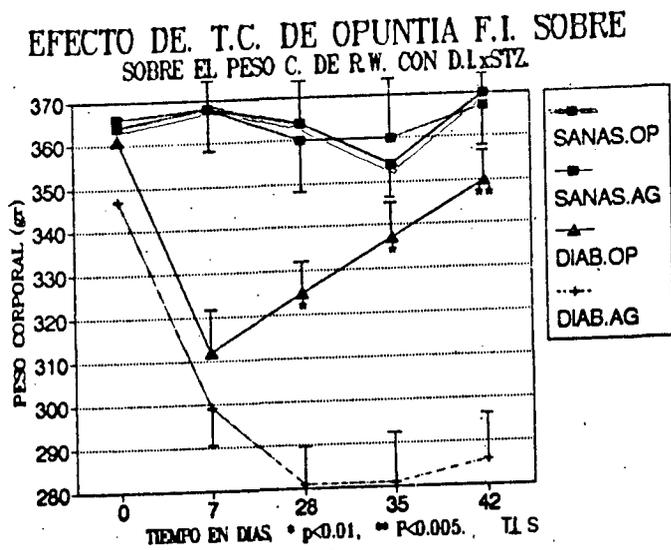


FIGURA 3

EFFECTO DEL T.C. DE OPUNTIA FI SOBRE
LA CURVA DE T.G. EN R.W. CON OJXSTZ.

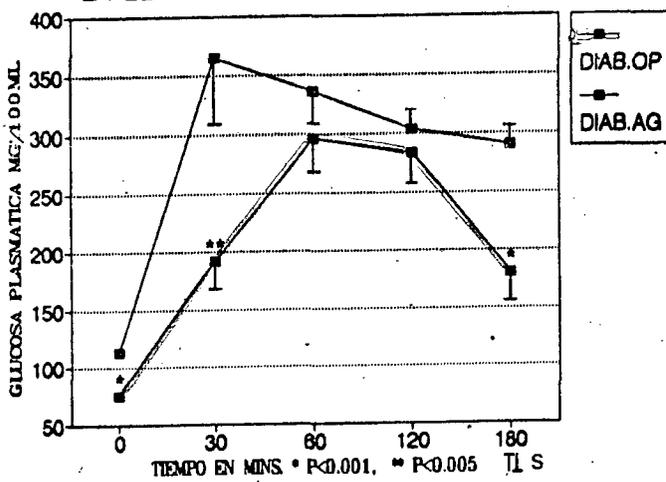


FIGURA 4

T A B L A I I .-

EVALUACION DE LOS NIVELES SERICOS DE GLUCOSA EN AYUNO
 DURANTE EL TRATAMIENTO CRONICO DE Opuntia ficus indica
 EN RATAS WISTAR CON D.I X STZ.

SEMANAS DE TRATAMIENTO	AYUNO	GRUPOS	X	S	P
1era.	12 HORAS	DIAB.OP	75.07	4.06	< 0.001
		DIAB.AG	113.41	7.41	
		SANA.AG	64.7	6.27	
4ta.	24 HORAS	DIAB.OP	57.35	3.14	< 0.001
		DIAB.AG	86.0	22.34	
		SANA.AG	61.2	3.04	
5ta	12 HORAS	DIAB.OP	83.5	16.43	< 0.001
		DIAB.AG	232.4	49.57	
		SANA.AG	56.9	4.05	

GLUCOSA (mg/100ml)

T A B L A III.-

EVALUACION DE LOS NIVELES SERICOS DE GLUCOSA EN NO AYUNO
 DURANTE EL TRATAMIENTO CRONICO DE Opuntia ficus--indica
 EN RATAS WISTAR CON D.I X STZ.

SEMANAS DE TRATAMIENTO	CONDICION	GRUPOS	X	S	P
6ta	NO AYUNO	DIAB.OP	152.7	26.2	< 0.001
		DIAB.AG	370.6	48.7	
		SANA.AG	66.4	9.5	

GLUCOSA (mg/100ml)

T A B L A . I V . -

DETERMINACION DE LACTATO EN RATAS WISTAR CON D.I X STZ

TRATADAS CON Opuntia ficus-indica

AYUNO *	GRUPOS			
	24 HORAS	DIAB.OP	DIAB.AG	SANAS.AG
X	22.97	39.96	27.7	
S	6.86	10.27	2.0	
SEM	2.59	4.20	1.15	
P	< 0.01			
NO AYUNO				
**	DIAB.OP	DIAB.AG	SANAS.AG	
X	13.64	24.3	30.6	
S	5.72	12.53	18.0	
SEM	2.34	5.61	8.1	
P	< 0.05			

*SE RETIRO NOPAL Y ALIMENTO 24 HORAS

**SE RETIRO NOPAL 2 HORAS ANTES

LACTATO (mg/100ml)

T A B L A V.-

EFFECTO DEL TRATAMIENTO CRONICO DE Opuntia ficus indica
EN LA SOBREVIDA DE RATAS WISTAR CON D.I X STZ.

G R U P O S	SOBREVIDA A 6 SEMANAS (%)
DIAB.OP	100.0
DIAB.AG	71.0
SANAS.AG	100.0

T A B L A V I .-

PESO RENAL EN RATAS WISTAR CON D.I X STZ

TRATADAS CON Opuntia ficus-indica

GRUPOS	X	S	SX	P
DIAB.OP	1.419	0.15	0.04	< 0.02
DIAB.AG	1.285	0.14	0.04	
SANAS.AG	1.581	0.17	0.05	

PESO RENAL (gr)

RESULTADOS

EFFECTOS AGUDOS DEL EXTRACTO DE YOPAL (GRAPICOL)

R E S U L T A D O S

(DEL EFECTO AGUDO DE *Opuntia ficus indica*)

Con el fin de corroborar el efecto hiperglucemiante del extracto de nopal observado en la primer fase del estudio, se decidió administrar una cantidad aguda de *Opuntia Ficus Indica* sobre la curva de tolerancia a la glucosa. Este estudio se realizó en ratas sanas.

Los resultados fueron los siguientes: No encontramos cambios significativos en los niveles de glucosa serica, cuando la cantidad de dextrosa utilizada fué de 3 gr/kg, entre la prueba con nopal y el testigo. (Fig. 5)

Sin embargo, a dosis de 10 gr/kg de solución glucosada apreciamos nuevamente cambios paradójicos de hiperglucemia en el grupo que recibió el extracto de nopal respecto al grupo testigo que se le administró la solución glucosada y agua. Los valores estadísticamente significativos fueron los siguientes: (Fig. 6)

Grupo Experimental: {
 Minuto 60 (152 \pm 32 mg/dl) (P < 0.05)
 Minuto 120 (196 \pm 69 mg/dl) (P < 0.005)
 Minuto 150 (185 \pm 75 mg/dl) (P < 0.01)

Grupo Testigo: {
 Minuto 60 (113 \pm 42 mg/dl)
 Minuto 120 (112 \pm 36 mg/dl)
 Minuto 150 (96 \pm 26 mg/dl)

A CONTINUACION PRESENTO LA REPRESENTACION ESQUEMATICA (EN
GRAFICAS) DE LOS RESULTADOS PREVIAMENTE DESCRITOS.

FIGURA 5

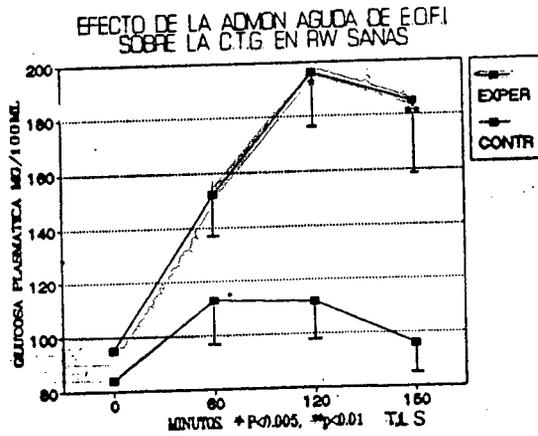
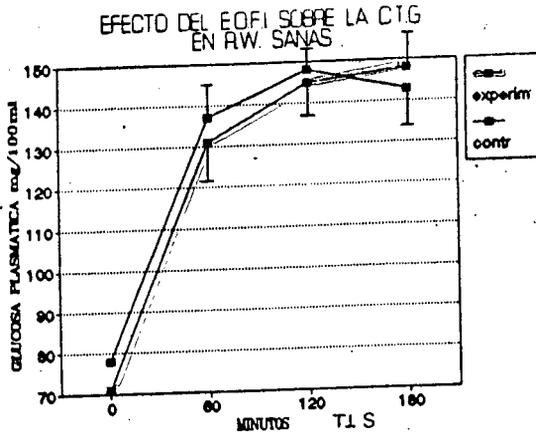


FIGURA 6

DISCUSION Y CONCLUSIONES:

Los resultados obtenidos permitieron concluir que el extracto de Opuntia ficus indica (L. Miller) carente de fibra, presenta dos efectos muy evidentes y claros sobre el metabolismo de carbohidratos, en especial de la glucosa plasmática que fue la cuantificada. Si - administramos una cantidad adecuada que hasta ahora no está completa - mente definida ya que faltaría profundizar un poco más en biofarmaco - logía y seleccionar las dosis óptimas; sin embargo, podemos afirmar - que tanto en ratas sanas como diabéticas después de las primeras - horas de ingesta del extracto de nopal apreciamos un incremento en - los niveles sericos de glucosa, es decir, un efecto hiperglucemiante - inicial.

Es conocido que existen fármacos hipoglucemiantes con este - tipo de respuestas, se les conoce como efectos bifásicos y en esta - primer fase desencadenan hiperglucemias. (62) La farmacología en general maneja medicamentos con este tipo de cinética bifásica. (63)

Por otra parte, el equipo de Fernández Harp y Col 1984, reali - zaron un estudio con el fin de conocer el mecanismo hipoglucémico del nopal. Se cuantificaron hormonas capaces de elevar la glucemia -- (Glucagon, Cortisol y H de Crecimiento). Los resultados indicaron - que el grupo experimental, es decir, los sujetos sanos que recibieron nopal y sol glucosada presentaron una tendencia a incrementar los -- niveles sericos de estas hormonas, respecto al grupo testigo. En - especial el glucagon mostró valores significativos al minuto 180 - ($P < 0.025$) (64), posiblemente un sinergismo de estas hormonas - podría explicar el efecto inicial del nopal.

También es muy claro el efecto hipoglucemiante del nopal cuando se retira 6 o más horas a las cuantificaciones de glucosa. Podemos observar que en todas las condiciones bajo este parámetro los valores de glucosa son significativamente menores en las ratas que estuvieron bajo tratamiento crónico con Opuntia ficus indica, que las que reciben solo agua.

Corroborando su efecto hipoglucémico relatado por otros autores que se han dedicado a evaluar sus propiedades en esta área de la Diabetes Experimental. (7)

Dentro de los signos clásicos del enfermo diabético encontramos pérdida progresiva del peso corporal que en ocasiones es hasta de 7 Kg. en 2 semanas. (22) El hecho de que en nuestro estudio los grupos diabéticos que recibieron tratamiento con extracto de nopal pudieran evitar en menor grado la pérdida de peso bien conocido con este modelo de estreptozotocina corrobora "sus efectos benéficos", así como los demás parámetros evaluados: Curvas de tolerancia, ácido láctico, sobrevida, etc., reiteran la utilidad de esta cactacea.

Desafortunadamente no fue posible contar con los resultados del exámen general de orina por las razones ya mencionadas, sin embargo, sabemos de la importancia de esta prueba en la clínica práctica, ya que las concentraciones elevadas de cuerpos cetónicos en la orina (cetonuria), la glucosuria, que en sujetos sanos no se presenta a menos que sobrepase el umbral renal 150 mg/100 ml indicando ya una patología y la presencia de nitrógeno urinario demuestran un pobre control metabólico de la glucosa. (15)

Por otra parte, creemos que los valores obtenidos en cuanto al peso renal y que fueron estadísticamente significativos, no tienen valor clínico, ya que la diferencia de peso corporal obtenido al final del experimento entre el grupo diabético tratado y no tratado tiene relación directa con el peso general de vísceras; es decir, el grupo testigo perdió más peso corporal y como consecuencia el peso renal fue menor.

En los animales sanos a los que no se les aplicó estreptozotocina y que recibieron administración crónica de Opuntia ficus indica - por 6 semanas, no encontramos ningún efecto importante en los niveles de glucosa sérica y peso corporal respecto al grupo que recibió solo agua. Lazarow y Palay (1946) reportaron que las ratas diabéticas beben aproximadamente 8 veces más agua que las normales, esto reitera lo anteriormente señalado. La cantidad de extracto ingerido no modificó la glucosa plasmática ni el peso corporal en animales sanos.

Algunos reportes señalan que el uso del nopal es de algún valor solo en casos ligeros de diabetes; (41) con nuestra experiencia observamos que cuando la diabetes inducida experimentalmente es menos severa, es decir a dosis de 40 mg/kg de estreptozotocina en vez de 45 mg/kg, el extracto funciona mejor ya que el peso corporal se mantiene más cercano a los límites de los valores iniciales.

Pérdida de peso estimada en % a 6 semanas de
inducida la diabetes experimental

Dosis stz	Ratas diabéticas tratadas	Ratas diabéticas no tratadas
45 mg/kg	27.9	40.0
40 mg/kg	3.2	18.0

Desconocemos cuales son los mecanismos de acción de esta especie de nopal, pero será motivo de futuras investigaciones. Sin embargo, reiteramos que los efectos observados durante todo el estudio no se deben al contenido en fibra del nopal, ya que además de corroborar su ausencia con el análisis bromatológico, en las curvas de tolerancia a la glucosa realizadas con la administración conjunta del extracto, los niveles sericos de glucosa en los grupos experimentales fueron iguales o superiores a los testigo, es decir, a los que se les administró la solución glucosada y agua.

De lo contrario, la presencia de fibras del nopal bloquearía a nivel intestinal la absorción de la glucosa y la glucemia cuantificada sería menor en la prueba con nopal, lo cual ha sido demostrado por otros autores que trabajan con extractos integros. (6)

Es conveniente hacer notar que clinicamente no observamos efectos tóxicos evidentes bajo el tratamiento crónico con Opuntia ficus indica, como son: Alteraciones en el comportamiento, cambios en el pelo de la rata; adquisición de otras enfermedades como: Crisis convulsivas, pérdida de conciencia, etc.

Me da gusto haber trabajado en este estudio preliminar sobre la búsqueda de alternativas para el control de la Diabetes, ya que desde el descubrimiento de la insulina en 1921, seguido por drogas hipoglucémicas 1955 y biguanidas pocos años después, es poco el avance terapéutico que se ha obtenido y existen dudas de su eficacia y seguridad.

RESUMEN

La Herbolaria mexicana, fuente importante de recursos naturales a constituido por siempre la alternativa por elección, guía de la ciencia médica a la búsqueda de nuevos productos con el fin de resolver el problema salud. El nopal (Opuntia s.p.) es una de las plantas más prometedoras, utilizada como agente anti diabético desde tiempos muy antiguos. Investigaciones recientes han demostrado que la administración de esta cáctacea tiene efectos hipoglucémicos, tanto es voluntarios sanos como, en algunos modelos experimentales. Se sugiere que el efecto puede deberse al contenido en fibra, la cual captaría la glucosa en tubo digestivo y limitaría su absorción. Sin embargo también es posible que el efecto se deba a algún otro compuesto independiente de la fibra. Cabe señalar que el nopal a sido utilizado únicamente en forma íntegra, esto ha dificultado identificar el responsable primario del efecto hipoglucemiante, o podrían estar involucrados varios compuestos.

En el presente estudio se evaluó un extracto de nopal (Opuntia ficus indica (L) Miller) carente de fibra, en ratas wistar sanas y con diabetes inducida por estreptozotocina (DIXSTZ). El estudio comprendió dos tipos de tratamiento agudo y crónico, se utilizaron los siguientes parámetros; peso corporal, glucosa plasmática y ácido láctico en ayuno y no ayuno, curvas de tolerancia a la glucosa, examen general de orina, sobrevida, peso y talla de riñones. Por otra parte se decidió conocer si el extracto de nopal produce efectos dosis respuesta de acuerdo a su concentración, por lo que se administró diluido al 50% en agua y no diluido.

Los resultados mostraron que el extracto conserva el efecto hipoglucemiante, cuando se administra en forma crónica y se retira 4 ó más horas antes de las evaluaciones de glucemia. ($P < 0.001$ durante las 6 semanas de tratamiento). Sin embargo cuando el extracto se administra en forma aguda o previo a la curva de tolerancia a la glucosa, apreciamos cambios paradójicos de hiperglucemia ($P < 0.01$) al min 180 (185 ± 75 mg/dl) vs (96 ± 26 mg/dl). Concluimos que Opuntia ficus indica produce una respuesta bifásica sobre los niveles de glucosa plasmática. El peso corporal se conserva en valores más cercanos a los iniciales en los grupos tratados con nopal (pérdida del 3.2%) que en aquellos que no recibieron tratamiento, los cuales mostraron una pérdida progresiva bien conocida con este modelo de DIXSTZ (18%).

Las determinaciones de ácido láctico mostraron que el extracto no favorece la acidosis láctica, riesgo común cuando se utilizan hipoglucémiantes convencionales del tipo de las biguanidas. El resto de los parámetros evaluados corrobora los efectos benéficos de esta especie de nopal.

Este trabajo fue parcialmente patrocinado por Promotora del Magüey y del Nopal. SARH.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Luis Carlos Aguilar , por la asesoria y direccion para la realizacion de este trabajo.

Al M en C.Genaro Gabriel Ortiz , por el apoyo profesional en la estructuracion y planeacion de esra tesis.

Al M en C.Luis Javier Flores A , por su participacion en las pruebas bioquimicas y facilitarme todos los medios para la culminacion de este estudio.

A mis companeros y amigos:

Monica , Paty , Adrian y Sergio por su apoyo para la realizacion de esta tesis.

A si mismo agradezco a todos los profesores de la Facultad de Ciencias Biologicas que participaron en mi formacion academica y cientifica.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Boletín informativo de la Secretaría de Salud y Bienestar - Social del Estado de Jalisco (1990). Evaluación semestral de enfermedades crónico degenerativas. (primer semestre)

- 2.- Luft D, Schmulling R.M; and Eggstein M; (1978). Lactic - acidosis in biguanide - treated Diabetes. Diabetología: 14, pág. 75-87.

- 3.- Gerich J.E; (1985), Sulphonylureas in the treatmen of - Diabetes Mellitus. Mayo Clin. Proc: 60 pág. 439-443.

- 4.- Ibáñez Camacho y Col. (1979). Efecto hipoglucémico del - nopal. Archivos de Investigación Medica, Méx. Vol. 10, - No. 4.

- 5.- Frati - Munari y Col. (1983). Efecto del nopal -- (Opuntia s.p.) sobre lípidos séricos, glucemia y peso - corporal. Archivos de Investigación Medica, Méx. Vol. 14.

- 6.- Frati - Munari y Col. (1987). Acción hipoglucemiante del nopal. Archivos de Investigación Medica, Méx. Vol. 18, - No. 7.

- 7.- Frati, A. C. Fernández Harp - J.A; (1983). Disminución a la glucosa e insulina sanguínea por (Opuntia s.p.). Archivos de Investigación Médica, (Méx.) 14:269.
- 8.- Frati y Col. (1988). Tolerancia a la glucosa y dosis de nopal. Archivos de Investigación Médica, Méx. Vol. 19, - No. 2.
- 9.- Kanell W.B, Mc Gree, D.L. (1979). Diabetes and cardiovascular disease. The framingham study. Jama 241:2035-38.
- 10.- Knowles H.C; Jr: (1974). Magnitude of the renal failure - problem in diabetes. Kidney Int 6:2-7
- 11.- Boletín informativo del Centro de Estudios Epidemiológicos - del I.M.S.S. de Occidente, 1989.
- 12.- S.G. Paink, M.A. Michelis (1982) Induction of insulin - dependent diabetes by streptozotocin Diabetes Vol. 31 -- August.
- 13.- West K.M. (1978) Epidemiology of diabetes and its vascular lesions. Amsterdam Elsevier (213-330)

- 14.- Zárate Treviño (1989) Diabetes Mellitus (bases para su -
tratamiento) Edit. Trillas.
- 15.- Philip Feelig. J. Baxter (1983) Tratado de Metabolismo y
Endocrinología. Edit. McGraw - Hill.
- 16.- Francis S. Greenspan, Peter H. Forsham (1988) Endocrino-
logía Básica y Clínica. Edit. Manual M.
- 17.- Bowman y Rand (1985) Farmacología, Bases Bioquímicas y -
Patológicas. Aplicaciones Clínicas. Edit. Interamericana,
segunda edición.
- 18.- A. Lemark (1985), Review Molecular Biology of type I -
(insulín - dependent Diabetes Mellitus). Diabetología:28
- 19.- Yoon J. W. Austin, M; Onodea, T. (1979), Virus induced -
Diabetes Mellitus, isolation of a virus from the pancreas of
a child with Diabetes ketoacidosis. N. Engl. J. Med; 300:
1173-1179.
- 20.- Ji - Won Yoon and Abner, Louis Notkins (1983). Virus -
induced Diabetes in mice. Metabolism:32 (7)
- 21.- Eisenbarth, G. (1986). Type I Diabetes Mellitus: Achronic
autoimmune disease, N. Engl. J. Med. 315:224-230.
- 22.- Mark A. Atkinson y Noel K. Mac. (1990) Origen de la Dia-
betes. Scientific American. Vol. 263 No. I

- 23.- John A. (1990) Genetic Control of Autoimmunity in type I Diabetes: Tood en Immunology today. Vol. 11 No. 4, - 122-129.
- 24.- Olfsky, J.M; y Kotelrman O.G. (1981) Mechanism of Insulin Resistance in Obesity and non insulin-depend.(Type - II) Am J. Med, 70:151-168.
- 25.- Raskin P. (1985) Islet cell Abnormalities in non insulin-dependent Diabetes Mellitus. Am J, Med. 79(supl 2B) 2-5.
- 26.- Iruglia, J.A. Livingston J.N. (1985) Insulin resistencia, receptor and post binding defects in human obesity - and noninsulin dependent Diabetes Mellitus. Am J, Med.- 79 (supl. 2B) 13-22.
- 27.- Kobberling J, Tattersall R. (1982) The Genetics of Diabetes Mellitus. London Academic.
- 28.- P. Giraudet J. Pre D, Bouige. (1979) Biochimie Tissulaire Humaine. Fascicule 4 le folie. Edit. Malone Paris
- 29.- Edward H. Leiter. (1989) Reviews, the Genetics of Diabetes suceptibility in Mice. Vol. 3 Sept. (2231-2239).
- 30.- Peters dof Adams - Brawnwald, Wilson, Harrison. (1983) - Principles of Internal Medicine.

- 31.- P.K, Jensen, J. Sandahi Christiansen. (1981), Renal -
Function in Streptozotocin, Diabetic Rats. Diabetologia-
21:409-414.
- 32.- Ditzel J, Junker K. (.1981) Abnormal Glomerular Filtra-
tion Rate Renal Plasma flow and Renal Protein Excretion -
in recent and short term Diabetes. Br Med. J:2, 13-19.
- 33.- Jackson, J.E. y Bresscer R, (1981) Clinical pharmaco-
logy of sulphonylureas, hypoglycaemic agent. Drugs : 22.
- 34.- Kempner W.R, Kuno. J.(1987) Mechanism of biguanides -
action in no insulino dependent Diabetes Mellitus. Diabe-
tes, 36: 632-640.
- 35.- P. Marcheti, M.D.L. Benzi, (1987) Plasma biguanide -
levels are correlated with metabolic effects in diabetic-
patients. Clin pharmacol ther 41 : 450-454.
- 36.- Bosisio E, Galli Kienle M, Galli G. (1981) Defective -
hidroxilation of phenformin as a determinant of drug --
toxicity. Diabetes: 30, 644-9.
- 37.- Karam J.H. Etwiler D.D. (1983) International symposium
on human insulin. Diabetes care 6 (suppl. 1).

- 38.- Ms Billingham, J.J Milles. (1989) Lipoprotein composition in type II Diabetes, metabolism. Vol. 38 No. 9.
- 39.- Fdez.-Harp, J.A, Frati-Munari, A. C. (1986) Relación entre las fibras dietarias y el contenido energético de los alimentos. Rev. Med, I.M.S.S. Méx, 24:71.
- 40.- The royal, collage of psicians of London (1980) Medical aspects of dietary fibre. Pitmann Medical Tumbridge.
- 41.- Pimienta Barrios Eulogio. (1990). El nopal tunero. Primera Ediccion Universidad de Guadalajara.
- 42.- Frati-Munari, J. Luis Quiróz Lázaro (1988) Efecto de diferentes dosis de nopal (Opuntia streptacantha L.) en la prueba de tolerancia a la glucosa. Arch. Inv. Med. (Méx.) 19 : 143.
- 43.- Like A, A. and Rossini A.A. (1976) Streptozotocin induced pancreatic insulinitis, new model of Diabetes Mellitus. Science 193 : 415-17.

- 44.- Max Ellenberg, M.O. Herold Rifkin, M.D. (1983) Theory - and practice, cap. 18 : 364-73, third edition.
- 45.- A. Nakhonda and H.A. Wong (1979) The inducction of Diabetes in rats by I.M. administration of streptozotocina. Vol. 35 No. 12.
- 46.- Jound, A. Lambert A.E. Stauffacher, W. (1969) Diabeto--genic action of streptozotocin: Relation ship of dose to - metabolic response. J. clin invest, 48 : 2129-39.
- 47.- H.K. Arunanayake, J.R.J. Backer. R.A. Christian P.J. (1976) Autoradiographic study of the distribution and regular -- uptake (14 C) streptozotocin in the rat. Diabetologia:- 12, 123-128.
- 48.- Masiello, P. and Bergamini, E. (1977) Experientia 33, - 1246-47.
- 49.- Whish, W.J.D. Davies, M.L. and Shall, S. (1975) Biochem, biophys. Res. commun 65, 722-730.
- 50.- Kazumi T, Yoshino, G, Yoshida, Y. (1978) S. Endocrinology 103 : 1541-45.

- 51.- Rossini, A.A, Like, Dulin, (1977) Diabetes 26 : 1120-24.
- 52.- Gold G, Manning M. (1981) Diabetes induced by multiple -
subdiabetogenic doses of streptozotocin. Lack of protecion
by exogerosus super oxide dismutase. Diabetes 30 (634-38).
- 53.- K. es el U, Kolb H. (1983) Supresive effect of antibodies
to immune response gene products on the development of low -
dose streptozotocin induced Diabetes. Diabetes 32(869-87).
- 54.- Rossini A.A, Williams R.M, Appel M C, (1987) Complete pro
tection from streptozotocin induced Diabetes in mice. Nature,
276, 182-84.
- 55.- Nakamura M, Nagafuch, (1984) The role of thymic immunity-
and insulitis in the development of streptozotocin induced -
Diabetes in mice. Diabetes 33: 894-900.
- 56.- Pains S-G Blue M.L, Flerscher N. (1982) Diabetes sucepti
bility of balb/c bom mice, treated with streptozotocin, inhi
bitiun by lethal irradiation and restoration by splenec --
lymphocytes. Diabetes 31 (808-815) .
- 57.- Blue M L, Shin S.I. (1984) Diabetes induced by subdiabe
togenic doses of streptozotocin in mice. Noninvolvement -
of host B lymphocyte function. Diabetes 33, 105-113.

- 58.- Leither E.H. (1984) Genetic control of pathogenesis of Diabetes in mice. Influence of the major histocompatibiliti ty complex. Diabetes 33 (1068).
- 59.- Koexary S, Rossini A.A, Stoller W, Chick W, Williams R.M.- (1983) Passive transfer of Diabetes in rat. Science 220, 727-29.
- 60.- Laupacis A, Gardell C, Dupre J, Stiller C.B. (1983) -- Cyclosporin prevents Diabetes in wistar rats. Lancet 1: - 10-12.
- 61.- R.C. Mc Evoy, N.M. Thomas (1987) Cell mediated anti B - cell autoimmunity. Diabetología 30: 232-238.
- 62.- Max Ellenberg, M.D, Herold Rifkin, M.D. (1983) Theory - and practice, cap. 28:596, third edition.
- 63.- J.M. Arache, J. Ph Devissaguet (1983) Manual de farmaco logía. Edit. M.M. D.F.
- 64.- Fdez.-Harp, Frati-Munari (1984) Estudios hormonales en la acción del nopal. Rev. Med. I.M.S.S. Méx. 22:391.

29 de Mayo de 1991.

C. M en C. Carlos Beas Zarate.
Director de la Facultad de Ciencias Biologicas.
Universidad de Guadalajara.

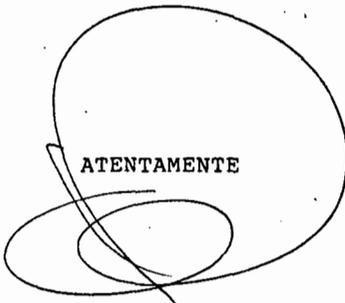
P r e s e n t e ;

Estimado Dr. Carlos Beas Zarate;

Por medio de la presente comunico a usted que la C. Miriam Ruth Bueno Topete, pasante de la Licenciatura en Biología con el número de registro 80372108 ha concluido satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado ; EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE NOPAL (Opuntia-ficus indica (L) Miller) CARENTE DE FIBRA, EN RATAS CON DIABETES INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA. Estudio realizado en la Facultad de Ciencias Biologicas.

Así mismo le informo que he revisado el manuscrito de la tesis y considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad a su digno cargo.

Sin más por el momento, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.



ATENTAMENTE

M en C. Genaro Gabriel Ortiz.

Director de Tesis



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Sección
 Expediente
 Número

C. MIRIAM RUTH BUENO TOPETE
 P R E S E N T E.

Manifestamos a usted que con esta fecha ha sido aprobado el tema de Tesis "EVALUACION DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO DE NOPAL (OPUNTIA FICUS INDICA) CARENTE DE FIBRA EN RATAS CON DIABETES MELITUS INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA" para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicha tesis al M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.

A T E N T A M E N T E
 "PIENSA Y TRABAJA"

Guadalajara, Jal., 12 de Noviembre de 1990.
 EL DIRECTOR



FACULTAD DE
 CIENCIAS BIOLÓGICAS

M. EN C. *Carlos Beas Zarate*
 CARLOS BEAS ZARATE.

EL SECRETARIO

M. EN C. MARTIN P. TENA MEZA.

c.c.p.- Al M. en C. Genaro Gabriel Ortiz.- Pte.
 c.c.p.- El archivo del alumno.

vsg'

Al contestar este escrito cítese fecha y número