

CALENDARIO 1983 - B

COD. 083434813

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL FRUTO DEL XOCONOSTLE
(Opuntia joconostle, Web.) A DIFERENTES ETAPAS DE
SENESCENCIA, EN INDIVIDUOS " SANOS ".

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE :

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A :

LILIA ALICIA DE LA CRUZ FARRAR

GUADALAJARA, JAL., DICIEMBRE 1993

DEDICATORIAS

PARA UN HOMBRE MUY ESPECIAL.

ME PARECE VERTE Y ESCUCHARTE TODAVIA. PREPARANDOME PARA
ESTA VIDA, POR TI APRENDI, POR TI CRECI, Y POR TI
EXISTE LA VERDAD QUE HOY VIVE EN MI.
TU ME ENSENASTE A RESPETAR Y AMAR. SUPISTE DARME LIBERTAD
Y SE QUE TE SENTIRAS ORGULLOSO DE ESTAR CONMIGO EN
ESTE MOMENTO TAN IMPORTANTE PARA MI.
GRACIAS PAPA.

LILY: MAMA. GRACIAS POR DARME LA VIDA.
APOYO PARA SALIR ADELANTE Y COMPRENSION
PARA PODER VIVIRLA.

A ROGELIO: POR DARME ESA SABIDURA. FORTALEZA Y
EJEMPLO VIVO A SEGUIR DE ENTEREZA.
COMPRENSION Y AMOR QUE SOLO
UN PADRE PUEDE DAR.

A MI MADRE. ROSA MARIA: QUE ME HA BRINDADO
LA PACIENCIA, EL CARINO Y SU
CONFIANZA DE MANERA
INFINITA.

A TI FAUSTO. POR APOYARME EN TODAS MIS DECISIONES,
POR MOTIVARME SIEMPRE PARA SER CADA DIA MEJOR.
PARA TI TODO MI AMOR.

A G R A D E C I M I E N T O S

A mi Directora de Tesis Q.F.B. Rosa María Domínguez Arias por su desinteresada y valiosa asesoría sin las cuales no hubiera sido posible la culminación del presente trabajo.

Al Dr. Eulogio Pimienta Barrios, por su asesoría para el análisis de fisiología vegetal y por su invaluable colaboración para obtener el apoyo de la Comisión Nacional de Zonas Áridas.

A la Dra. Rosario Arechavaleta Granell por sus valiosos comentarios los cuales contribuyeron de forma importante para la realización del presente estudio.

Al Dr. Miguel Ángel García González por su colaboración en la interpretación clínica de este trabajo.

A las Biólogas Lucila Méndez Morán., Blanca C. Ramírez Hernández., Celia Robles Murguía. y Sofía Loza Cornejo, por su valiosa ayuda en el análisis químico de los frutos y toma de muestras.

A la Q.F.B. Elvira Montoya Haro, por su valiosa y desinteresada ayuda en las determinaciones de insulina y péptido C.

A la Q.F.B. Ligia Moguel Duarte y Q.F.B. Ana Luz Fuentes Zermefío por su valiosa colaboración en las determinaciones de glucosa.

Al M. en C. Fabio Germán Cupul Magaña por su invaluable ayuda en el análisis estadístico.

A los voluntarios: Carlos Domínguez, Ernesto Gutiérrez, R. Carlos Gutiérrez, Rodolfo Hernández, Gerardo Valencia, Bernardo Vázquez e Ivan P. Markof., por su valiosa participación.

Y a Todas las personas que de una forma u otra ayudaron en la realización de esta tesis.

I N D I C E

	PAGINA
I .- RESUMEN	
II.- INTRODUCCION	1
III.-REVISION DE LA LITERATURA	4
III.1 -Metabolismo de Carbohidratos	6
III.2 -Fisiología de la Síntesis y Secreción de Insulina	8
III.3 -Descripción del Subgenero Opuntia: Taxonomía	14
III.4 -Distribución Geográfica	15
III.5 -Morfología y Composición Bioquímica del Fruto	16
III.6 -Usos Medicinales del Xoconostle	16
IV.-HIPOTESIS Y OBJETIVOS	17
V.-MATERIALES Y METODOS	18
V.1 -Selección de Voluntarios	18
V.2 -Selección de Frutos	19
V.3 -Toma de Muestras	20
V.4 -Etapa Control	21
V.5 -Etapas B.C y D	21
V.6 -Análisis Bioquímico y Químico	22
V.7 -Determinación de Insulina por RIA	22
V.8 -Determinación de péptido C por RIA	24

V.9 -Evaluación de Cambios Fisiológicos en Frutos de Xoconostle después de la Cosecha	26
V.9.1 -Peso Fresco de los Frutos y pH	26
V.9.2 -Acidez Titulable	27
Extracción y Determinación del Contenido de Proteína	27
V.9.3 -Extracción de Azúcares Solubles	28
V.9.4 -Contenido de Azúcares Totales	29
V.9.5 -Contenido de Azúcares Reductores	29
VI.- RESULTADOS	31
VII.- DISCUSION	34
VIII.- CONCLUSIONES	37
IX .- LITERATURA CITADA	39

I N D I C E D E F I G U R A S

	PAGINA
FIG. 1: LOS PRODUCTOS DE LA GLUCOLISIS SUFREN EL METABOLISMO OXIDATIVO EN EL CICLO DE KREBS	45
FIG. 2: RUTA DE LOS POLIOLES QUE DA ORIGEN A LA FORMACION DE SORBITOL Y DE FRUCTOSA	46
FIG. 3: INHIBICION DE LA GLUCOGENO SINTASA Y ACTIVACION DE LA GLUCOGENO FOSFORILASA	47
FIG. 4: CONVERSION DE LA PREPROINSULINA A INSULINA	48
FIG. 5: EFECTOS RECIPROCOS DEL GLUCAGON Y LA INSULINA SOBRE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE	49
FIG. 6: CORTE LONGITUDINAL DEL FRUTO DEL XOCONOSTLE MOSTRANDO SUS PRINCIPALES COMPONENTES	50
FIG. 7: VALORES DE pH A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO DEL FRUTO	51
FIG. 8: PORCENTAJES DE ACIDO MALICO A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO DEL FRUTO	51
FIG. 9: VARIACION EN EL PESO FRECO DEL FRUTO A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA	52
FIG.10: VARIACION EN EL CONTENIDO DE PROTEINAS A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO DEL FRUTO	52
FIG.11: VARIACION EN LAS CONCENTRACIONES DE AZUCARES TOTALES Y REDUCTORES A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	53
FIG.12: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO EN EL VOLUNTARIO 1	54
FIG.13: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO EN EL VOLUNTARIO 2	54
FIG.14: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 3 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	55

FIG. 15:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 4 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	55
FIG. 16:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 5 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	56
FIG. 17:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 6 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	56
FIG. 18:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 1 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	57
FIG. 19:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 2 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	57
FIG. 20:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 3 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	58
FIG. 21:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 4 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	58
FIG. 22:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 5 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	59
FIG. 23:	CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 6 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO	59
FIG. 24:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA CONTROL	60
FIG. 25:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "B"	60
FIG. 26:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "C"	61
FIG. 27:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "D"	61
FIG. 28:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA CONTROL	62
FIG. 29:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA "B"	62
FIG. 30:	INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA "C"	63

FIG.31: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE
INSULINA EN LA ETAPA "D"

63

FIG.32: DETERMINACION DE PEPTIDO C EN LA ETAPA "C"

64

RESUMEN

Por su frecuencia, implicaciones y repercusión, tanto individual como social, la D.M., se considera como un importante problema de salud pública.

Los tratamientos alópatas para la D.M. utilizados en la práctica médica, en algunas ocasiones presentan reacciones secundarias importantes que pueden limitar su uso. Como una alternativa en la medicina herbolaria se ha reportado que la ingesta de cladodios jóvenes de nopal tiene efecto hipoglucemiante (Ibáñez-Camacho 1979, Frati Munari 1983). Una de las especies utilizada con este fin, es la Opuntia xoconostle, Web. a la cual los habitantes de las zonas semiáridas del altiplano central le atribuyen propiedades medicinales para "curar la diabetes".

Con el presente estudio, se continuó una línea de investigación en la cual se evaluó el efecto hipoglucemiante del fruto de xoconostle que demostró que la ingestión del mismo no disminuye en forma significativa los niveles de glucemia pero incrementó la concentración de insulina plasmática en forma importante.

Por lo anterior en este trabajo se valoró el efecto de la ingesta del fruto del xoconostle a diferentes etapas de senescencia (2, 17, y 32 días después del corte) en la concentración de glucosa, insulina y péptido C.

Los resultados muestran que la ingestión de O. xoconostle, tiene un efecto similar a una carga de glucosa estimulando de forma apropiada la respuesta de insulina.

Así mismo al evaluar estadísticamente las etapas B, C y D frente a la etapa A (control) se concluye que el tiempo de maduración del fruto no afecta los niveles de glucosa e insulina.

En lo que respecta al análisis físico-químico del fruto, se demuestra que las concentraciones de azúcares totales y reductores son bajas, mientras que la concentración de proteínas presenta un incremento significativo en la etapa C.

Por otra parte, el pH (3.3) se mantiene constante durante las 4 etapas estudiadas y se correlaciona con la concentración de ácido málico.

La variación del peso fresco del fruto es de 9.8% a los 37 días de almacenamiento bajo condiciones de obscuridad.

II. INTRODUCCION

La diabetes mellitus (D.M.) es una enfermedad extendida por todo el mundo, que afecta del 2 al 3 % de la población occidental, porcentaje que se incrementa al 6 % si sólo se considera la población de adultos y hasta el 16 % si nos referimos a individuos mayores de 65 años (OMS,1988). Por su frecuencia y la repercusión individual, familiar y social se considera a la diabetes mellitus un importante problema de salud pública (SSBS,1990). En México, la D.M es la más frecuente de las enfermedades metabólicas y la cuarta causa de mortalidad, la cual se ha elevado hasta un 6 % en los 2 últimos años (Ovalle-Berumen 1984).

El tratamiento alopático para la D.M. que se usa en la práctica médica muestra alguna limitaciones, que impiden el buen control del paciente diabético. La mayoría de los hipoglucemiantes producen complicaciones secundarias importantes, como la acidosis láctica. Otros hipoglucemiantes, después de utilizarlos por algún tiempo con buenos resultados, disminuyen su eficacia incluso, hasta mostrar resistencia, y se toma como último recurso la administración de insulina (Gerich,1985).

Como alternativa a la medicina alopática, algunos grupos de investigadores, han reportado que la administración de cladodios jóvenes de nopal tienen efectos hipoglucemiantes (Ibañez-Camacho,1979; Frati Munari,1983). Se sugiere que el efecto podría deberse al alto contenido de fibra (Frati Munari

et al:1987), aunque no se descarta la posibilidad de que su efecto se deba a compuestos independientes de la fibra (Frati Munari et al:1983; 1988).

Estudios realizados por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), han demostrado que la administración de cladodios de nopal a individuos sanos o diabéticos tipo II, causa disminución de glucosa sérica. En los individuos sanos produjo un descenso de glucosa así como de insulina sanguínea (Frati Munari et al:1983). No ha sido posible determinar el principio activo del nopal, que tiene acción sobre el metabolismo de los glúcidos, aunque la reducción de glucosa e incremento de insulina observada en estos estudios ha llevado a sospechar que existe un mayor efecto sobre la insulina (Pimienta-Barrios, 1990).

Los trabajos de investigación antes señalados, han valorado los efectos hipoglucemiantes de cladodios de nopal, al emplear dos especies: Opuntia ficus-indica y O. streptacanta, a pesar de que tradicionalmente los habitantes de las zonas semiáridas emplean otros miembros del subgénero Opuntia. Una de las especies que es utilizada por los habitantes de esta zona es el xoconostle (Opuntia joconostle, Web.), mismo que es utilizado por los campesinos con la finalidad de regular el nivel de glucosa sanguínea (Hernández-Valencia,1990).

El presente trabajo pretende dar seguimiento a una línea de investigación en la que se evaluó el efecto hipoglucemiante del fruto de xoconostle. En esta investigación se demostró que la administración de la cáscara de este fruto disminuyó los niveles de glucosa con una tasa de reducción de 0.64 mg/min contra un testigo de 0.48 mg/min. Sin embargo, se incrementaron notablemente los niveles de insulina durante los primeros 100 minutos de la curva practicada a los voluntarios, con una tasa de incremento de 2.33 μ IU/min contra un testigo de 0.86 μ IU/min (Ramírez Hernández, 1993). Por lo anterior, es conveniente valorar el efecto del fruto de xoconostle a diferentes etapas de senescencia del mismo, sobre los niveles sanguíneos de glucosa, insulina y péptido C en individuos sanos.

III. REVISION DE LA LITERATURA.

La diabetes mellitus puede definirse como un trastorno metabólico en el que la hiperglucemia crónica es la característica fundamental, aunque la causa primaria de la enfermedad es aún desconocida se tienen evidencias de que este padecimiento resulta de desordenes en el metabolismo de los carbohidratos, grasas, proteínas o a una disfunción de los islotes del páncreas, en la producción de insulina y la calidad de la misma.

Existen dos tipos de diabetes (Drury, 1991): la diabetes mellitus dependiente de insulina (DMID) o diabetes tipo I y la diabetes mellitus no dependiente de insulina (DMNID) o diabetes tipo II. La DMID (tipo I) es el resultado de los grados variables de insulopenia que puedan existir a consecuencia de una mala función de las células beta. En términos morfológicos, el 90 % de la masa de las células beta debe ser destruida antes de que aparezca la hiperglucemia crónica. El proceso destructivo es de tipo inmune y en él participan los anticuerpos, las células K activadas y los linfocitos T citotóxicos. Se han identificados muchos factores asociados y, a algunos, como la constitución genética, las infecciones virales y las toxinas se les ha asignado un papel determinante.

La DMNID (tipo II) suele afectar a individuos de más de 40 años de edad y parece estar determinada por factores de origen genético que afectan tanto a la producción de insulina como al funcionamiento del receptor de la hormona. Esta enfermedad se caracteriza por alteraciones en la secreción de insulina por las células beta pancreáticas, así como en la unión de insulina a los tejidos periféricos, especialmente al músculo esquelético. La principal causa de la diabetes de tipo II es la obesidad, aunque también puede aparecer en individuos de peso normal. Es heterogénea en su etiología pudiendo manifestarse las alteraciones que a continuación se señalan:

- 1) Defectos en el mecanismo secretor de la célula beta.
- 2) Disminución de la unión de la insulina a sus receptores debido a la reducción en el número o en la afinidad de los mismos.
- 3) Defectos postreceptor que alteran el transporte de glucosa al interior de las células.
- 4) Regulación defectuosa de liberación de glucosa por el hígado.

En algunos casos dos o más de estos defectos pueden coexistir.

III.1. Metabolismo de Carbohidratos

Los carbohidratos, importante fuente de energía, son ingeridos como azúcares, almidón y glucógeno y son parcialmente digeridos por la amilasa salival para formar dextrinas y maltosa. Las dextrinas, la maltosa y otros disacáridos son digeridos posteriormente para formar los monosacáridos: glucosa, galactosa y fructosa que son absorbidos y transportados por la vena porta hasta el hígado, donde la fructosa y la galactosa son transformados en glucosa.

En los tejidos la glucosa es degradada por la glucólisis y los productos sufren el metabolismo oxidativo en el ciclo de Krebs (fig.1). Una de las enzimas de la vía glucolítica es la hexoquinasa que cataliza la fosforilación de la glucosa a glucosa-6-fosfato, ésta enzima tiene una afinidad muy alta por la glucosa y domina sobre otras enzimas que también tienen como sustrato a la glucosa. Así pues, la vía glucolítica es el canal metabólico fisiológico. Sin embargo, si el metabolismo de los carbohidratos se encuentra alterado, la vía glucolítica puede estar saturada de glucosa, de tal manera que se hace necesaria la utilización de una vía alternativa como la del sorbitol (fig.2). En esta ruta metabólica, la glucosa es convertida por la aldosa reductasa a sorbitol que es oxidada posteriormente a fructosa. La desviación de la glucosa a esta vía "anormal" puede ser importante en la patogenia de algunas complicaciones de la Diabetes. (Drury,1991).

El ciclo de Krebs o ciclo del ácido cítrico es la etapa final del catabolismo aeróbico de azúcares, aminoácidos y ácidos grasos. La oxidación completa de una molécula de glucosa por medio de la glicólisis, el ciclo del ácido cítrico y la cadena respiratoria transportadora de electrones produce 38 moléculas de ATP. En las células de los mamíferos, el ciclo del ácido cítrico está regulado por la modificación covalente y la inhibición alostérica del complejo piruvato deshidrogenasa y por la inhibición alostérica de la isocitrato deshidrogenasa. Una relación ATP-ADP elevada y una relación NADH-NAD también alta, disminuye la velocidad del ciclo de Krebs.

La disponibilidad de glucosa es esencial para que la célula pueda verificar correctamente su metabolismo energético. Así, el mantenimiento de una concentración adecuada de glucosa es vital para el organismo, este proceso se lleva a cabo a través de la regulación de la síntesis y degradación del glucógeno. La glucosa puede también sintetizarse a partir de precursores más sencillos mediante la ruta de la gluconeogénesis.

Además de la síntesis de ATP la glucosa puede proporcionar energía para los procesos biosintéticos en forma de poder reductor. El metabolismo del glucógeno, la gluconeogénesis y la ruta de las pentosas fosfato se encuentra estrechamente regulado de acuerdo con las necesidades energéticas o biosintéticas que la célula tiene en cada momento.

La síntesis y degradación del glucógeno son procesos regulados de forma recíproca por una cascada enzimática inducida por hormonas. Las hormonas adrenalina y glucagon se vierten al torrente sanguíneo en situaciones de hipoglicemia, ambas estimulan la producción de AMP-cíclico que a su vez activa a la protein-quinasa dependiente de sí mismo. Esta enzima cataliza la fosforilación de la glucógeno-sintetasa y conduce así a su inactivación y a la inhibición de la síntesis del glucógeno. De manera simultánea, la protein-quinasa induce la fosforilación de la fosforilasa quinasa, la cual activa y fosforila a la glucógeno fosforilasa que acelera la degradación del glucógeno. Estos efectos son revertidos por la acción de la glucógeno fosforilasa fosfatasa. Por otra parte, la insulina es liberada a la circulación en situaciones de hiperglicemia. En hígado, músculo y tejido adiposo, ésta hormona estimula los procesos anabólicos y paralelamente reprime el catabolismo. Así, la insulina contrarresta los efectos de la adrenalina en músculo esquelético y de glucagon en el hígado. (fig.3)

III.2.Fisiología de la Síntesis y Secreción de Insulina.

La insulina se forma en las células beta de los islotes de Langerhans. El número de éstas células en el páncreas es aproximadamente de un millón, las cuales constituyen el 3% de la masa pancreática. La secreción diaria de insulina es de 30 a 40 unidades. La insulina humana tiene un peso molecular de 6,000 y es sintetizada como una estructura biológicamente inactiva, la cual resulta activada en 3 etapas (fig.4).

La insulina se sintetiza en los ribosomas unidos al retículo endoplásmico rugoso. El primer precursor de insulina se conoce como **preproinsulina**, los primeros 24 aminoácidos del extremo N-terminal de esta molécula constituye el **péptido señal** de naturaleza hidrofóbica. Simultáneamente a la síntesis de la preproinsulina, el péptido señal introduce el polipéptido naciente a través de la bicapa lipídica del retículo endoplásmico, de tal manera que una vez en el lumen de éste el péptido señal es retirado por una proteasa. El polipéptido de 84 aminoácidos resultante se denomina **proinsulina** (Rawn, 1989).

La proinsulina posee 3 segmentos conocidos como cadena b, cadena c y cadena a, si se inicia por el extremo N-terminal, la cadena b tiene 30 aminoácidos, la cadena c 33 aminoácidos y la cadena a 21. Las cadenas a y b están unidas entre sí por dos puentes disulfuro, mientras que un tercer puente disulfuro conecta dos restos de cisteína de la cadena a. El péptido C es importante en la biosíntesis de insulina, porque asegura que la molécula de insulina se pliegue del modo apropiado para que se produzca el alineamiento correcto de los puentes disulfuro.

La biosíntesis de proinsulina es lenta y continua pero el proceso se acelera en respuesta a las elevaciones de la glucemia y también se estimula con la arginina, leucina y glucagón mientras que se inhibe con la adrenalina (fig. 5).

La proinsulina se transporta desde el retículo endoplásmico al aparato de Golgi donde se empaqueta en gránulos de secreción y se transforma en insulina tras la liberación mediada por proteasas de los dipéptidos Arg.31-Arg.32 y Lys.62-Arg.63, y se separa así el péptido C, las cadenas a y b permanecen unidas por dos puentes disulfuro y constituyen con sus 52 aminoácidos la molécula madura de insulina (Rawn, 1989; Drury, 1991). Mientras se produce esta transformación, los gránulos de secreción viajan desde el aparato de Golgi hasta el citoplasma de la célula beta, donde son almacenados. La unidad básica de secreción es el gránulo de almacenamiento, que contiene insulina, péptido C, cinc, calcio, etc. La glucosa aumenta la concentración de calcio libre dentro de la célula beta y, como resultado, el gránulo de insulina es transportado hasta la membrana de la célula por un sistema de túbulos y microfilamentos. El gránulo de insulina se funde con la membrana y, posteriormente, tiene lugar la secreción por exocitosis.

El producto de la secreción está compuesto de cantidades equimolares de insulina y péptido C, junto con una pequeña cantidad de proinsulina, que tiene únicamente el 5% de la actividad biológica de la insulina. Aunque la insulina y el péptido C se segregan en cantidades equimolares, esta relación no se mantiene en la sangre periférica, debido a las diferentes tasas de aclaramiento. Como resultado de la extracción hepática (50%) y el catabolismo mediado por el receptor, la vida media de la insulina (unos 4 minutos) es

mucho más corta que la del péptido C (20 minutos); que no sufre extracción hepática y es aclarado por el riñón. La concentración normal de péptido C en sangre periférica en ayunas es de 0.18-0.63 pmol/ml, que es, desde el punto de vista molecular, 4 ó 5 veces mayor que la de insulina (0.086-0.17 pmol/ml).

La insulina actúa únicamente sobre células blanco que poseen en su superficie proteínas receptoras específicas para esta hormona. El receptor de insulina es una proteína compuesta por 2 cadenas alfa y dos cadenas beta unidas entre sí por puentes disulfuro. Cada cadena beta (pmol 95,000) posee un sitio de unión para ATP, por el contrario la cadena alfa interviene en la unión de insulina pero no liga ATP.

La insulina es necesaria para facilitar el transporte de glucosa en algunos tejidos (músculo y grasa), pero no en el hígado y en tejidos que consumen en forma obligada glucosa, como cerebro, eritrocitos y medula renal. Durante las condiciones de ayuno la secreción basal de insulina regula la producción hepática de glucosa y restringe la movilización de ácidos grasos. La liberación de insulina periprandial, permite aumentar la captación de glucosa, o la formación de glucógeno en músculo e hígado, así como el transporte de quilomicrones en grasa y la captación de aminoácidos por el músculo.

Aun bajo condiciones de ayuno, existe una diversa modulación de la liberación de insulina. Durante el estrés y el ejercicio, las hormonas contraliberadoras son controladas, el tono simpático aumenta y directamente inhibe la secreción de la célula beta al oponerse a la acción de insulina en el hígado y en la periferia; el incremento de catecolaminas también impide la liberación de la secreción pancreática de insulina y hace que haya más glucosa disponible. La insulina parece ser liberada en una forma pulsátil cada 12 a 13 minutos, lo cual se especula que aumenta la sensibilidad. Existen ciclos adicionales más largos que duran de 1 a 2 horas en un ritmo diurno, con requerimientos elevados de insulina, temprano por la mañana (fenómeno de la madrugada) y niveles de insulina altos (post-desayuno), relativos a los aumentos de estímulos de la comida que se encuentran más tarde en el día.

La cascada de eventos que rodean la ingesta de alimentos son más complejos e involucran la fase entérica y cefálica. La sola vista ó el probar alimentos dispara una pequeña liberación anticipatoria de insulina en el estadio cefálico. El aumento en el tono vagal y la disminución del tono simpático conducen a una menor cantidad de impulsos inhibitorios a partir del lecho esplénico y disminuyen la secreción adrenal de epinefrina, hechos que combinados aumentan la liberación pancreática de insulina. La actividad de la glucógeno sintetasa, aumentada por la conexión vagal-neuronal a partir del hipotálamo, disminuye la producción

hepática de la glucosa. Conforme el alimento se absorbe en la fase entérica, la glucosa circulante y los aminoácidos estimulan una mayor y más continua secreción de insulina, la cual está amplificada por las hormonas gastrointestinales.

El pico prandial de la insulina ocurre dentro de los primeros 45 a 60 minutos anteriores a la ingesta del alimento y entonces, empieza a caer hasta niveles basales. El aumento de la insulina y el pico temporal precede a la elevación de glucosa en sangre. Los niveles de insulina pueden empezar a caer mientras que la glucosa todavía está elevada. Esto refleja un importante fenómeno fisiológico, y es que existe un tiempo de espera entre la aparición de insulina en el suero y el desarrollo del efecto hipoglucémico y un mayor retardo entre la desaparición plasmática de insulina y la desaparición del efecto tisular. Esta elevación temprana de la insulina prepara a las células para metabolizar la comida subsecuente. Una vez iniciada la utilización de la glucosa puede ser transitoriamente sostenida por 1-1.30 hrs. Después del pico temprano, los niveles de insulina caen hasta el nivel basal, en concierto con la disminución de la absorción al final de la comida y se previene así, una hipoglicemia tardía posprandial (John, H., Karam, 1992.)

III.3. DESCRIPCION DEL SUBGENERO OPUNTIA

Taxonomía

Las cactáceas son plantas nativas de América, es decir, endémicas de nuestro continente. Se desarrollan desde Canadá hasta la Argentina (Borrego, 1986).

En México, existen más de cien especies del género Opuntia, pues cuenta con suelos de tipo calcáreo, arenoso, de profundidad media, de pH alcalino y con alturas entre 800 y 2.500 msnm los cuales favorecen el desarrollo de este tipo de plantas. Uno de los requerimientos indispensables para el desarrollo de las cactáceas es una temperatura anual de 18 a 25 °C preferentemente, no obstante pueden resistir sequías y desarrollarse también en zonas de precipitaciones moderadas, por ende las condiciones de latitud, topografía y ambientales características de la República Mexicana son las adecuadas (Bravo, 1978).

El género Opuntia forma parte del orden Cactales, de la familia Cactácea, subfamilia Opuntioidea y pertenecen a la tribu Opuntieae (Bravo, 1978). A su vez, está formado por dos subgéneros: el Cylindropuntia, caracterizado por las opuntias de forma cilíndrica, también conocidas comúnmente con el nombre de cactus. Por otra parte se encuentra el subgénero Opuntia platyopuntia, cuyos integrantes tienen las siguientes características: son de forma aplanada, popularmente reciben el nombre de nopales y, en lo que se refiere al sabor del fruto, este puede ser dulce denominándosele "tuna", pero cuando el fruto tiene un sabor ácido, es llamado "xoconostle" (Meyer y Maclaughlin, 1981).

III.4. Distribución Geográfica

El fruto O. joconostle Web. con el cual se realizó la presente investigación, se encuentra en partes bajas y superiores de los abanicos aluviales y sobre las laderas de cerros y mesetas. Al pie de los peñascos se localizó el mayor número de ejemplares y la mayor variación de formas. Se le encuentra asociado con ejemplares de O. leuceotricha, O. streptacantha, O. rastrera, O. robusta y O. cantabrigiense, principalmente. El sustrato lo conforman suelos de la unidad litosol eutrico, delgados pedregosos, de textura media, con pendientes pronunciadas y afloramientos de la roca madre.

Se reporta la existencia de 13 variantes reconocidas tradicionalmente en Valle Santiago, Guanajuato, así como también se señala que estas variantes cultivadas no mostraron diferenciación morfológica de las que no lo son y todas pueden encontrarse en estado silvestre. Los frutos maduran entre los meses de julio a marzo (Colunga 1984).

III.5. Morfología

Los integrantes del subgénero Opuntia platyopuntia, concretamente el O. joconostle Web. es una planta arborescente, de 2 a 3 metros de altura, con tronco bien definido de aproximadamente 20 cm de diámetro, grisáceo, su epidermis es el glabra, de color verde claro, ligeramente amarillento, a su vez cuenta con espinas blancas cuya longitud es desigual; produce una flor amarilla; su fruto es subgloboso, de un diámetro aproximado a los 2 cm; la pulpa del

mismo presenta un tono rosado, es ligeramente perfumada y con un sabor ácido. El pericarpio es de consistencia gruesa y su sabor es ácido pero agradable (Bravo, 1978). (fig. 6)

Composición Bioquímica del Fruto

La composición bioquímica del fruto, al igual que el cladodio se caracteriza por presentar el 85 al 90 % de su contenido de agua, el resto está constituido por un 10 a 15 % de sólidos solubles totales, el contenido de azúcares reductores oscila entre 3.9 a 9.2 %. Presenta un pH de 6.4 a 7.1. Puede alcanzar una concentración de 41.0 mg/100g de ácido ascórbico en pulpa (Delgado, 1985).

La proporción relativa de los tres componentes principales del fruto indica que el pericarpio constituye la porción más prominente del mismo, siendo los promedios

generales los siguientes: Pericarpio 81.4 % ; Pulpa 16.37 % y Semillas 2.23 % (Colunga, 1984).

III.6. Usos Medicinales del Xoconostle

La utilización que comúnmente se le da a los frutos de O. joconostle, Web. es; como fruta fresca, dulce en conserva, verdura o condimentos así como por su propiedades medicinales (como un auxiliar en el tratamiento para la gripe, tos, inflamación de la garganta, control de diabetes y presión arterial) (Bravo, 1978).

HIPOTESIS

Los cambios fisiológicos producidos por maduración del fruto del xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) favorecerán la disminución del nivel de glucosa sérica y el aumento de insulina y péptido C en individuos sanos.

OBJETIVOS

- 1.- Evaluar el efecto de la ingesta del fruto del xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) sobre los niveles de glucosa, insulina y péptido C en individuos sanos.
- 2.- Evaluar los cambios fisiológicos de los frutos en diversas etapas de senescencia.
- 3.- Relacionar el efecto de la condición fisiológica del fruto xoconostle en el momento de su ingesta sobre los niveles de insulina, péptido C y glucosa.

V. MATERIALES Y METODOS

El trabajo experimental para evaluar el efecto hipoglucemiante del fruto del xoconostle (Opuntia xocconostle Web.) se llevó a cabo en el Hospital General Regional No. 46 del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en el departamento de medicina nuclear del Centro Médico de Occidente (C.M.O.) y en el laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara.

V.1. Selección de Voluntarios

En el presente estudio participaron 6 voluntarios seleccionados clínica y laboratorialmente como personas *sanas* con las siguientes características:

- 1.- Aceptación voluntaria a participar.
- 2.- Sexo Masculino.
- 3.- De 18 a 30 años de edad.
- 4.- Peso normal (+/- 10 % del peso ideal).
- 5.- Sin antecedentes familiares de diabetes.
- 6.- No fumadores.
- 7.- Sin toma habitual de medicamentos (por ejemplo: ácido acetilsalicílico, dipirona, etc).

La evaluación del efecto hipoglucemiante del xoconostle se desarrolló en 4 etapas:

- Control.
- Etapa B 02 días de corte.
- Etapa C 17 días de corte.
- Etapa D 32 días de corte.

En la etapa Control se les practicó a los voluntarios una curva de tolerancia oral a la glucosa.

En las etapas siguientes se les administró 200 g de xoconostle a diferentes tiempos de senescencia: 2, 17 y 32 días a partir del corte del fruto y enseguida se practicó una curva de tolerancia oral a la glucosa.

Como requisito para iniciar la fase experimental, las personas participantes mantuvieron un ayuno previo de 12 horas (iniciado a las 20:00 horas del día anterior) y sin haber ingerido alcohol ni medicamentos cuando menos 32 horas anteriores al estudio.

V.2. Selección de Frutos

Los frutos de xoconostle que se utilizaron en el presente estudio fueron colectados de una plantación intensiva comercial en el rancho "Los Alpes", localizado en el municipio de Pinos, Zacatecas. Cabe mencionar, que un ejemplar del fruto se depositó en el herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara, esto con el fin de servir como respaldo para posteriores determinaciones.

Se cosecharon frutos que se encontraron en la condición de maduración fisiológica y que además no presentaron daños visibles causados por plagas, enfermedades o factores climáticos adversos (e.g. granizo, heladas, etc.).

Los frutos fueron trasladados al Laboratorio de Anatomía y Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Guadalajara; lugar donde se llevó a cabo el estudio de los cambios fisiológicos del fruto después de la cosecha.

V.3. Toma de Muestras

En las cuatro etapas se tomaron muestras sanguíneas, para la curva de tolerancia a la glucosa a los tiempos: -20', 0', 20', 40', 60', 80', 100', 120', 140', 160', 180' y 200' minutos.

Para la toma de muestras sanguíneas se canalizó al paciente con un equipo de venoclisis (con solución salina fisiológica al 0.9 %). En cada tiempo de toma de muestra se retiró del catéter la solución salina fisiológica y se eliminaron las primeras gotas de sangre (para prevenir una hemodilución). Posteriormente, se colectaron 5 ml. de sangre en un tubo de ensaye (dejando que la sangre resbalara por la pared del tubo para evitar la hemólisis), y se dejó coagular. Una vez coagulada, se separó el suero en una centrífuga clínica a una velocidad 4,000 r.p.m. durante 5 minutos. Inmediatamente después se determinó la glucosa sanguínea y el resto del suero se conservó a una temperatura de -20 °C para la posterior determinación de insulina y péptido C.

V.4. Etapa Control

La primera etapa, denominada Control (A), se efectuó de la manera siguiente: a los voluntarios se les practicó una curva de tolerancia oral a la glucosa, la cual consistió en:

1.- Administración de 200 ml de agua entre el tiempo -20 y 0 minutos (primera y segunda muestra sanguínea respectivamente) en un lapso no mayor de 10 minutos.

2.-Administración oral de 75 g de glucosa en 250 ml de agua, esta es la dosis recomendada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para este tipo de estudios (OMS, 1988), inmediatamente después de la segunda muestra sanguínea (0 minutos), en un lapso no mayor de 5 minutos.

El resto de la toma de muestras se realizó en los tiempos anteriormente señalados.

V.5. Etapas B, C y D.

En estas etapas se procedió de la siguiente forma:

1.- Administración de 200 g de cáscara sin cutícula del fruto del xoconostle entre el tiempo -20 y 0 minutos (primera y segunda toma, respectivamente) en un lapso no mayor de 10 minutos.

2.- Administración oral de solución glucosada, empleando las cantidades y los tiempos de administración mencionados en la etapa Control.

V.6. Análisis Bioquímico y Químico

Para la determinación de glucosa se aplicó el método de glucosa oxidasa descrito por Trinder (1969), para sistemas automatizados, en este caso se utilizó un espectrofotómetro UV-VIS (Expresso 550) con los siguientes parámetros:

- Longitud de onda de 510 nm
- Tiempo de reacción 30 segundos
- Modalidad: Absorbancia
- Tipo de reacción: Cinética
- Muestra: 3 μ l
- Reactivo Trinder: 400 μ l

CALCULO

El cálculo de resultados se efectuó por interpolación en la curva de calibración correspondiente.

V.7. Determinación de Insulina por RIA

Se identifica la serie analítica de la siguiente forma:

- 2 tubos T (sin anticuerpos)
- 4 tubos NSB (unión no específica)
- 14 tubos cubiertos con anticuerpos para estándares de la curva de calibración por duplicado con las siguientes concentraciones: 0, 5, 15, 50, 100, 200 y 400 mUI/ml.
- Y los tubos restantes cubiertos con anticuerpos para los problemas por duplicado.

$\mu\text{IU/ml}$.

CALIBRADORES 1er IRP (66/304)

A (MB)	0
B	5
C	15
D	50
E	100
F	200
G	400

Enseguida se pipetearon 200 μl del calibrador A en el tubo NSB y 200 μl de cada calibrador restante, control y muestras de pacientes en los tubos preparados (se pipetea directamente en el fondo del tubo). Como paso inmediato se adicionó 1.0 ml de (I^{125}) a todos los tubos y se agitaron en un Vortex. Posteriormente, se incubaron de 18 a 24 horas a temperatura ambiente, enseguida se eliminó toda la humedad posible. Se decantó el contenido de todos los tubos (excepto el tubo T) y se dejaron escurrir por 2 o 3 minutos. Después se golpearon los tubos enérgicamente en papel absorbente para eliminar la humedad residual. Finalmente se realizó el conteo por un minuto en un contador gamma.

Para calcular la concentración de insulina de una representación logarítmica de la curva de calibración, primero se resta para cada par de tubos el porcentaje del tubo NSB del conteo por minuto (Marschner, et al., 1974):

Total de cuentas = % de CPM - % de NSB CPM

CPM = Conteo por minuto.

Entonces se determina la unión de cada par de tubos con un porcentaje de máxima unión, con el conteo corregido de los tubos A tomados como el 100 %.

$$\% \text{ de unión} = \frac{\text{Cuentas totales}}{\text{Cuentas de MB total.}} \times 100$$

MB = Unión Máxima.

V.8. Determinación de péptido C por RIA

La determinación cuantitativa de péptido C se efectuó por el método de radioinmunoensayo con la técnica de doble anticuerpo.

El péptido C es una cadena de 31 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 3,020 daltons. Metabólicamente es inerte y se forma en las células beta del páncreas como un subproducto de la conversión enzimática de proinsulina a insulina. En estos procesos la insulina y el péptido C son liberados desde la prohormona y secretados dentro de la circulación portal en concentración equimolares.

Los niveles de péptido C pueden ser indicadores de la secreción de insulina, esto es valores bajos de péptido C indican que la secreción de insulina está disminuida.

Se identificó la serie analítica de la siguiente forma:

- 2 Tubos T (para las cuentas totales)
- 2 Tubos NSB (de unión no específica)
- 12 Tubos para los estándares de la curva de calibración por duplicado con las siguientes concentraciones: 0, 0.01, 0.5, 1, 3, 5 ng/ml de péptido C.
- Problemas por duplicado.

Se pipetea 100 μ l del calibrador A (0 ng/ml) en los tubos marcados como NSB y 100 μ l de cada uno de los calibradores restantes en los tubos correspondientes, así mismo 100 μ l de cada una de las muestras de los pacientes y controles en los tubos restantes. Adicionar 100 μ l de péptido C marcado con I^{125} a todos los tubos y agitar. Adicionar 100 μ l de anticuerpos de péptido C, a todos los tubos excepto al NSB y a los tubos T agitando en Vortex. Cubrir todos los tubos e incubar de 14 a 16 horas de 2 a 8 °C. Después del período de incubación adicionar 1 ml de la solución precipitante fría a todos los tubos y agitar en Vortex. Centrifugar 15 minutos a 3000 rpm.

Decantar el sobrenadante y contar cada uno de los tubos por un minuto en un contador Gamma.

El cálculo de los resultados se efectuó de forma similar a la insulina (Beyer, et al, 1979).

V.9 Evaluación de Cambios Fisiológicos en Frutos de Xoconostle después de la Cosecha

Para evaluar los cambios fisiológicos en los frutos, a diferentes intervalos de tiempo después de la cosecha, se emplearon 80 frutos maduros de xoconostle (Opuntia joconostle, Web.). Cada fruto se identificó con un número y posteriormente se colocaron en bolsas de papel estraza, para almacenarlos a temperatura ambiente en una gaveta de laboratorio previamente desinfectada con cloro al 4%.

Las determinaciones sobre los cambios en la composición química de los frutos almacenados se llevaron a cabo a los 2, 16, 30 y 37 días después de la cosecha. En cada uno de éstos intervalos de tiempo se utilizaron 5 frutos escogidos al azar usando una tabla de números aleatorios para seleccionar los frutos. En cada muestreo se llevaron a cabo las determinaciones fisiológicas que se describen a continuación:

V.9.1. Peso Fresco de los Frutos (g)

pH

Se pesaron 6 g de tejido homogenizado a los cuales se les agregaron 40 ml de agua bidestilada, se agitaron con una varilla de vidrio y se filtraron (coladera doméstica) a fin de obtener una suspensión sin partículas grandes que pudieran interferir en la medición. Para esta determinación se utilizó un potenciómetro Conductronic pH 20.

V.9.2. Acidez Titulable

Se determinó en base al método de A.A. Kader (Comunicación personal) de la Universidad de California Davis. Después de haber registrado el pH a la misma muestra se le agregó hidróxido de sodio 0.01 N hasta lograr un pH de 7.2 (los datos de acidez se refieren a la cantidad de H). Para estimar el porcentaje de ácido málico se empleó la siguiente fórmula:

$$\% \text{de ácido málico} = \frac{\text{ml utilizados de NaOH (N de NaOH) (6.7)} \times 100}{6 \text{ g de tejido}}$$

Extracción y Determinación del Contenido de Proteína

Para la extracción de proteína se utilizó el método descrito por Choe y Thiman (1975), modificado.

Se pesaron 2 g de tejido, los cuales se homogenizaron con 8 ml de acetona fría (80 %). El homogenizado se centrifugó a 10,000 rpm durante 10 minutos, a una temperatura de -4°C. Se descartó el sobrenadante. A el precipitado se le adicionó la misma cantidad de acetona (80%). En seguida se llevó a cabo una segunda centrifugación a la velocidad, tiempo y temperatura previamente mencionados. A el precipitado final se le agregaron 8 ml de ácido tricloroacético (10 %) frío y se almacenó a una temperatura baja (-10°C) en un congelador doméstico por espacio de una hora. Posteriormente, se agitó en un Vortex y se centrifugó a 10,000 rpm durante 20 minutos. Después de esta centrifugación, se eliminó el sobrenadante y al precipitado se le adicionaron 3.2 ml de hidróxido de sodio

(1 N). Posteriormente, se colocó la muestra en un baño maría (80°C), por un tiempo de 20 minutos. Después se midió el volumen final. Las muestras pueden guardarse en congelación si no se determina inmediatamente el contenido de proteína. Finalmente la proteína insoluble en acetona (80 %) se estimó con la utilización del método de Lowry (1951). La curva de calibración se elaboró con albúmina de suero de bovino y la cantidad de proteína en cada muestra se obtendrá en base a esta referencia de calibración.

V.9.3. Extracción de Azúcares Solubles

Se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Carnal y Black (1989) con algunas modificaciones:

A 1 g de tejido homogenizado se le añadieron 5 ml de etanol (80 %), posteriormente se calentaron a 75°C por 5 minutos, se centrifugaron a 10,000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se colectó en una probeta y se repitieron los pasos anteriores con el precipitado. Se combinaron los sobrenadantes y se centrifugaron de nuevo a 15,000 rpm (-4°C) por 20 minutos. El sobrenadante obtenido de esta tercera centrifugación se colocó en una probeta y se llevó a un volumen final de 25 ml, del cual se tomaron alicuotas para la determinación de azúcares totales y reductores.

V.9.4. Contenido de Azúcares Totales

Se realizó por el método colorimétrico de fenol descrito por Dubois et al. (1956), se siguió la rutina de análisis químico de frutos de laboratorio de postcosecha del departamento de Pomología de la Universidad de California, Davis, la cual se adecuó a nuestro material de estudio.

Del sobrenadante se tomó una alicuota de 0.1 ml y se colocó en tubos de ensaye a los que se agregaron 2 ml de antrona (disuelta en ácido sulfúrico concentrado). Se agitó en un Vortex. Posteriormente, se colocaron en un baño maría (80°C) durante 10 minutos. Se dejaron enfriar de 1 a 2 minutos. Finalmente, se registró la absorbancia a 620 nm y se utilizó como blanco agua destilada.

La cantidad de azúcares totales se determinaron en base a una curva estándar empleando diferentes concentraciones de glucosa.

V.9.5 Contenidos de Azúcares Reductores

Se utilizó el método colorimétrico de Somogyi (1952) con las modificaciones citadas previamente para el análisis de azúcares totales.

Se agregó 0.1 ml de muestra a tubos de ensayo a los que se les adicionó 1 ml de reactivo de cobre, este reactivo resulta de la combinación de Cu I (tartrato de sodio y potasio, carbonato de sodio, bicarbonato de sodio y sulfato de sodio) y Cu II (sulfato de cobre y sulfato de sodio) en una relación de 4:1 (cuatro partes de Cu I y una de Cu II).

Posteriormente, se calentaron en un baño maría durante 10 minutos. Se dejaron enfriar de 1 a 2 minutos. A cada tubo se le agregó 1 ml de reactivo de Nelson (el cual contiene molibdato de amonio disuelto en agua destilada, ácido sulfúrico mezclado con arsenato de sodio). Esta muestra se agitó en un Vortex, se dejó reposar 30 minutos en obscuridad. Finalmente, fue medida la absorbancia a una longitud de onda de 565 nm.

La concentración de azúcares reductores se estimó a partir de una curva de calibración elaborada con glucosa.

Para el análisis estadístico de los datos generados se emplearon las pruebas estadísticas no paramétricas de Wilcoxon y Kruskal-Wallis, con un nivel de significancia del 5% (Stell y Torrie, 1986).

RESULTADOS

Las curvas de tolerancia oral a la glucosa efectuadas en la etapa control revelan que los voluntarios mantuvieron una respuesta normal para este tipo de estímulo, ya que alcanzaron una concentración máxima de glucosa plasmática entre los 40 y 60 minutos a partir del inicio de la tolerancia, recuperando su concentración basal a los 120 minutos, lo cual coincide con lo reportado en la literatura como normal (Karam, 1992).

Al comparar estos resultados con los de las etapas restantes B,C y D puede apreciarse que los efectos son muy similares, lo que se confirma al aplicar el análisis estadístico por la prueba de Wilcoxon, donde se concluye que no existen diferencias significativas con respecto a la etapa control.

Referente a las curvas de insulina puede apreciarse que tanto en la etapa control como en las etapas subsecuentes la concentración de insulina sérica, en la mayoría de los casos, se eleva simultáneamente con la concentración de glucosa. Para valorar las diferencias entre las etapas se aplicó el mismo análisis estadístico anteriormente señalado.

Cabe mencionar que la interpretación de las curvas de tolerancia a la glucosa e insulina se efectuó de manera global, esto significa que no se tomaron para la valoración puntos específicos de la curva.

Los resultados de las determinaciones de péptido C en la etapa C (17 días después del corte) señalan un aumento importante y regular entre los 20 y 60 minutos de la curva coincidiendo con el aumento de los niveles de insulina.

Para la valoración de los efectos de la ingestión del fruto del xoconostle a diferentes etapas de senescencia se aplicó análisis estadístico por medio de la prueba de Kruskal Wallis (Steel y Torrie, 1986), entre las diferentes etapas estudiadas, con las determinaciones de glucosa e insulina ($H = -1.30$ y $H = 1.82$ respectivamente), encontrándose que no existen diferencias significativas entre las mismas.

El análisis físico-químico del fruto se efectuó a los 2, 16, 30 y 37 días después del corte y los resultados permitieron apreciar que el pH se mantiene estable en las cuatro etapas estudiadas ($pH = 3.31$ como promedio) (fig. 7).

El porcentaje de ácido málico obtenido es variable en las cuatro etapas. 179.85 Etapa A; 273.56 Etapa B; 579.27 Etapa C y 237.15 Etapa D. Como puede apreciarse, el valor máximo se registró a los 30 días después del corte y coincide con una disminución de pH ($pH = 3.1$) (fig.8).

El peso fresco del fruto determinado en las etapas señaladas mostró una disminución del 9.8 % a los 37 días de almacenamiento bajo condiciones de obscuridad (fig.9).

La concentración de proteínas presentó un incremento del 17 % en la etapa de 16 días. en fechas posteriores el contenido proteico se mantiene constante (fig. 10).

Por otra parte las concentraciones de azúcares totales y reductores son bajas y presentaron una disminución de aproximadamente 50% en la etapa de 16 días. El nivel de azúcares totales y reductores se elevó notoriamente a los 30 días y se mantuvo constante hasta la conclusión de la etapa de los 37 días (fig. 11).

DISCUSION.

Cuando se evaluaron las curvas de tolerancia oral a la glucosa, se encontró que a pesar de haber elegido a los voluntarios sin antecedentes de D.M., y no haber demostrado durante la curva control intolerancia a la glucosa, ni diabetes mellitus, durante el estudio con la ingestión del fruto del xoconostle, llama la atención el hecho de que 2 de los voluntarios (el número 1 y 4), mostraron alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos ya que ambos registraron valores superiores a 200 mg/dl de glucosa, a diferentes intervalos de tiempo (entre los 0 y 120 minutos), lo cual se interpreta como cierto grado de intolerancia a la glucosa. Sin embargo, es importante señalar que no se puede clasificar definitivamente como una intolerancia, puesto que el estudio no se efectúa con glucosa exclusivamente y además, al cabo de dos horas, retornan los niveles de glicemia a la concentración normal. La intolerancia puede darse por dos situaciones, una que el xoconostle tuviera en su composición química cierta cantidad de glucosa, sin embargo, esto se descarta ya que el análisis químico del fruto, a diferentes intervalos de tiempo reveló que los niveles de azúcares se mantuvieron bajos (0.61 mg/g). La segunda posibilidad es que el fruto sea capaz de estimular gluconeogénesis hepática a través de la secreción de glucagon ó glucogenólisis, aunque esto es poco probable.

En el resto de los voluntarios la respuesta a la ingestión del fruto, se expresó por incrementos substanciales en los niveles de glucosa e insulina, particularmente entre

los 20 y 60 minutos y en la etapa B -dos días a partir del corte-. Sin embargo, al efectuar el análisis estadístico con la prueba de rangos signados de Wilcoxon, no se encontró diferencia significativa, con un intervalo de confianza del 95 % entre la curva control y las diferentes etapas estudiadas. Esto clínicamente significó que el fruto se comportó de manera similar a una carga de glucosa o como un alimento, es decir, estimula de forma apropiada la secreción de insulina, aunque hay que recordar que el aporte de azúcares por el fruto es relativamente bajo, de acuerdo a los análisis de la composición química que se reportan en este trabajo.

Las determinaciones de péptido C, en la etapa "C" (17 días después del corte) revelaron incremento en los niveles del mismo, lo cual se correlaciona en forma positiva con la concentración de insulina obtenida, demostrando concordancia con la secreción de esta hormona.

El incremento en los niveles de insulina, se relacionan con un estímulo ocasionado por la glucosa y fue proporcional a la magnitud del mismo; de tal forma que a mayor nivel de glucemia, (como se observó durante la curva de glucosa con xoconostle, en el segundo día del corte); los valores de insulina medidos fueron superiores con respecto a la curva control, así como a los obtenidos cuando el fruto se ingiere en cortes posteriores.

Al evaluar comparativamente las etapas B, C y D frente a la etapa A (control) por medio de la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, se encontró que no existieron evidencias a un nivel de significancia del 5 %, para concluir que el tiempo de maduración del fruto del xoconostle afectó a los niveles de glucosa e insulina.

Los resultados de la presente investigación no concuerdan totalmente con los trabajos realizados por los investigadores Frati Munari et al (1987), en los cuales se ha trabajado con cladodios de otras especies de nopal. Sin embargo, este trabajo es importante, pues no sólo se enfoca a un aprovechamiento integral del nopal, sino que, aporta información que es de gran utilidad sobre la composición bioquímica del fruto del xoconostle en diferentes estadios de maduración a partir del corte.

Las investigaciones de esta naturaleza son recomendables para contribuir al desarrollo fundamentado de la etnobotánica, así como para la propuesta de tratamientos alternos de muchos procesos patológicos que representan graves problemas de salud pública, no sólo a nivel nacional sino internacional.

CONCLUSIONES

- 1.- No se observó efecto hipoglucemiante verdadero con la ingesta del fruto del xoconostle (Opuntia joconostle, Web.), en individuos sanos.
- 2.- La ingestión del fruto del xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) tuvo un efecto similar a una carga de glucosa, al estimular de forma apropiada la respuesta de insulina.
- 3.- La elevación de los niveles de péptido C correlacionan con los niveles de insulina obtenidos, demostrando concordancia con la secreción de la misma.
- 4.- Estadísticamente se concluye que el tiempo de maduración del fruto del xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) no afectó los niveles de glucosa e insulina.
- 5.- Los resultados de los análisis físico-químicos del fruto señalaron que su composición bioquímica aparentemente, carecen de influencia para su efecto fisiológico.

Se recomienda investigar el efecto del fruto del
xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) en paciente
diabéticos tipo II B, adultos con obesidad.

LITERATURA CITADA

- Beyer J; U. Krause y U. Cordes. 1979. C-peptide: it's biogenesis, structure, determination and clinical significance. *Giornale Ital Chem Clin* 4 (i Suppl): pp 9-22.
- Boletín informativo de la Secretaría de Salud y Bienestar Social del Estado de Jalisco (1990). Evaluación semestral de enfermedades crónicas degenerativas (primer semestre).
- Borrego. E. F.; N. Burgos Vásquez; 1986; El Nopal; Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro"; México D.F.; 201 p.
- Bravo-Hollis, H.; 1978; Las cactáceas de México; UNAM; Segunda Edición; México D.F.; 735 p.
- Camacho C.O. Del Valle P.D.H. y Ruelas A.G.A. 1992. SAS (Statistical Analysis System) para computadoras. México. p. 174.
- Carnal, N.W.; and Black, C.C. 1989. Soluble Sugars as the Carbohydrate Reserve for CAM in pineapple leaves. *Plant Physiol.* 90: 91-100.

- Choe, T.H.; Thiman, K.V. 1975. The metabolism of Oat leaves during senescence of isolated chloroplast. *Plant. Physiol.* 55: 828-834-
- Delgado, A.A. 1985; Caracterización de la Variación de algunos componentes químicos del fruto (tuna) de nopal (Opuntia spp.) tunero en el altiplano potosino-zacatecano; Tesis Profesional; Facultad de Ciencias Químicas; Universidad Veracruzana; 141 p.
- Drury, M.I. 1991; Diabetes Mellitus; Ed. Médica Panamericana, Madrid España; pp 31-33.
- Dubois, M; K.A. Gillies; J.K. Hamilton; P.A. Roberts and F. Smith. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 28:350-356.
- Frati-Munari, A.C.; J.A. Fernández-Harp.; C.R. Ariza-Andraca.; 1983. Efecto del nopal (Opuntia sp.) sobre lípidos séricos, glucemia y peso corporal. *Arch. Inv. Med. (Mex)* 14: p 143.
- Frati-Munari, A.C.; A. Yever-Garcés.; S. Islas-Andrade.; C. Ariza-Andraca.; A. Chávez-Negrete.; 1987. Estudios sobre el mecanismo de acción "hipoglucemiante" del nopal (Opuntia sp.). *Rev. Med. IMSS* 18: 7-12.

Frati-Munari, A.C.; J.A. Fernández-Harb.; M. Bañales-Ham.;
C.R. Ariza-Andraca.; 1983. Disminución de la glucosa
e insulina sanguíneas por nopal (Opuntia sp.). Arch.
Inv. Med. (Mex) 14: 269-274.

Frati-Munari, A.C.; J.L. Quiroz-L.; P. Altamirano-B.;
M. Bañales-H.; S. Islas-A.; C. Ariza-A.; 1988. Efecto
de diferentes dosis de nopal (Opuntia streptacantha.
Lem.), en pruebas de tolerancia a la glucosa en
individuos sanos. Arch. Inv. Med. (Mex) 19: 143-148.

Gerichh, J.E. ; (1985), Sulphonylureas in the treatment of
Diabetes Mellitus; Mayo Clin. 60: 439-443.

Hernández-Valencia, R.E.; 1990. Algunas Opuntia en los
remedios medicinales de los pobladores de San Luis
Potosí México. Inst. de Inv. de Zonas Desérticas.
Universidad Autónoma de San Luis Potosí. pp. 355-358.

Ibañez-Camacho, R. ; R. Román-Ramos.; 1979. Efecto
hipoglucemiante del nopal. Arch. Inv. Med. (Mex) 10:
223

Karam, M.D.; 1992; Diabetes Mellitus Perspectives on
Therapy; Endocrinology and Metabolism Clinics of
North America; 284-288

- Mittle Thomas M.; F.J. Hills. 1976. Métodos Estadísticos para la Investigación a la Agricultura. Ed. Trillas. México D.F. 270 p
- Lowry, O.H.; N.J. Rosenbrough,; A.C. Farr,; and R. Randall. 1951. Protein Measurement with the Folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193:265-275.
- Marschner, I. et al. 1974. Group. experiments on the radioimmunological insulin determination. Hormone and Metabolic Research 6: 293-296.
- Meyer, N.B. and J.L. McLaughlin; 1981; Economic Uses of Opuntia. Cact. and Succ. J. 53: 107-112
- Organización Panamericana de la Salud; Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la OMS. Manual de Normas Técnicas y Administrativas del Programa Integrado de Diabetes mellitus. 1988. 525 Twenty-Third St., N.W. Washington, D.C. 20037, EUA.
- Ovalle - Berumen, F. (1984); Epidemiología de la diabetes; Información Sep. Vol. 6 (No.96): pp 20-22.
- Pimienta-Barrios, E.; 1990. El Nopal Tunero; Primera edición; Universidad de Guadalajara; Mexico. 246 p.

Ramírez Hernández B.C. 1993. Efecto de la Ingestión del Fruto de xoconostle (Opuntia joconostle, Web.) Sobre el nivel de la Glucemia: Tesis.

Rawn J.D. 1989; Bioquímica; Interamericana McGraw-Hill.
Primera Edición; Vol. I: 532

Somogyi, M. 1952. Notes on Sugar determination. J. Biol. Chem. 195:19-23.

Steel, R.G. y J.H. Torrie. 1986. Biostadística: principios y procedimientos. 2da. Edición. Mc Graw-Hill. México. 622 pp.

Trinder, P. 1969. Determination of Blood Glucose using 4-Aminophenzone. J. Clin. Pathol. 22, 246.

FIGURAS

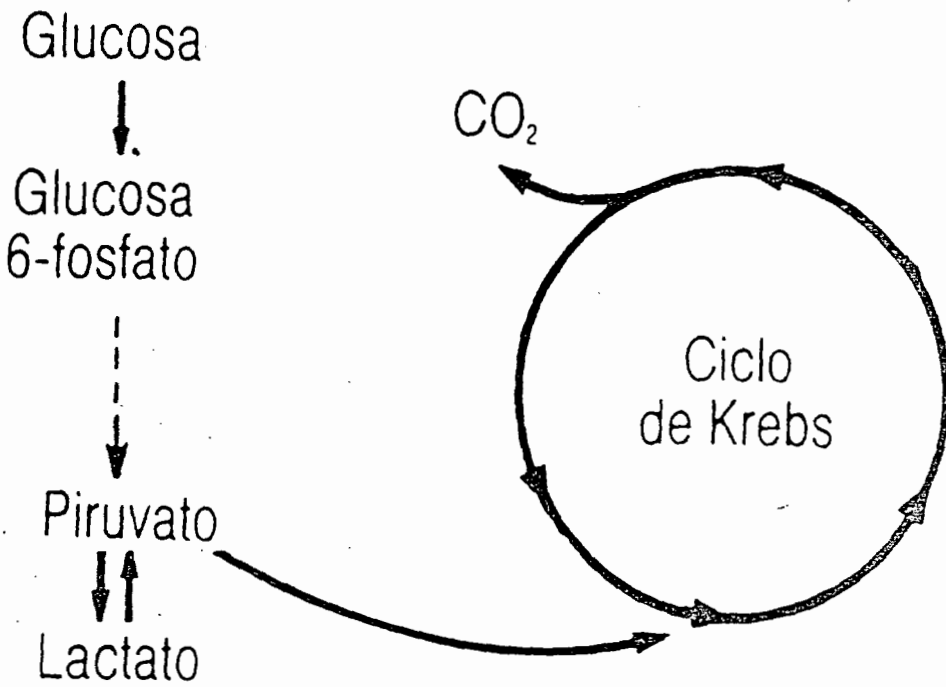


FIG. 1: LOS PRODUCTOS DE LA GLUCOLISIS SUPREN EL METABOLISMO OXIDATIVO EN EL CICLO DE KREBS.

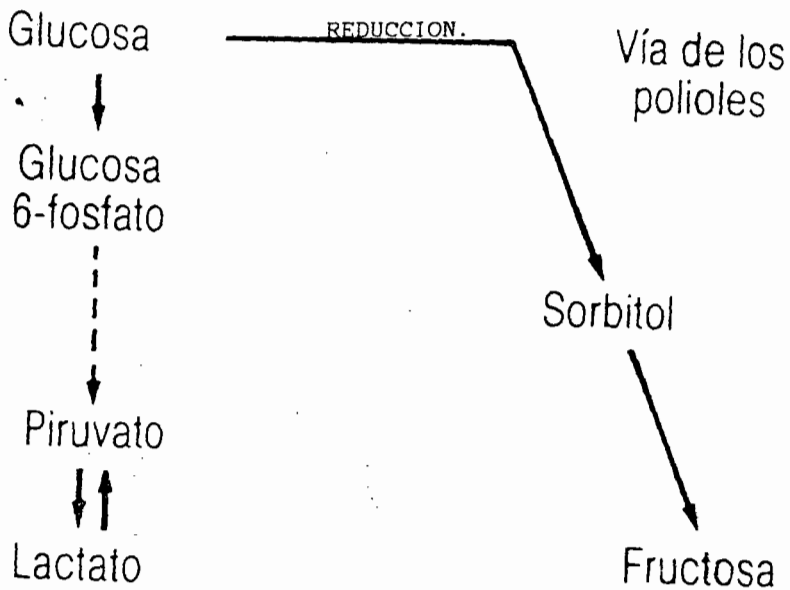


FIG. 2: RUTA DE LOS POLIOLES QUE DA ORIGEN A LA FORMACION DE SORBITOL Y DE FRUCTOSA.

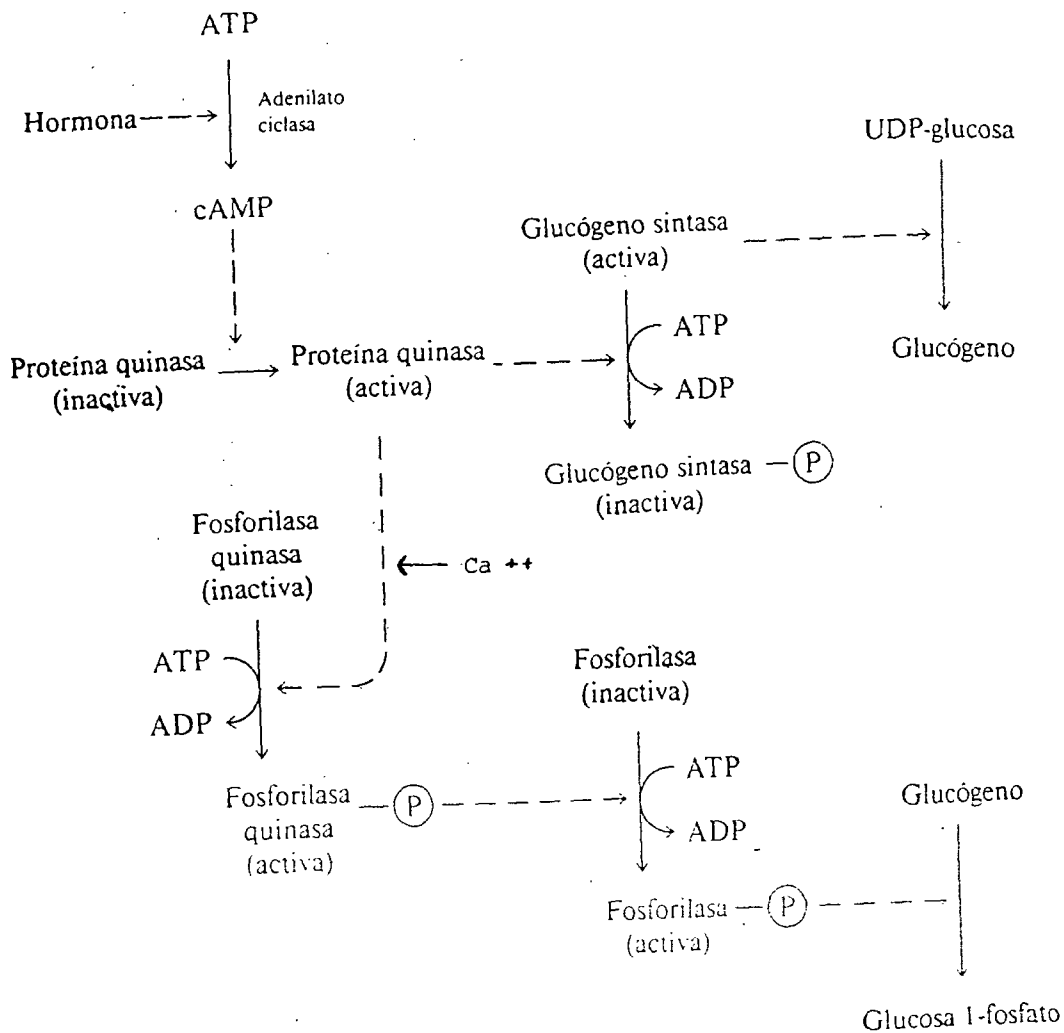
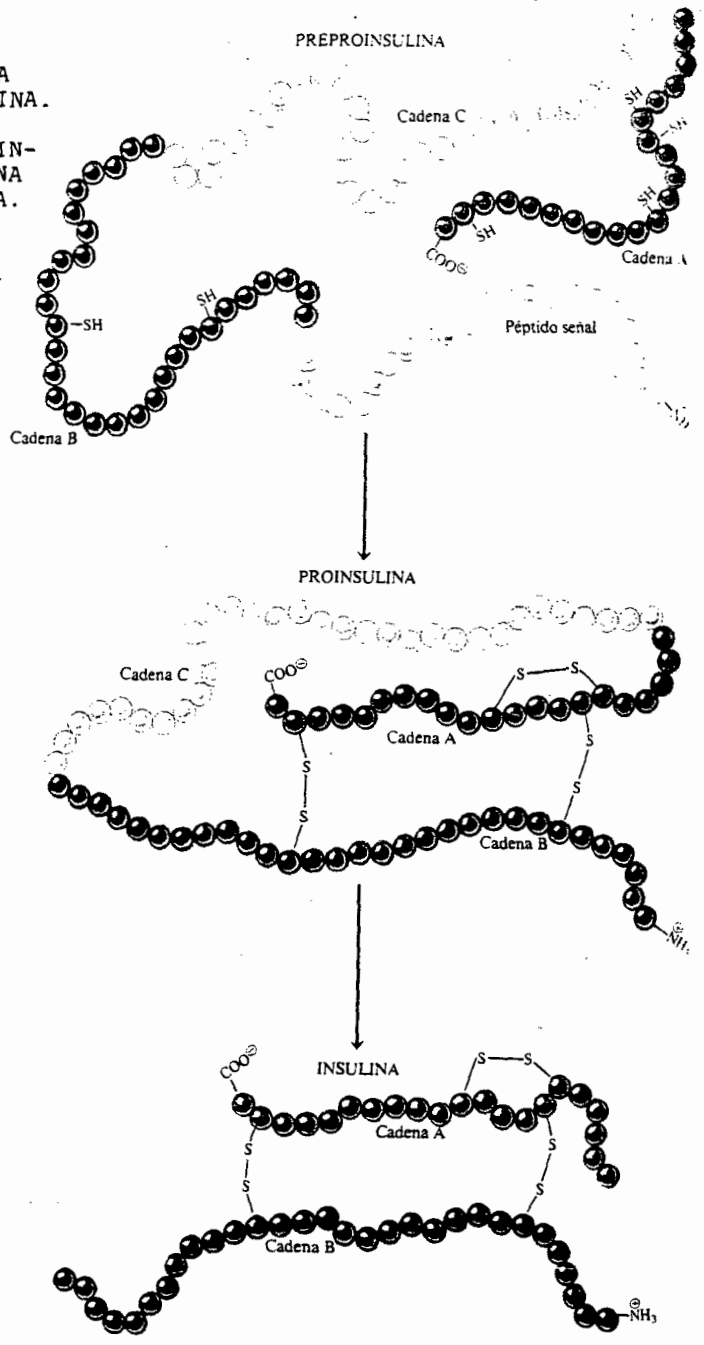


FIG. 3: CASCADA DE REACCIONES ENZIMATICAS QUE CONDUCEN A LA INHIBICION DE LA GLUCOGENO SINTASA Y A LA ACTIVACION DE LA GLUCOGENO FOSFORILASA.

FIG. 4: CONVERSION DE LA PREPROINSULINA EN INSULINA. EL PEPTIDO SEÑAL DE 24 AMINOACIDOS RESULTA ESCINDIDO DE LA PREPROINSULINA PARA GENERAR PROINSULINA. LA ESCISIÓN DE LA CADENA C CONVIERTE LA PROINSULINA EN INSULINA.



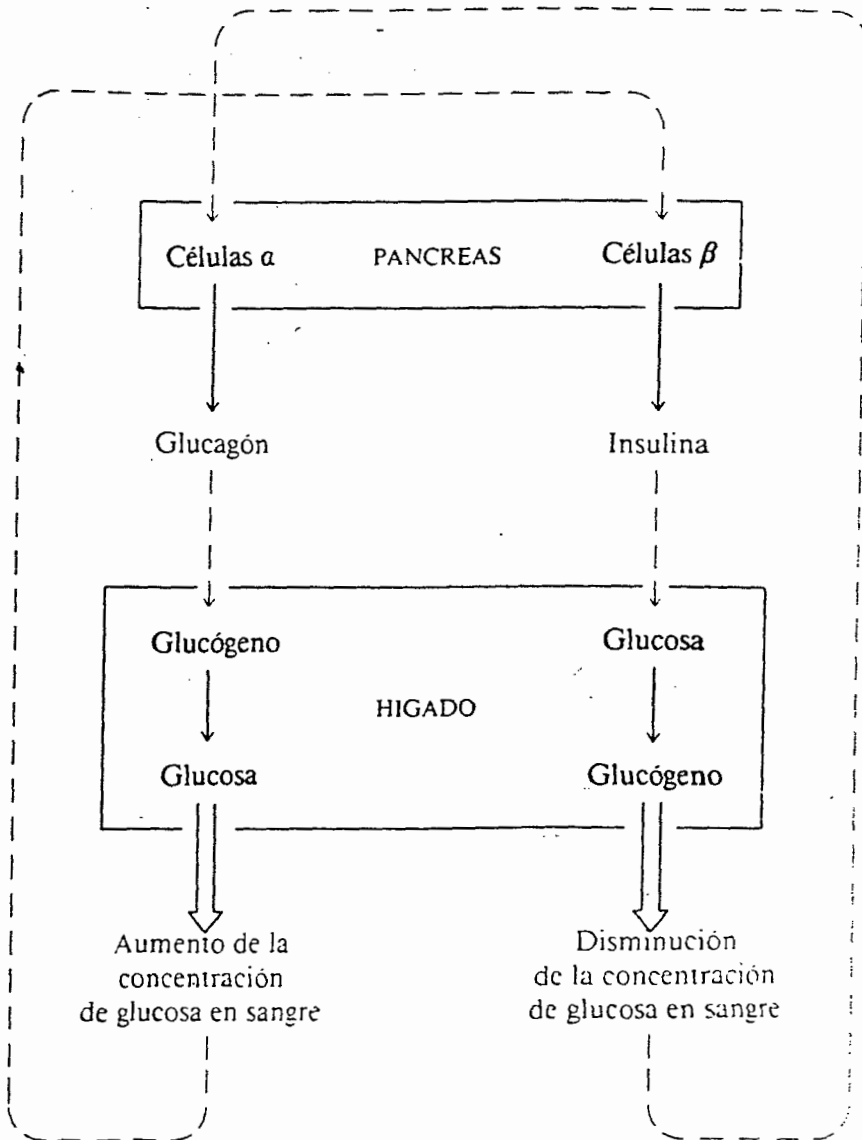


FIG. 5: EFECTOS RECÍPROCOS DEL GLUCAGON Y LA INSULINA SOBRE LA CONCENTRACION DE GLUCOSA EN SANGRE.

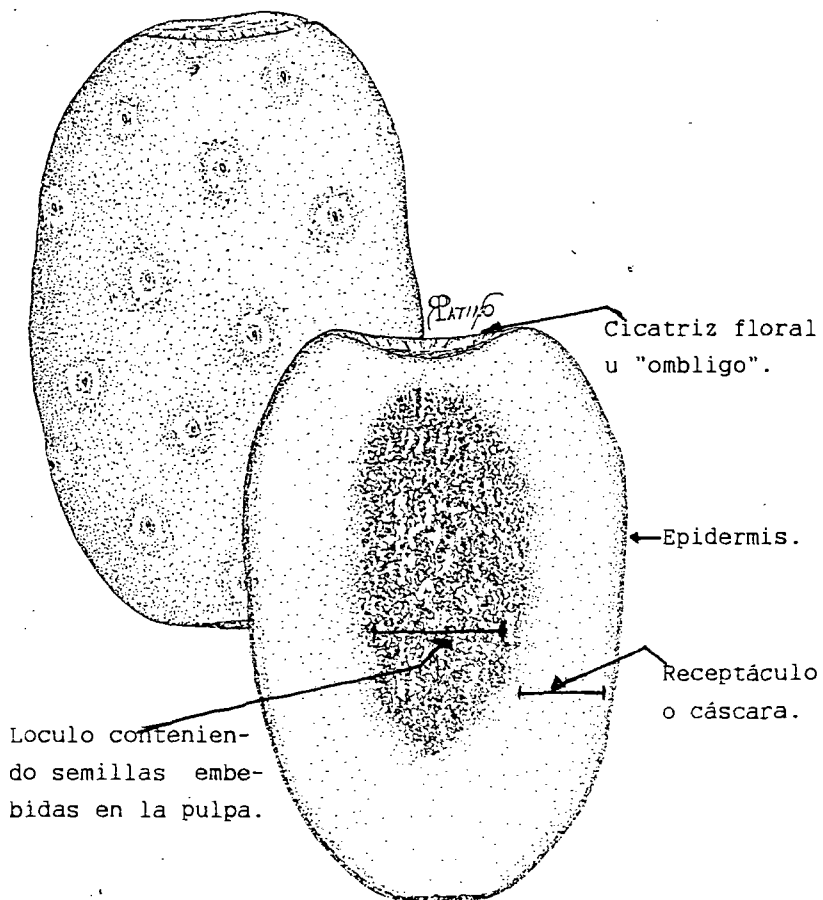


FIG.6 Corte longitudinal del fruto del xoconostle -
 (*O. joconostle*, Web.) mostrando sus principales
 componentes.

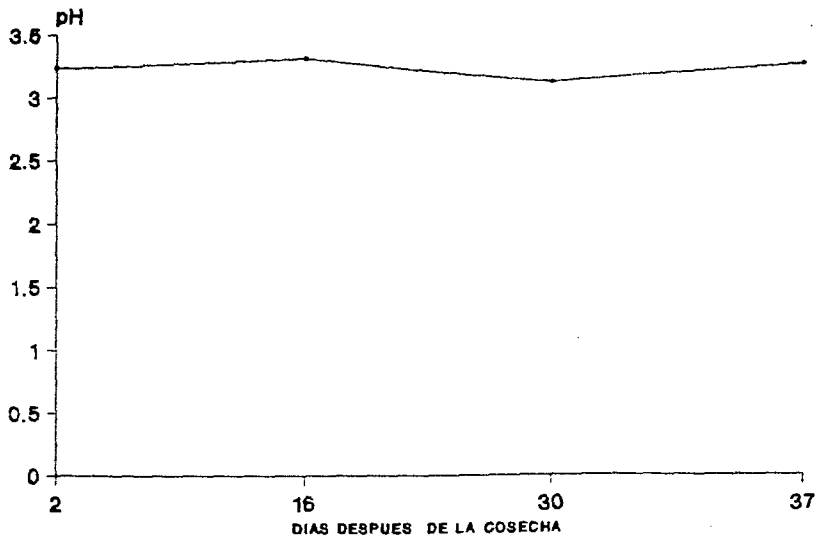


FIG. 7: VALORES DE pH A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO -- DEL FRUTO.

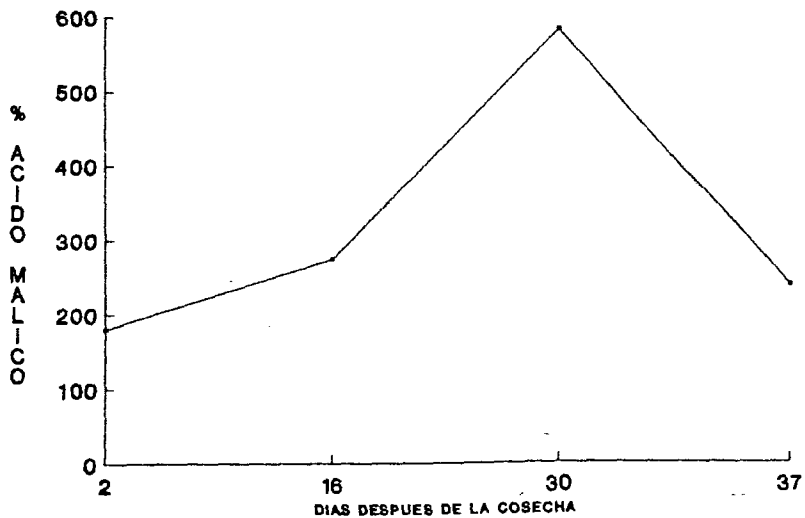


FIG. 8: PORCENTAJES DE ACIDO MALICO -- A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO DEL FRUTO.

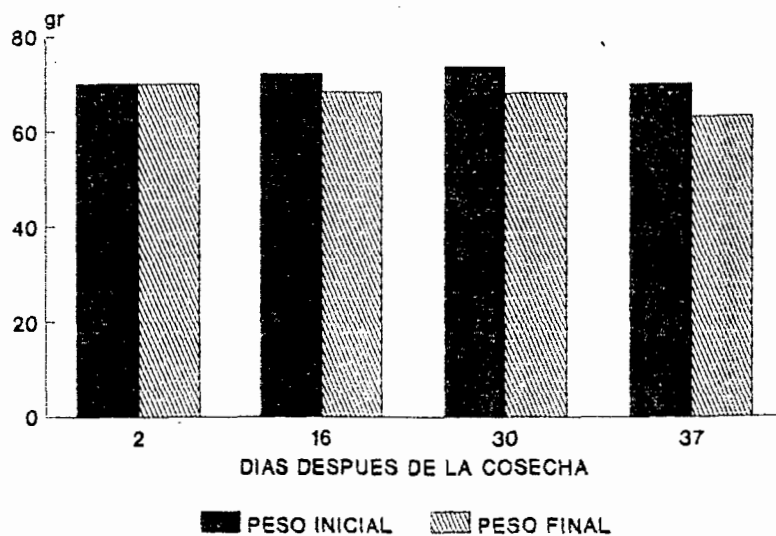


FIG. 9: VARIACION EN EL PESO FRESCO DEL FRUTO A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA

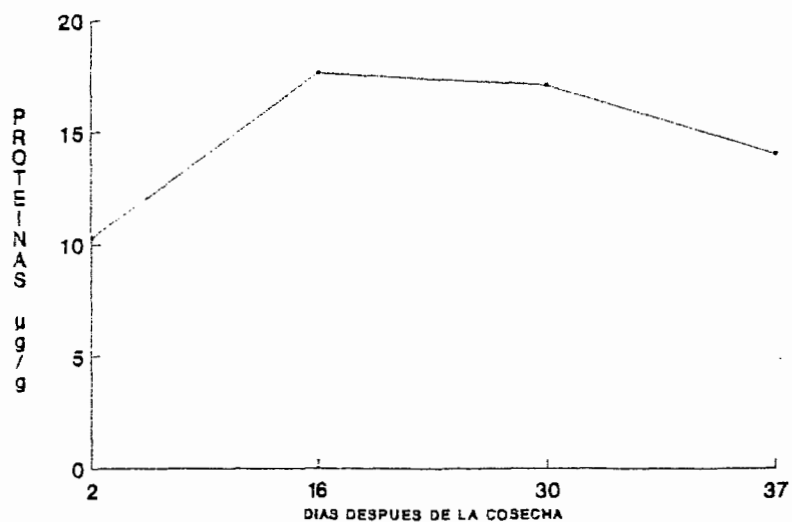


FIG.10: VARIACION EN EL CONTENIDO DE -- PROTEINAS A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA EN EL RECEPTACULO DEL FRUTO.

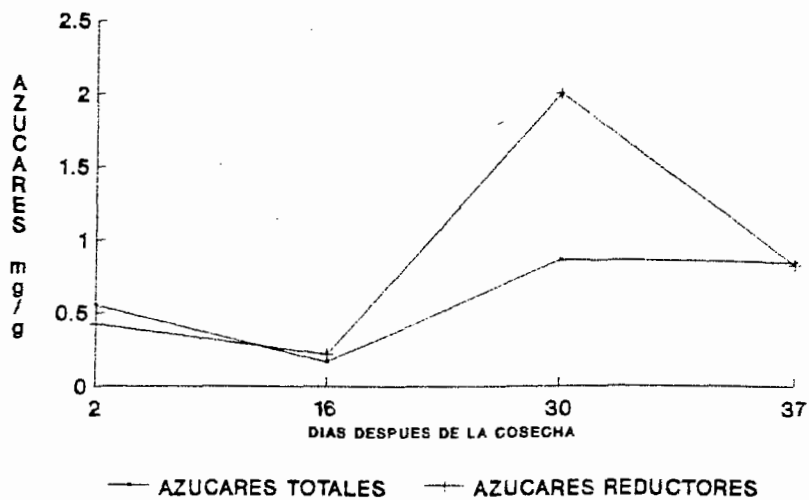


FIG.11: VARIACION EN LAS CONCENTRACIONES DE AZUCARES TOTALES Y REDUCTORES A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A GLUCOSA.
VOLUNTARIO 1

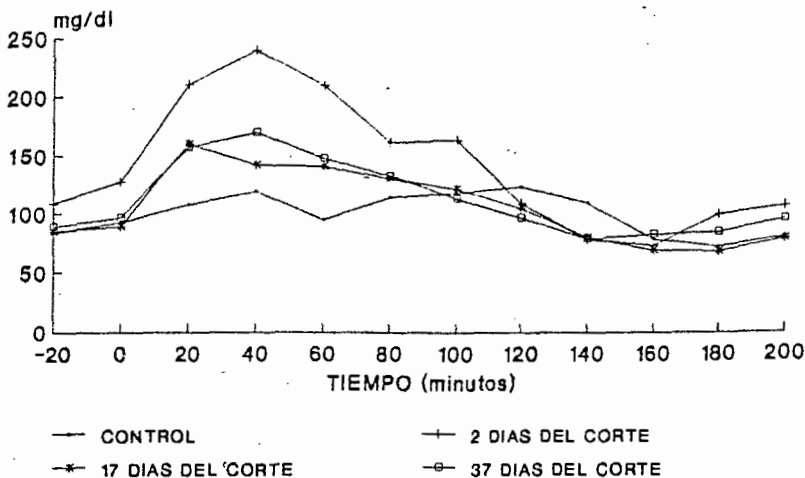


FIG. 12: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 1 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A LA GLUCOSA
VOLUNTARIO 2

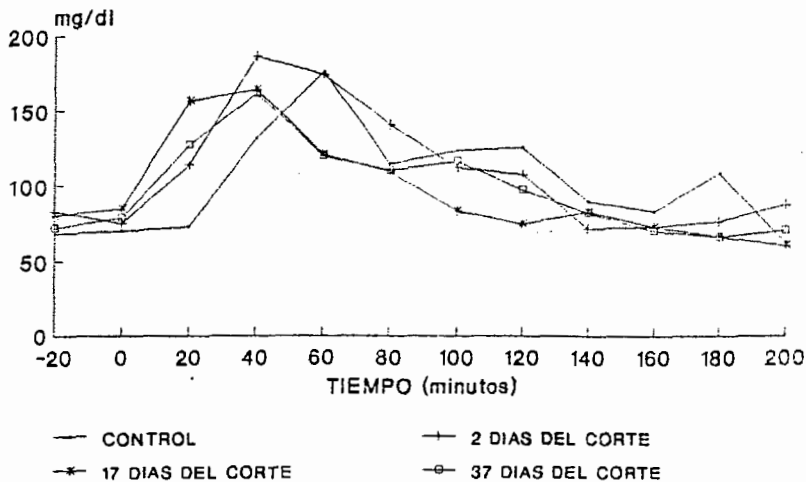


FIG. 13: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 2 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A LA GLUCOSA.
VOLUNTARIO 3

55

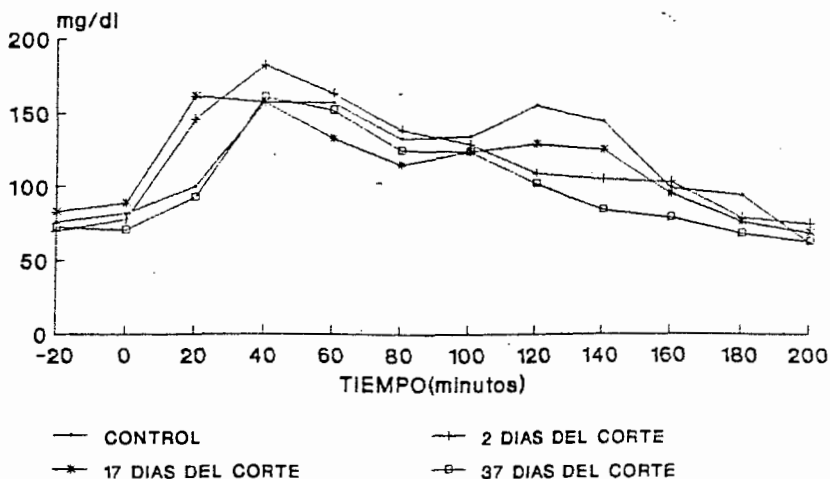


FIG. 14: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 3 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A LA GLUCOSA.
VOLUNTARIO 4

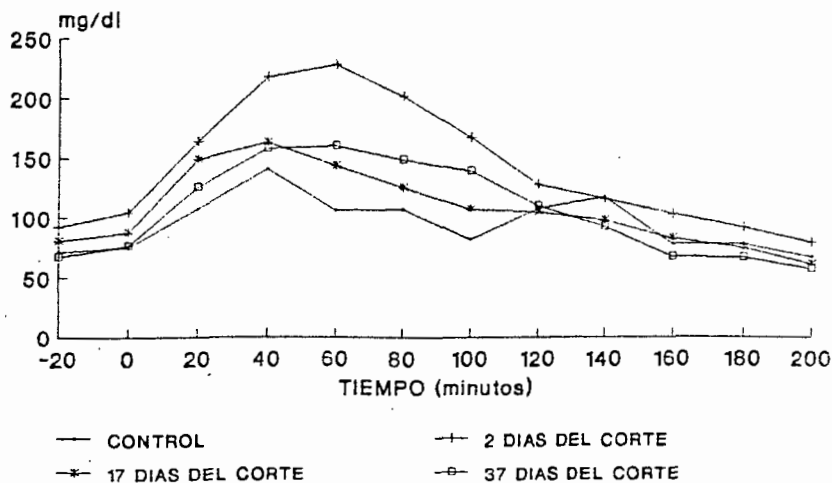


FIG. 15: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 4 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A LA GLUCOSA
VOLUNTARIO 5

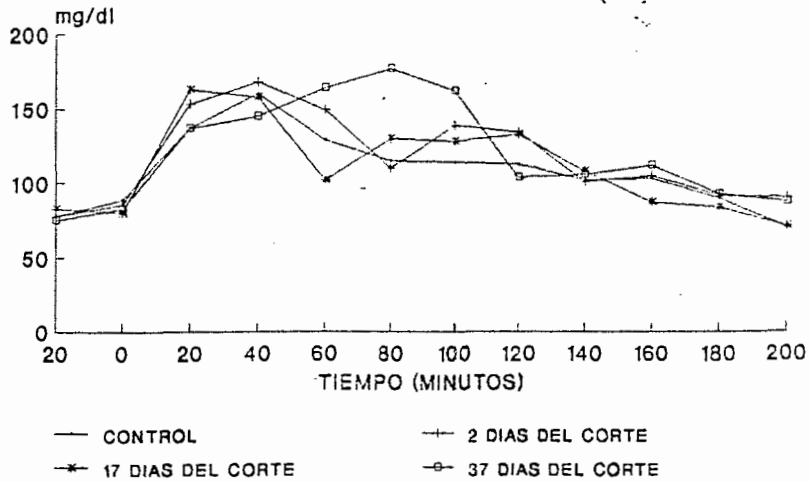


FIG. 16: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 5 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. TOLERANCIA A LA GLUCOSA
VOLUNTARIO 6

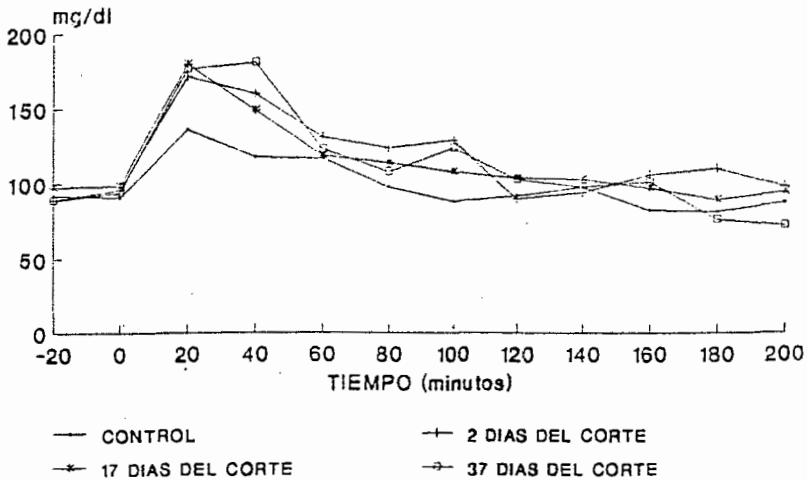


FIG. 17: CURVAS DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA EN EL VOLUNTARIO 6 A DIFERENTES ETAPAS DE ENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 1

57

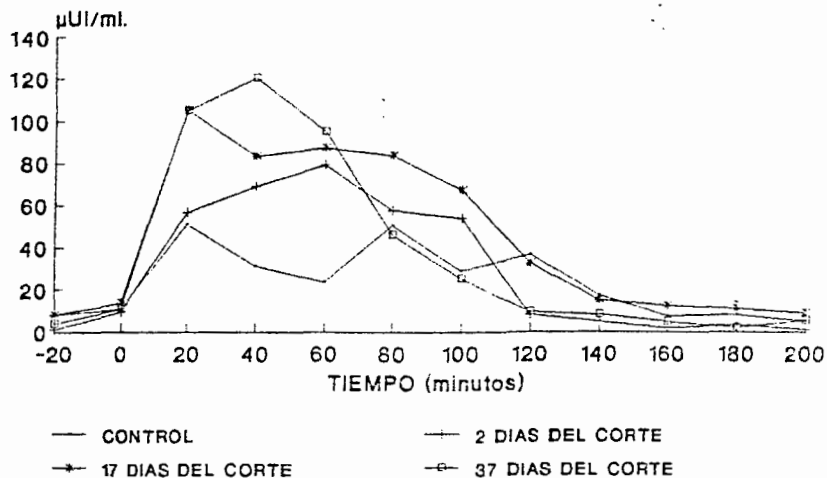


FIG. 18: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 1 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 2

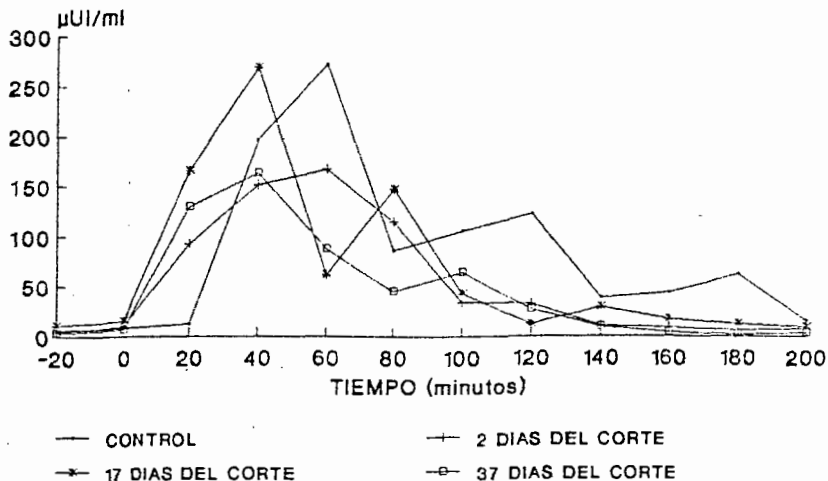


FIG. 19: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 2 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 3

58

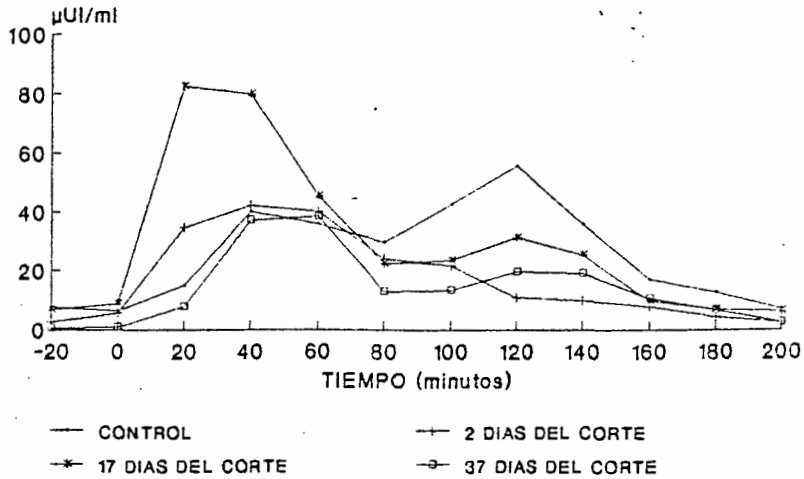


FIG. 20: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 3 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 4

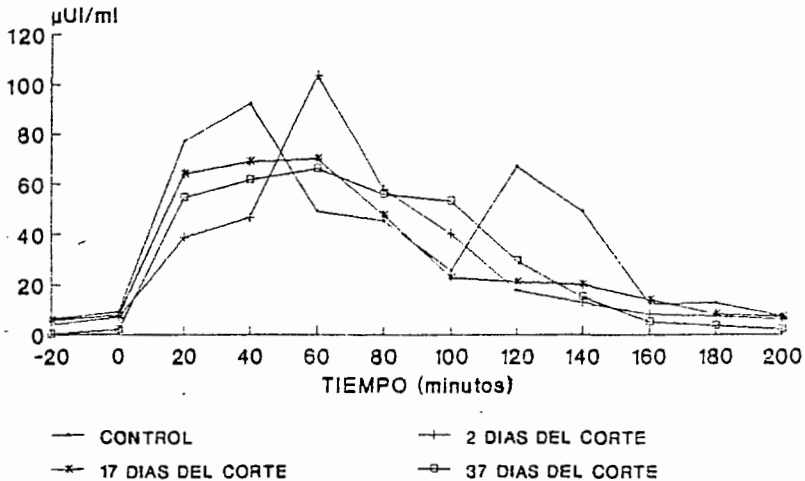


FIG. 21: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 4 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 5

59

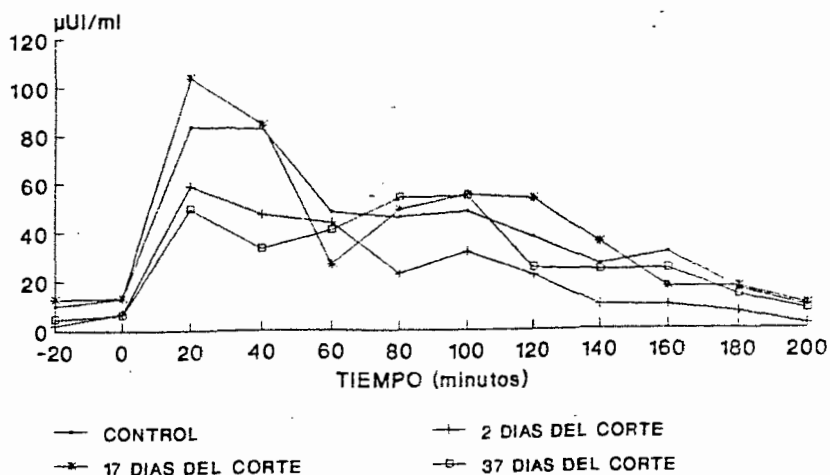


FIG. 22: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 5 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

CURVA DE INSULINA VOLUNTARIO 6

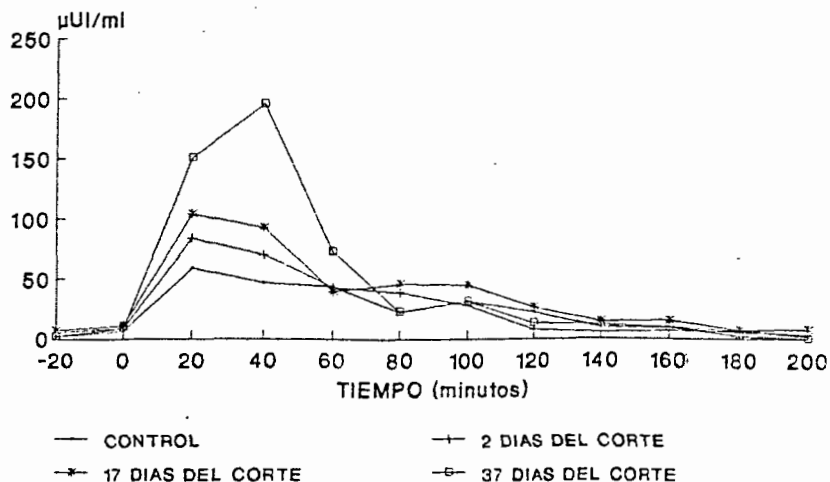


FIG. 23: CURVAS DE TOLERANCIA A LA INSULINA EN EL VOLUNTARIO 6 A DIFERENTES ETAPAS DE SENESCENCIA DEL FRUTO.

C. DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA
ETAPA CONTROL

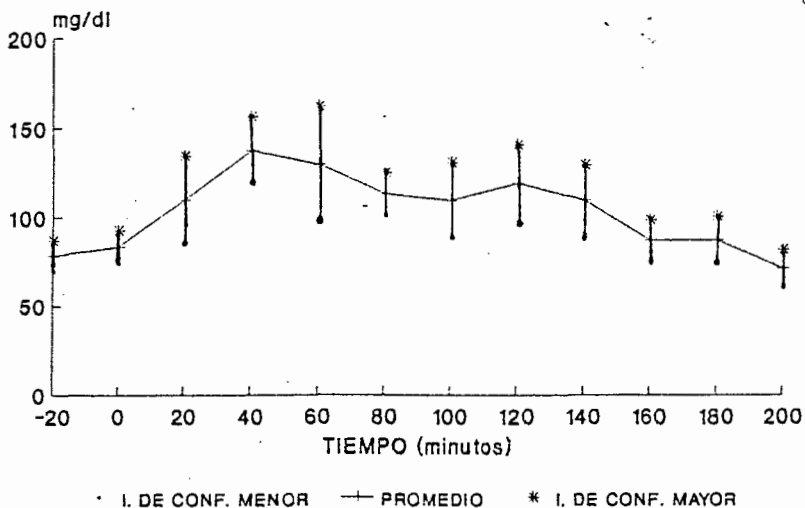


FIG. 24: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA CONTROL.

C. DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA
ETAPA B (2 DIAS DEL CORTE)

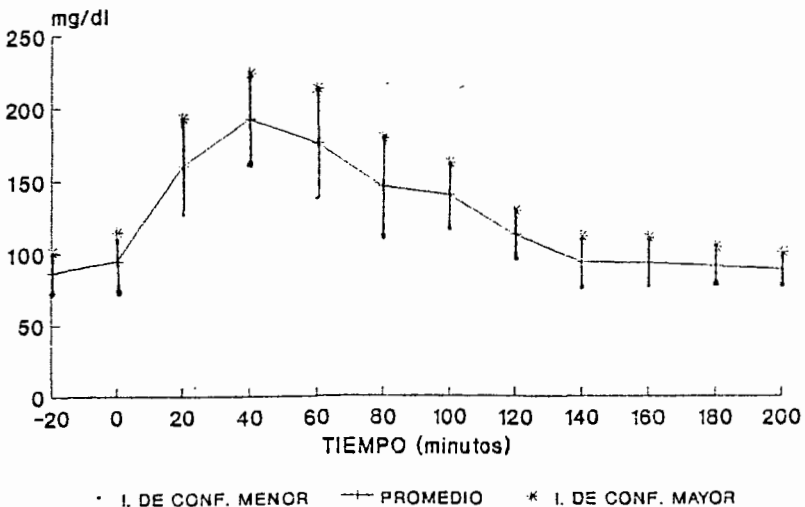


FIG. 25: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "B".

C. DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA.
ETAPA "C" (17 DIAS DEL CORTE)

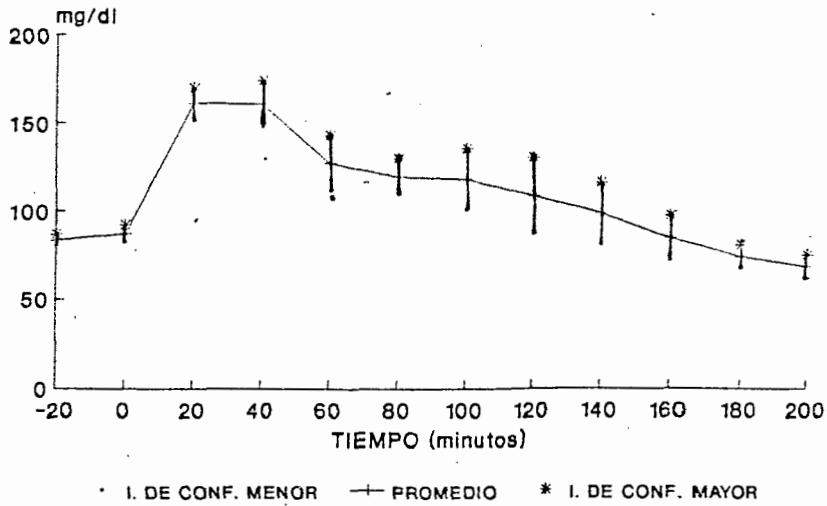


FIG. 26: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "C".

C. DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA
ETAPA "D" (37 DIAS DEL CORTE)

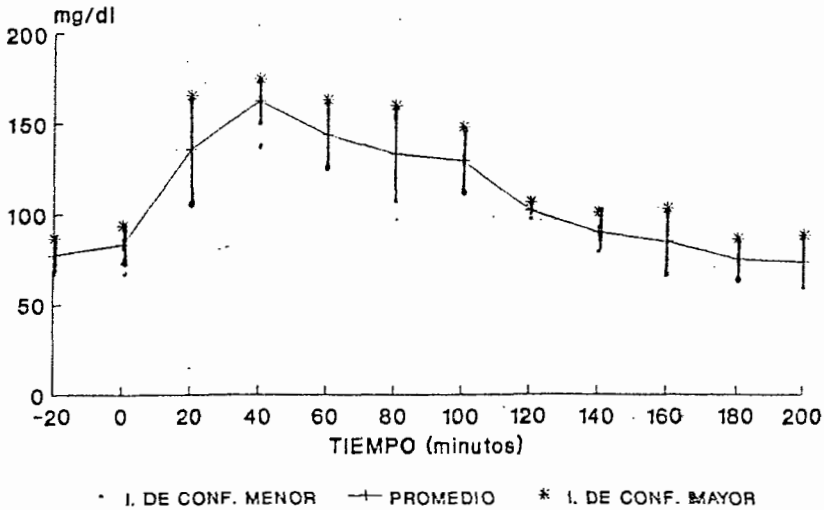


FIG. 27: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE GLUCOSA EN LA ETAPA "D".

CURVA DE INSULINA ETAPA CONTROL

62

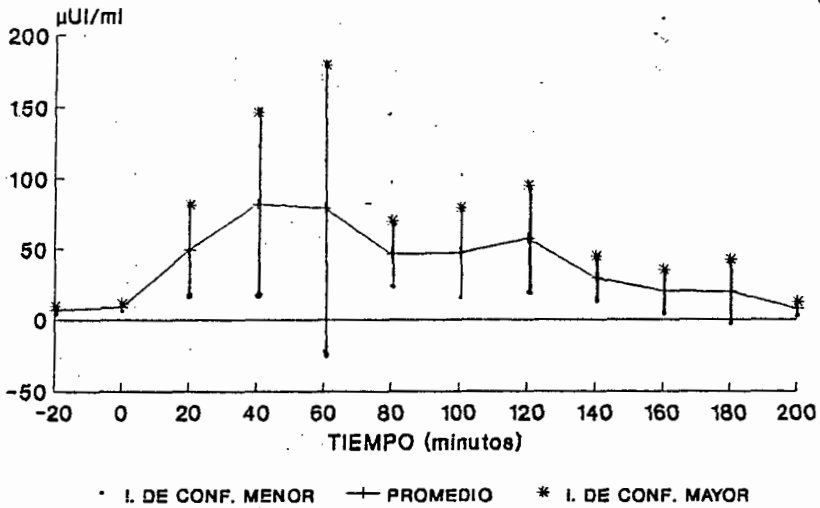


FIG. 28: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA CONTROL.

CURVA DE INSULINA ETAPA "B" (2 DIAS DE CORTE)

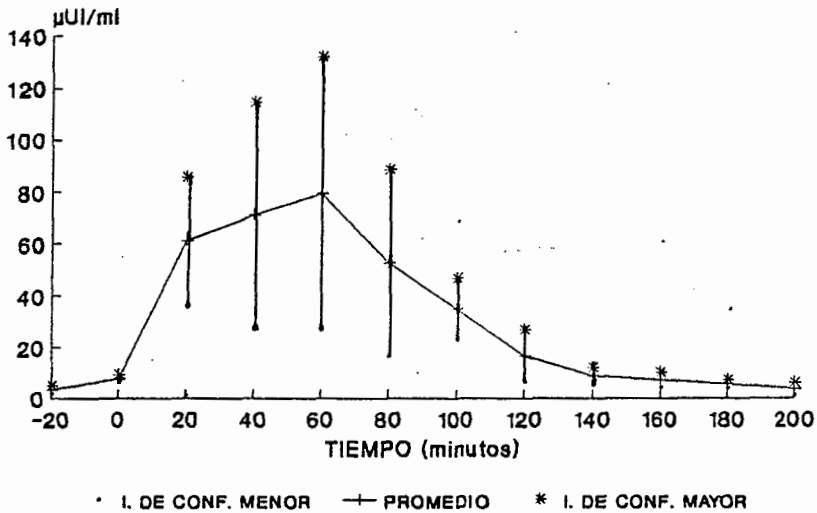


FIG. 29: INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA "B".

**CURVA DE INSULINA.
ETAPA "C" (17 DIAS DE CORTE)**

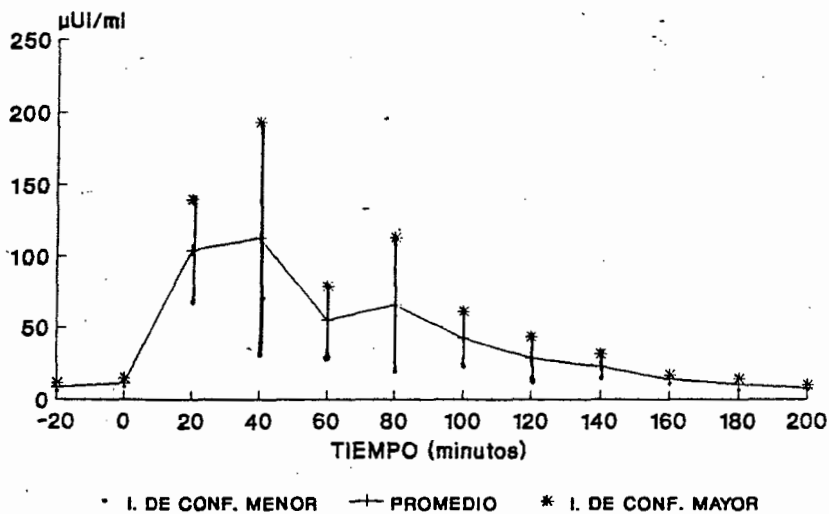


FIG. 30:INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA "C".

**CURVA DE INSULINA
ETAPA "D" (37 DIAS DE CORTE)**

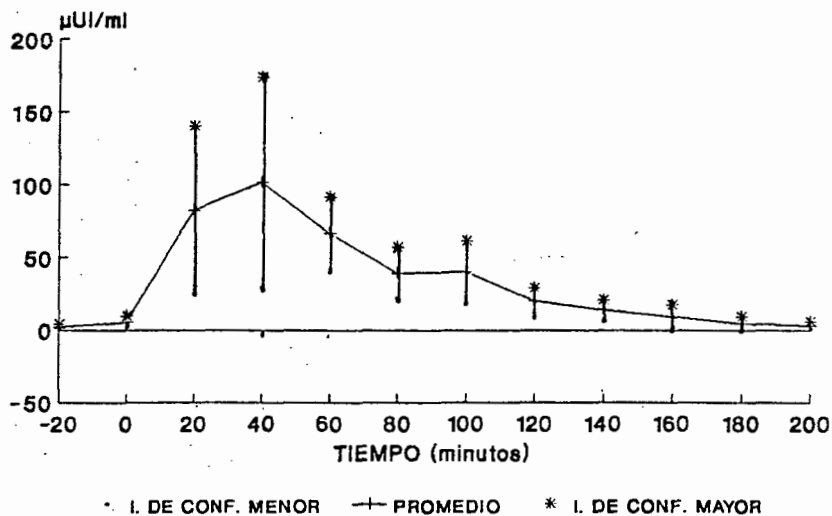


FIG. 31:INTERVALOS DE CONFIANZA DE LA CURVA DE INSULINA EN LA ETAPA "D".

PEPTIDO C
17 DIAS DE CORTE.

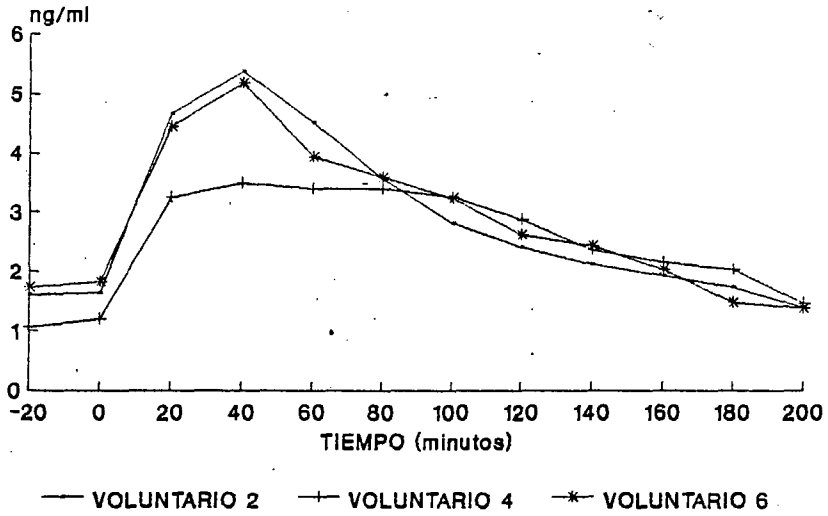


FIG. 32: DETERMINACION DE PEPTIDO C EN LA ETAPA "C".