

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



**Actividad hipoglucemiante de un extracto etanólico de las hojas de
Hamelia patens “Chichipince” en ratones de cepa NIH**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

LUIS JAVIER GÓMEZ GARCÍA

PARA OPTAR EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, SEPTIEMBRE 2013.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA
ESCUELA DE BIOLOGIA



**Actividad hipoglucemiante de un extracto etanólico de las hojas de
Hamelia patens “Chichipince” en ratones de cepa NIH**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

LUIS JAVIER GÓMEZ GARCÍA

PARA OPTAR EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

ASESOR INTERNO: _____

Lic. ROBERTO GUILLEN PAREDES

ASESOR EXTERNO: _____

Lic. MIGUEL ÁNGEL MORENO MENDOZA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, SEPTIEMBRE 2013.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA
ESCUELA DE BIOLOGIA



**Actividad hipoglucemiante de un extracto etanólico de las hojas de
Hamelia patens “Chichipince” en ratones de cepa NIH**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

LUIS JAVIER GÓMEZ GARCÍA

PARA OPTAR EL GRADO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

JURADO:

M.Sc. ANA MARTHA ZETINO CALDERON

JURADO :

M.Sc. GUILLERMO ERNESTO MARTINEZ ESPINOZA

CIUDAD UNIVERSITARIA, SAN SALVADOR, SEPTIEMBRE 2013.

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

RECTOR:

Ing. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL:

Dra. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

FISCAL

Lic. FRANCISCO CRUZ LETONA

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMATICA

M.Sc. MARTIN ENRIQUE GUERRA CÁCERES

SECRETARIO

Lic. CARLOS ANTONIO QUINTANILLA APARICIO

DIRECTOR DE LA ESCUELA DE BIOLOGIA

Lic. RODOLFO FERNANDO MENJIVAR

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso, por darme el conocimiento, las fuerzas y la entereza necesaria requerida, para finalizar mí carrera universitaria con éxito.

A mi madre: Carmelina García, por todos los esfuerzos que realizaron para poder finalizar mis estudios, por apoyarme y transmitir confianza para concluir con esta meta, estar siempre a mi lado en momentos buenos y adversos por los consejos proporcionados
Infinitas gracias.

A mis hermanas: Nora C. Gómez y Claudia M. Gómez, por su apoyo y estar siempre a mi lado.
Gracias hermanas.

LUIS J. GÓMEZ

AGRADECIMIENTOS

Primeramente a Dios todo poderoso, a mi Familia y Amigos, por estar siempre a mi lado y brindarme todo su apoyo y cariño.

A mis asesores y jurados, por todos sus aportes en caminos a mejorar la presentación de este documento. Especialmente a Lic. Miguel A. Moreno por brindarme la oportunidad, su conocimiento, experiencia, paciencia y tiempo, para poder realizar mi trabajo de graduación. Al Lic. José Guillermo Mejía por haberme brindarme su amistad y haberme acompañado a lo largo de esta investigación.

LUIS J. GÓMEZ

INDICE

| | |
|--|-----------|
| I. INTRODUCCION | 1 |
| II. FUNDAMENTO TEORICO | 3 |
| 2.1. Diabetes Mellitus | 3 |
| 2.2. Diabetes Tipo 1 | 4 |
| 2.2.1. Factores de riesgo..... | 5 |
| 2.2.2. Cuadro clínico..... | 5 |
| 2.3. Diabetes Tipo 2 | 6 |
| 2.3.1. Factores de riesgo..... | 7 |
| 2.3.2. Cuadro Clínico..... | 7 |
| 2.4. Hiperglucemia | 8 |
| 2.5. Hipoglucemia | 8 |
| 2.6. Glibenclamida | 9 |
| 2.7. Mecanismo de acción..... | 9 |
| 2.8. Diabetes inducida..... | 10 |
| 2.9. Inducción Química..... | 11 |
| 2.10. Estreptozotocina (STZ)..... | 11 |
| 2.11. <i>Hamellia patens</i> | 12 |
| 2.11.1. Descripción botánica:..... | 12 |
| 2.11.2. Origen y distribución:..... | 13 |
| III. METODOLOGIA..... | 15 |
| 3.1. Tipo de Estudio | 15 |
| 3.2. Sustancias de ensayo | 15 |
| 3.2.1. Dosis..... | 15 |
| 3.3. Actividad Biológica | 16 |
| 3.3.1. Animales..... | 16 |
| 3.4. Ensayos preliminares | 16 |
| 3.5. Determinación de la glucemia..... | 17 |
| 3.6. Glucemia Basal | 17 |

| | |
|---|-----------|
| 3.7.Efecto inmediato sobre la glucemia..... | 18 |
| 3.8.Efecto ante una sobrecarga de glucosa..... | 19 |
| 3.9.Efecto durante el desarrollo de la hiperglucemia inducida por bajas dosis repetidas de Estreptozotocina (diabetes tipo 2)..... | 19 |
| 3.10. Tratamiento Estadístico | 20 |
| IV. RESULTADOS..... | 21 |
| 4.1.Observaciones clínicas | 21 |
| 4.2.Efecto Inmediato del extracto sobre la glucemia en ratones sanos. | 22 |
| 4.3.Efecto ante una sobrecarga de glucosa..... | 23 |
| 4.4.Efecto durante el desarrollo de la hiperglucemia inducida por bajas dosis repetidas de Estreptozotocina..... | 24 |
| V. DISCUSION | 27 |
| VI. CONCLUSIONES..... | 31 |
| VII. RECOMENDACIONES..... | 32 |
| VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA | 33 |
| ANEXOS..... | 38 |

INDICE TABLAS

| | |
|--|-----------|
| TABLA 1. Efecto inmediato del extracto de <i>h. Patens</i> sobre la glucosa en ratones normogluemicos. | 22 |
| TABLA 2. Valores de glucosa ante un exceso de azúcar en ratones sanos..... | 23 |
| TABLA 3. Valores de glucosa en ratones diabéticos | 24 |

INDICE FIGURAS

| | |
|--|-----------|
| FIGURA 1. Arbusto de <i>hamelia patens</i> “ <i>chichipince</i> ” flores y frutos. | 13 |
| FIGURA 2. Determinación de los niveles de azúcar en sangre a través de glucómetro a). Glucómetro comercial prodigy b) obtención de muestras sanguíneas por medio del corte apical de la cola en ratones. | 17 |
| FIGURA 3. Procedimiento para el periodo de ayuno a y b. Colocación de la rejilla metálica dentro de las respectivas jaulas sobre la burucha o viruta de madera. | 18 |
| FIGURA 4. vía de administración de las respectivas sustancias por medio del método de canulación..... | 18 |
| FIGURA 5. Administración de estreptozotocina vía intraperitoneal para inducción a diabetes..... | 19 |
| FIGURA 6. Principales variaciones clínicas en ratones inducidos con stz. A) apariencia del pelaje sucio, presencia de pilo erección b) algunos individuos desarrollaron sobrepeso y cambios en la locomoción c) ratón sano no presenta signos de toxicidad o signos clínicos desfavorables d) desarrollo de poliuria. <i>D1</i> se aprecia parte del sustrato de madera seco <i>d2</i> . Muestra el sustrato humedecido debido al aumento de la micción. | 21 |
| FIGURA 7. Medias de glucosa al finalizar el experimento luego de 28 días de tratamiento con extracto etanólico de <i>h. Patens</i> . Stz= inducción a diabetes (animales enfermos) h2od= grupo tratado únicamente con agua destilada. Gli= glibenclamida. Hp= extracto etanólico de <i>h. Patens</i> . A: diferente a no diabéticos b: diferente a stz + h2o c: diferente a stz + gli. Cuando el valor era menor a 0.05 (95% en el intervalo de confianza.). | 26 |

INDICE ANEXOS

| | |
|--|-----------|
| ANEXO 1. Fuente: procedimiento normalizado de trabajo. Proc-nt-018. 2010. Efecto hipoglucemiante laboratorio de experimentación animal censalud. | 39 |
| ANEXO 2. Fuente: procedimiento normalizado de trabajo. Proc-nt-018. 2010. Efecto hipoglucemiante laboratorio de experimentación animal censalud | 40 |
| ANEXO 3. Fuente: procedimiento normalizado de trabajo. Proc-nt-018. 2010. Efecto hipoglucemiante laboratorio de experimentación animal censalud | 41 |
| ANEXO 4. Compendio de actividad biológica de <i>hamelia patens</i> . Fuente raintree nutrition 2004. | 42 |
| ANEXO 5. Compendio de actividad biológica de los componestes de <i>hamelia patens</i> . Fuente raintree nutrition 2004. | 44 |

RESUMEN

La presente investigación se realizó con el objetivo de determinar el efecto hipoglucemiante de un extracto etanólico de las hojas de *Hamelia patens* (chichipince) a tres diferentes concentraciones, las cuales fueron 100mg/kg, 250mg/kg y 500mg/kg de peso corporal. Para ello se emplearon modelos experimentales utilizándose ratones hembra albinos suizos NIH a los que se evaluaron en tres diferentes situaciones fisiológicas: a) normoglucémicos (sanos), b) Ante una sobre carga de glucosa (normoglucémicos), c) inducidos a diabetes mediante una serie de dosis bajas de Estreptozotocina (STZ).

La determinación de los niveles de glucosa se realizó por medio de tiras reactivas, previo a un periodo de ayuno, extrayendo una muestra homogénea de sangre de cada animal experimental. Se encontró que el extracto etanólico de las hojas secas de *Hamelia patens* no presento ningún tipo de toxicidad en los sujetos experimentales durante su periodo de prueba. En cuanto a la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico evaluado de *Hamilia patens*, no resulto efectivo para reducir los niveles de glucosa en sangre y por lo tanto no representa una alternativa para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

I. INTRODUCCION

La diabetes es una enfermedad crónica metabólica caracterizada por hiperglucemia y alteraciones de carbohidratos, grasas y proteínas. Se asocia a una absoluta o deficiencia relativa en la secreción y/o acción de la hormona insulina. A nivel mundial afecta aproximadamente 200 millones de personas, una prevalencia que se ha previsto aumentara a 366 millones para el 2030 (Kalofoutis *et.al.* 2006).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), considera a esta enfermedad un problema de salud pública, alcanzando proporciones de pandemia mundial. Según los expertos, la diabetes junto a la depresión ocuparían los primeros lugares de mortandad en el presente siglo. Entre los principales factores de riesgo de padecimiento de esta enfermedad se encuentran la obesidad, el sedentarismo y un historial familiar con antecedentes de diabetes, hechos que amplía el ámbito de personas susceptibles de padecer esta enfermedad, por lo que la mayoría de la población esta propensa en alguna etapa de la vida de sufrir de este padecimiento (Banderas 2006).

Numerosos estudios han demostrado que la diabetes mellitus se encuentra asociada al incremento de la formación de radicales libres derivados del oxígeno y a la disminución del potencial antioxidante del organismo, generando el daño oxidativo de la célula β del tejido pancreático. A esto se suma que los tratamientos convencionales representan un alto costo económico y que en muchos casos tienden a presentar efectos secundarios. (Madaleno 2007)

Por otra parte el estudio de la herbolaria medicinal o medicina natural ha proporcionado formas alternativas de mitigar malestares y resolver problemas de salud. En la actualidad, la medicina natural ha contribuido notablemente al avance de modernas terapias, esto a pesar de que la química industrial sostiene un sólido soporte farmacológico internacional. Existe una gran variedad de especies vegetales con alto potencial curativo debido a sus diferentes metabolitos secundarios y en el que gran parte de los tratamientos tradicionales implica el uso de extractos de plantas o sus principios activos, demostrando la importancia del recurso invaluable que

representan las plantas de uso medicinal, así como el conocimiento y desarrollo de sus propiedades terapéuticas (Ortiz 2011).

En este sentido, *Hamelia patens* “chichipince”, una especie utilizada en la medicina tradicional latinoamericana y a la que se le asocian propiedades antimicrobianas, analgésicas, antidepresivas, inmunoestimulantes, cicatrizantes, antitumorales y antiinflamatorias (Raintree Nutrition. 2004), considerada como un valioso recurso natural, muy eficaz para la prevención y el tratamiento de enfermedades vinculadas con la biología de las infecciones y los procesos inmunológicos de mama, (Paredes s.a) por lo que ha sido considerada entre las especies de mayor uso medicinal en El Salvador (Merino 1998).

H. patens es venerada y plantada como un decorativo casi a nivel mundial en áreas tibias y húmedas; su fruto es considerado como comestible (Little *et. al.* 1974). Es una especie vegetal utilizada en la medicina natural para tratar el pie de atleta, lesiones de piel y erupción, las mordeduras de insectos, el golpe nervioso, la inflamación, el reumatismo, el dolor de cabeza, el asma y la disentería (Raintree Nutrition. 2001, Mast Arboretum. 2001 y Liogier, 1990).

Hamelia patens, debe sus propiedades medicinales a algunos grupos de sustancias de diversa composición química entre los que se encuentran: alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides (Rios y Aguilar 2006, Bouic y Lamprecht 1999, Reyes-Chilpa *et. al.* 2004), cuya acción farmacológica sobre el organismo humano y animal le confieren su valor medicinal (Hsu *et. al.* 1997, Ovesná y Slamenová 2006).

En consideración de lo anterior y tomando en cuenta que esta especie vegetal es ampliamente utilizada como tratamiento de la diabetes en nuestro país (Gonzales 1994), la presente investigación se desarrolló con objetivo de validar este uso tradicional por medio de pruebas utilizando ratones de laboratorio como modelos biológicos para determinar el posible efecto hipoglucemiante de un extracto etanólico de las hojas de *H. patens*.

II. FUNDAMENTO TEORICO

2.1. Diabetes Mellitus

El termino Diabetes Mellitus viene de palabras griegas y latinas. Diabetes significa “pasar por un sifón” o “pasar a través” en griego una de las primeras señales de la diabetes es orinar demasiado. Por su parte el término Mellitus deriva de una palabra latina que significa “dulce como la miel”. La orina de una persona con diabetes contiene demasiada azúcar o glucosa. La Diabetes Mellitus es una enfermedad donde la sangre contiene demasiada glucosa o azúcar. Los egipcios describieron la diabetes hace 4,000 años atrás, y un médico griego le dio nombre al trastorno unos 2,000 años después. Todavía nadie sabía cómo controlar esta condición devastadora, hasta que Frederick G. Banting tuvo una idea que lo llevó a descubrir la insulina en 1921 (Banderas 2006).

La clasificación clásica de la Diabetes incluye dos grandes tipos: Diabetes Mellitus insulino dependientes y Diabetes Mellitus no insulino dependientes. Sin embargo, actualmente se han acumulado nuevos conocimientos en los que se han identificado defectos a nivel de células, tejidos o funciones que están relacionados con la expresión de la enfermedad. Esto ha dado lugar a la aparición de nuevas propuestas para clasificar la Diabetes Mellitus. Recientemente, el Comité de Expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) han propuesto una nueva clasificación que contempla 4 grupos: Diabetes Mellitus tipo 1 ó Insulino dependientes, Diabetes Mellitus tipo 2 ó Insulino no dependientes, Diabetes Mellitus gestacional, y otro tipos específicos de diabetes (ADA 1997).

Este es un trastorno metabólico caracterizado principalmente por hiperglicemia. En la que varios procesos patogénicos están involucrados en su desarrollo, los que van desde la destrucción autoinmune de las células β en el páncreas, con la consecuente deficiencia en la insulina, hasta las anomalías resultantes en la resistencia a la acción de la insulina. El estrés oxidativo se produce

cuando se rompe el balance entre las sustancias pro y antioxidantes presentes en los organismos, favoreciéndose la producción y permanencia de las especies de oxígeno reactivas (EORs), debido a un incremento de su formación o a una deficiencia del sistema de defensa antioxidante, lo que conlleva a que se acumulen y se manifieste en diversos estados fisiopatológicos. (Mora *et. al.* 2009)

2.2. Diabetes Tipo 1

La Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1) anteriormente conocida como Diabetes insulino dependiente o juvenil es una enfermedad multisistémica y metabólica de comienzo abrupto, caracterizada por una importante deficiencia de insulina como resultado de la destrucción de las células pancreáticas beta (β) productoras de insulina (Strayer & Schub 2009).

Las células del cuerpo requieren de energía para su óptimo funcionamiento, estas utilizan la glucosa o el azúcar para producir energía. Al consumir carbohidratos, el estómago y el aparato digestivo los transforman en glucosa o azúcar, y esta es absorbida dentro de la sangre. Las células flotan en la glucosa y no la pueden utilizar para producir energía. La glucosa necesita entrar en la célula para ser utilizada como energía. El páncreas tiene células especiales que se llaman células beta, que forman grupos llamados los islotes de Langerhans. (Schopbach 2007).

Las células beta o células de los islotes de Langerhans, saben cuánta glucosa está flotando en la sangre, y entonces secretan o producen la hormona insulina que actúa como mediador por medio del cual la glucosa entra a la célula. La diabetes de Tipo 1 es un proceso autoinmune, esto significa que los glóbulos blancos del sistema inmunológico, que protegen al cuerpo contra gérmenes, destruyen las células beta o células de los islotes de Langerhans. El hambre en exceso o polifagia es a menudo la primera señal o síntoma de diabetes, y puede deberse a diferentes anormalidades o desequilibrios metabólicos (Schopbach 2007).

Cuando la glucosa aumenta en la sangre, esta se vuelve más espesa al ser más espesa tiene problema para pasar a través de los pequeños vasos sanguíneos llamados capilares. Los riñones tienen vasos capilares especiales que ayudan a filtrar

la sangre y hacen la orina, la sangre muy espesa tiene dificultad para pasar por estos capilares causando mucha sed o polidipsia a la persona, por lo que el tomar líquidos ayuda a que la sangre sea menos espesa, y así el riñón puede filtrarla. Cuando hay mucha azúcar en la sangre, el riñón tiene que eliminar más agua del cuerpo para deshacerse del azúcar en la orina a esta acción se le denomina poliuria u orina en exceso; la glucosa no pasa a las células, entonces las células usan la grasa, la cual es la fuente de energía almacenada en el cuerpo. (Schopbach 2007).

A medida que las células utilizan la grasa como combustible, se agregan cuerpos cetónicos a la sangre, los cuerpos cetónicos son un ácido o un veneno, y pueden llegar a acumularse a niveles peligrosos, estos cuerpos cetónicos hacen que la persona se sienta mal del estómago, vomite, consintomas de cansancio o tenga problemas para respirar, la persona pierde peso dado que las células están quemando grasa para producir energía (Schopbach 2007).

2.2.1. Factores de riesgo

Los factores de riesgo incluyen algunas infecciones y valoraciones virales, incluida las paperas y rubeola congénita, mientras que el coxsackievirus, o virus de Coxsackie, perteneciente a la familia de virus Picornaviridae aparentemente desencadenan una respuesta autoinmune que provoca la destrucción de células pancreáticas beta. En el periodo de lactancia parece una protección contra la Diabetes Mellitus tipo 1, mientras que una dieta alta en productos lácteos puede aumentar el riesgo de desarrollo de la condición (Strayer & Schub 2009).

2.2.2. Cuadro clínico

Si bien el proceso de la enfermedad precede a los síntomas en varios años, el cuadro clínico generalmente incluye polidipsia repentina (aumento de la sed), poliuria (incremento de la micción), pérdida de peso injustificada, deshidratación y fatiga. Otros síntomas incluyen cambios repentinos en la visión, polifagia (apetito en demasía), hormigueo o entumecimiento de las manos o los pies, piel seca, infecciones recurrentes y cicatrización lenta de heridas. Los síntomas pueden incluir

dolor abdominal, náuseas, vómitos, hiperventilación, aliento frutal y un nivel alterado de consciencia (Strayer & Schub 2009).

2.3. Diabetes Tipo 2

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) denominada anteriormente diabetes no insulino dependiente y diabetes del adulto es la forma más común de diabetes y generalmente es diagnosticada en adultos. Los tratamientos médicos no incluyen la cura, sin embargo existen tratamientos para controlar los niveles de glucosa en la sangre los cuales resultan poco accesibles por su alto costo, es por ello que la población inicia un tratamiento con plantas o hierbas medicinales.

Este es un síndrome metabólico, multiorgánico, crónico de inicio gradual caracterizado por una respuesta insuficiente del tejido corporal a la insulina (resistencia a la insulina) y por una producción pancreática deficiente de insulina. El cuerpo produce la insulina pero las células son resistentes a la insulina (Schopbach, 2007, Strayer & Schub 2009).

Es habitualmente detectada de forma incidental durante exploraciones médicas de rutina porque los síntomas son usualmente leves, evolucionan durante varios años y simulan cambios en la salud relacionados con la edad. La investigación actual vincula la causa de la Diabetes Mellitus tipo 2 con los efectos sinérgicos de susceptibilidad genética y obesidad. A veces los adolescentes que tienen factores de riesgo pueden desarrollar diabetes tipo 2; las personas que padecen de diabetes tipo 2 no producen suficiente insulina, o la insulina que producen no controla el azúcar en la sangre de la forma que debería hacerlo. (Strayer & Schub 2009).

Algunas personas con DM2 presentan acantosis nigricans en la cual la piel, atrás del cuello, las axilas y otras áreas donde la piel tiene pliegues o dobleces se oscurece y parece cubierta de vello, dando la impresión de tener el cuello sucio. La sangre se pone espesa y la persona presenta polidipsia, poliuria y cansancio. Por lo general las células no utilizan la grasa para producir energía es por eso que es común que las personas con tipo 2 no producen cuerpos cetónicos. El tener sobrepeso o ser

obeso aumenta el riesgo de tener diabetes tipo 2, disminuyendo el número de células que pueden utilizar glucosa normalmente.

Cambiar la dieta, perder peso y hacer ejercicio le ayuda al cuerpo a utilizar mejor la insulina, la glucosa adicional puede causar que las células beta produzcan menos insulina, denominándose toxicidad por glucosa, debido a esto y a la pérdida de la capacidad de las células beta a través del tiempo las personas con diabetes tipo 2 pueden necesitar recibir insulina en algún momento (Schopbach, 2007).

Aunque un tratamiento terapéutico de nutrición, actividad física regular y mantenimiento del peso corporal son usualmente suficientes para alcanzar el control óptimo de la glucemia y reducir el riesgo de complicaciones o su progresión en muchos pacientes, la mayoría necesita tratamiento farmacéutico vía oral para la administración de la glucosa. El tratamiento temporario con insulina se combina generalmente con agentes orales durante períodos de enfermedad o de estrés extremo y algunos pacientes requieren insulina de forma rutinaria durante la etapa tardía de la enfermedad (Strayer & Schub 2009).

2.3.1. Factores de riesgo

Factores de riesgo incluyen antecedentes familiares, diabetes gestacional previa (es decir, manifestación durante el embarazo) anomalías previas en glucemia en ayuna o tolerancia a la glucosa, edad avanzada, estilo de vida sedentario, hipertensión, síndrome de ovario poliquístico, dislipidemia y obesidad (Strayer & Schub 2009).

2.3.2. Cuadro Clínico

Aproximadamente el 85% de los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2 son obesos es muy común que los pacientes se quejen de los siguientes síntomas cuyo incremento es gradual: fatiga, infecciones recurrentes, cicatrización prolongada de las heridas y cambios en la visión. (Strayer & Schub 2009).

El cuadro puede incluir también los síntomas clásicos como poliuria, polidipsia cambios en el peso sin explicación y polifagia en forma infrecuente. Las

complicaciones macro y microvasculares que pueden presentarse en el diagnóstico o desarrollarse durante el ciclo de la enfermedad incluyen disfunción renal, enfermedad de la vista, enfermedad vascular periférica y cardiovascular arteriosclerótica, neuropatía periférica e infección o gangrena de las extremidades. La cetoacidosis diabética (CAD) o acidosis metabólica es causada por deficiencia de insulina es infrecuente en la Diabetes Mellitus tipo 2 pero puede presentarse durante una enfermedad grave.

Otras afecciones asociadas con la enfermedad incluyen hipertensión, disfunción sexual, hiperlipidemia aumento de los niveles de grasa en sangre y el síndrome hiperosmolar hiperglucémico no cetósico (SHHNC) un desequilibrio metabólico potencialmente mortal accionado por hiperglucemia y caracterizado por la incapacidad de sustituir líquidos afasia, convulsiones, parálisis, reducción de la actividad mental y en casos infrecuentes coma (Strayer & Schub 2009).

2.4. Hiperglucemia

La hiperglucemia significa alto nivel de glucosa en la sangre, es cuando la glucosa en la sangre pasa de cierto nivel, cuando los niveles de glucosa están por arriba de 200-400mg/dl. Un nivel por arriba de los 400mg/dl es considerado demasiado alto, los altos niveles de glucosa en la sangre de manera constante por muchos años es dañino para los vasos sanguíneos y los órganos. Los principales síntomas de hiperglucemia son: orinar mucho, incluso de noche, tener mucha sed, visión borrosa, sentirse muy cansado, dolores de cabeza o de estómago (Strayer & Schub 2009).

2.5. Hipoglucemia

La hipoglucemia significa tener un nivel bajo de azúcar en la sangre, el prefijo hipo- significa bajo. La hipoglucemia a veces es llamada sin “reacción a la insulina” porque puede ser causada al recibir demasiada insulina. Un nivel de glucosa de 70 mg/dL o menor siempre es muy bajo, aunque la persona no se sienta o parezca y actúe como si su nivel de glucosa en la sangre estuviera muy bajo, un nivel de glucosa en la sangre de 71 a 80 mg/dL es demasiado bajo (Strayer & Schub 2009).

Si baja el nivel de glucosa en la sangre muy rápidamente (de alto a normal o normal bajo), puede sentirse hipoglucémico aunque el análisis del nivel de glucosa en la sangre esté dentro de las medidas deseadas. La hipoglucemia puede suceder a menudo si alguien está recibiendo insulina para la diabetes. Los niveles bajos de azúcar son de esperarse, especialmente en personas que controlan muy bien su diabetes. La hipoglucemia puede suceder de dos a tres veces por semana aunque puede suceder con mayor o menor frecuencia en algunas personas. (Schopbach 2007).

2.6. Glibenclamida

Es un hipoglucemiante oral de segunda generación indicada en el tratamiento de pacientes con DM 2 que no ha logrado la normoglicemia, ha demostrado su eficacia terapéutica en muchos estudios clínicos como en la práctica médica desde su introducción en 1969.

Presenta una buena absorción empleándolo vía oral sin variaciones significativas si se administra con alimentos sin presentar efecto acumulativo, muestra una duración de acción de 24 hrs. Con una vida media de 10 hrs. Teniendo un pico de respuesta con secreción de Insulina de las 2 ó 3 hrs. De su administración oral. Entre un 98 y 99% se encuentra unido a proteínas séricas siendo su biotransformación a nivel hepático produciendo metabolitos inactivos como débilmente activos. Esta se elimina como metabolitos el 50% por bilis y el restante 50% por la orina (Lisson 1999).

2.7. Mecanismo de acción

Aumenta la sensibilidad de las células beta a la hiperglicemia e incrementa la secreción de insulina. Se une a receptores de membrana específicos de las células beta de los islotes de Langerhans con alta afinidad que están próximos a los canales de K^+ . Al unirse la Glibenclamida a su receptor se inhibe los canales de K^+ sensibles a ATP y disminuye la permeabilidad de la membrana al K^+ (Lisson 1999).

Como el potencial de reposo de las células beta está determinada por una variable permeabilidad a los iones K^+ , la disminución de las actividades de los canales K^+ da lugar a la despolarización de la membrana. La disminución diferencial del potencial de la membrana plasmática abrirá las canales de Ca^{2+} iónico, que a su vez desencadenara la exocitosis al alterar la actividad enzimática, las cargas electrostáticas de la membrana y/o traslocación de los gránulos secretores lo que dará lugar a la liberación de insulina, por lo que la Glibenclámda reduce los niveles de azúcar en la sangre en tanto exista la capacidad exógena de secretar insulina (Lisson 1999).

2.8. Diabetes inducida

La inducción a la diabetes se ha logrado por diversas técnicas experimentales en 1889 Von Mering y Minkowski produjeron diabetes experimental en perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas, desde entonces la prancreotomía total se ha utilizado en muchas especies, con el objetivo de crear modelos experimentales. En carnívoros como gato y el perro se presenta un síndrome diabético clínicamente inestable. (Houssay y Penhos 1960).

En omnívoros y herbívoros se presenta un estado diabético caracterizado glucosuria moderada y cetonuria variable (Reid 1981). Las hormonas epinefrina, somatotropina, glucagón y los glucocorticoides tiene un efecto antagonista sobre la insulina, cuando están presentes en exceso, como una repuesta al estrés o una consecuencia patológica de una neoplasia u otros desajustes metabólicos, la tolerancia a la glucosa disminuye la hiperglucemia (Houssay 1944, Young 1950) La epinefrina y glucagón ejercen el mismo efecto en animales y seres humanos cuando es administra en exceso. También la administración de hidrocortisona y hormona adrenocorticotrópica inducen hipeglucemia e hiperplasia en células beta del páncreas (Penthos *et.al.* 1965 y Epan *et. al.* 1985)

Las hormonas corticotropina (ACTH) y prolactina poseen un efecto diabetogenico moderado, probablemente debido a un trastorno en la utilización periférica de la glucosa. Los roedores y lagomorfos desarrollan glucosuria cuando

reciben dosis excesivas de hormona de crecimiento. Conejos sometidos a terapia con glucagón conjuntamente con cortisona y alimentación especial desarrollan un síndrome diabético semejante a la diabetes inducida por aloxano (Reid 1981).

2.9. Inducción Química

El uso de agentes químicos para inducir diabetes permite un estudio detallado de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético. (Rerup 1970). Estas son sustancias con actividad específica que destruyen a las células beta del páncreas y causando deficiencia insulínica, otros agentes actúan sobre las células betas pero no las destruyen. Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilita al páncreas y como consecuencia se produce diabetes. Este último grupo lo constituyen hormonas antagonistas de la insulina anticuerpos anti-insulina y algunos agentes quelantes en particular el Zinc (Kadota 1950)

Los agentes más utilizados son el Aloxano y Estreptozotocina, estos compuestos en dosis diabéticas actúan sobre las células betas. Solo en el hámster chino se ha observado que la estreptozotocina puede dañar a las células además de las células betas.

Otros compuestos que se utilizan por su acción diabética son el ácido caproico, derivados del ácido ascórbico, alfa, alfa-dipiridil, ácido 5-hidroxisseudoúrico, ácido picrolónico, derivados de la aloxana (aloxantina), derivados del xantato de potasio, clorhidrato de hidrouracilo, ditiocarbamato de amonio, tiourea y triamcinolona entre otros. (Goldner & Gomori 1944, Brosky Logothetopoulos 1968.)

2.10. Estreptozotocina (STZ)

Aunque desde muchos años se conoce su actividad diabética, su mecanismo de acción no es del todo conocido, algunos indicios indican que el efecto de la Estreptozotocina es medido a través de una interacción de la membrana de la célula beta (Hermansen 1981). Otros estudios sugieren que hay una alta afinidad a la

sustancia por la permeabilidad celular lo que ocasiona alteraciones en su permeabilidad, lo que puede explicar en parte la necrosis selectiva observada en las células beta del islote pancreático (Grunert & Phillips 1951)

Algunas evidencias indican que la toxicidad de la estreptozotocina esta medida por el reconocimiento específico de algunos receptores sobre las células beta se cree que provoca un decremento en los niveles del dinucleótido de nicotinamina y adenina (NAD) ya que puede disminuir su síntesis como aumentar su hidrólisis. La nicotinamina protege a los animales contra la citotoxicidad tanto de la estreptozotocina como del aloxano. (Bailey *et. al.* 1946)

Se ha definido como dosis diabetogénicas la cantidad de agente inductor que un 80% de los animales de una especie dada, produce hiperglucemia sostenida, necrosis en las células beta del islote pancreático y no causa daños en otros órganos (Goldner & Gomori 1944) De las diversas especies las más representativas por su sensibilidad a la estreptozotocina que requieren por lo menos de dosis menores son: mono, hámster, perro, cerdo, ratón y cuyo (Hard 1985)

También se menciona que la Estreptozotocina induce neoplasias renales y extra renales en ratas que han recibido una sola dosis y que han permanecido bajo observación de 8 a 16 meses después de la inyección, otras alteraciones pueden presentarse a nivel del metabolismo del glucógeno en el riñón (Arison & Feudale 1967)

2.11. *Hamellia patens*

2.11.1. Descripción botánica:

Conocida popularmente como “chichipince” es un arbusto de tamaño mediano, oscila entre 1 y 3 metros de altura pero a veces llega a 7 metros de altura (Fig. 1), crece como un árbol en las tierras bajas del Atlántico tropical de Costa Rica (Paciorek *et. al.* 1995).

Las plantas pueden tener tallos simples o múltiples, las ramas son de color naranja a morado las hojas son opuestas o agrupadas de tres en tres o de cuatro, finamente pilosas a glabras. Las hojas tienen pecíolos de 1 a 3,5 cm en su mayoría son ovado-elípticas a obovado-elípticas con una punta aguda o acuminada lateral, las venas medias son de color rojo o rosa, el follaje se convierte en un brillante rojo de ahí su nombre común presenta un sistema lateral de raíz con raíces finas abundantes. Las raíces son rojo-café la corteza del tallo es gris y lisa y la corteza interior es verde claro (Howard 1989).



Figura 1. Arbusto de *Hamelia patens* “Chichipince” Flores y frutos.

La inflorescencia es terminal, modificada con flores que son tubulares de 12 a 22 mm de largo y de color naranja a rojo. El fruto es una baya esférica a elíptica, de 7 a 10 mm de largo, se torna roja y luego negra en la madurez. Las semillas son de color naranja-marrón, 0,6 a 0,9 mm de largo (Howard 1989 y Liogier 1997).

2.11.2. Origen y distribución:

El área de distribución natural de *Hamelia patens* se extiende desde el sur de Florida y las Bermudas, a través de las Bahamas, las Antillas Mayores y Menores, Trinidad y Tobago, y de México a través de América Central y América del Sur a Paraguay y Argentina la especie también se cultiva en el trópico húmedo y subtropical (Little *et. al.* 1974).

- **Ecología**

Hamelia patens crece en áreas deforestadas, en matorrales con otras especies de arbustos, en los claros del bosque, o en el sotobosque de la zona basal baja de las masas forestales. La especie se encuentra en zonas húmedas y muy húmedas que reciben de alrededor de 1600 a 3000 mm de precipitación.

Esta especie prefiere suelos limosos o arcillosos crece en suelos derivados de materiales de orígenes volcánicos y sedimentarios y es más común en las zonas de rocas calizas.

- **Reproducción**

Floración durante todo el año, es una planta polinizada por colibrí (Cunningham 1994). Las flores también son visitadas por las mariposas. Los frutos son consumidos por aves. La especie puede propagarse por semillas, plantas ornamentales, pero comercialmente se producen a partir de esquejes o gajos con la finalidad de reproducción por medio de fragmentos del tallo e introducidos en tierra para producir raíces. (Desert-Tropicals 2001).

- **Beneficios**

Hamelia patens es plantado como ornamental en casi todo el mundo en áreas cálidas y húmedas, el fruto es comestible (Little 1974). *H. patens* se utiliza en la medicina herbal para tratar el pie de atleta, lesiones en la piel y erupción cutánea, picaduras de insectos, shock nervioso, inflamación, reumatismo, dolor de cabeza, asma, y la disentería (Liogier 1990 y Raintree Nutrition, 2004).

III. METODOLOGIA

3.1. Tipo de Estudio

La presente investigación se cataloga como un estudio retrospectivo, prospectivo y experimental, pues se basa en estudios realizados anteriormente y a la vez propone una nueva alternativa mediante resultados experimentales, a partir de la información retomada de Navarro *et. al.* 2004. Dado que en nuestro país, el uso de especies vegetales con actividad antidiabética no ha sido validado científicamente, el presente trabajo de investigación es de carácter exploratorio. La realización de esta investigación fue llevada a cabo en las instalaciones del Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD) de la Universidad de El Salvador.

3.2. Sustancias de ensayo

El extracto etanolico de las hojas de *Hamelia patens* fue elaborado en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia quienes obtuvieron el extracto de acuerdo a la siguiente metodología.

Las hojas se secaron en la claridad y se molieron en un molino de cuchillas, posteriormente secas y divididas fueron extraídas en alcohol etílico a 95° en un aparato soxhlet hasta agotamiento de la muestra. Luego de la recuperación del solvente por medio de rota evaporador, se obtuvo el extracto etanólico crudo que fue utilizado como sustancia de ensayo en la presente investigación.

3.2.1. Dosis

Las dosis utilizadas del extracto etanolico de las hojas de *H. patens* fueron concentraciones de 100 mg/kg, 250 mg/kg y 500 mg/kg de peso corporal de los animales experimentales que corresponden a dosis baja, media y alta respectivamente. Como patrón se utilizó Glibenglamida (medicamento hipoglucemiante oral reconocido en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2) el cual desempeña la función de testigo positivo y cuya dosis fue de 20mg/kg de peso corporal, la concentración de glucosa fue de 3500 mg/kg mientras que para la

inducción de diabetes se utilizó Estreptozotocina a 45 mg/kg (ver ensayos preliminares).

3.3. Actividad Biológica

Los ensayos se realizaron conforme lo establecido en las guías de la CCAC (Consejo canadiense del Cuido de Animales) para el cuidado y uso de los animales de experimentación (CCAC 1998) respetando los principios éticos de las “Tres R” (Russel & Burch 1992).

3.3.1. Animales

Se utilizaron ratones hembras *Mus musculus* de la cepa NIH (National Institute of Health) procedentes del laboratorio de experimentación animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El Salvador. Se procedió a la obtención de animales experimentales por medio de cruces poligámicos. Obtenidos los animales se establecieron los grupos experimentales.

Las hembras utilizadas se encontraban en estado juvenil nulíparas y no grávidas cuyo peso oscilo entre 20 y 23 gr. Todos los animales se mantuvieron a una temperatura y humedad relativa controlada de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y entre 50-60% respectivamente, con un ciclo luz - oscuridad de 12/12 horas, marcados con ácido pícrico para su identificación individual. Los animales fueron examinados clínicamente antes de cada ensayo para certificar su estado de salud. La alimentación consistió en dieta, a base de concentrado peletizado para ratones y agua destilada en forma libre.

3.4. Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos previos con el objetivo de determinar las dosis adecuadas de las sustancias a utilizar, en este caso Glibenclamida, Glucosa y STZ; estableciéndose para ello grupos pequeños de animales (3 individuos) obteniéndose las concentraciones indicadas anteriormente (ver subtítulo *Dosis*, numeral 3.2.1), en igual condición se realizaron ensayos para establecer un periodo de ayuno apropiado determinándose un lapso adecuado de 10 horas.

3.5. Determinación de la glucemia

La determinación de los niveles de glucosa en sangre de los animales de cada uno de los ensayos descritos a continuación, se realizó mediante un kit comercial de tiras reactivas y glucómetro de marca Prodigy® (fig. 2). Las muestras de sangre se obtuvieron cortando la punta de la cola hasta la obtención de una gota homogénea aplicada sobre la tira del glucómetro. Para la colecta de los valores de glucemias se diseñaron tablas para tal fin (Anexo 1, 2, 3).



Figura 2. Determinación de los niveles de azúcar en sangre a través de glucómetro **A)** Glucómetro comercial Prodigy **B)** obtención de muestras sanguíneas por medio del corte apical de la cola en ratones.

3.6. Glucemia Basal

Para cada uno de los ensayos realizados se determinó la glucemia basal con el objetivo de determinar el estado normoglucémico de los animales antes de la realización de cada prueba y poder contar con un parámetro de comparación. (Figura 3) Con este fin, se les privo de alimento y se les colocó sobre una rejilla de piso metálica dentro de sus respectivas jaulas, de modo que no pudieran ingerir residuos de alimento o sus propias heces dejando únicamente agua a voluntad en el periodo de tiempo ya determinado.

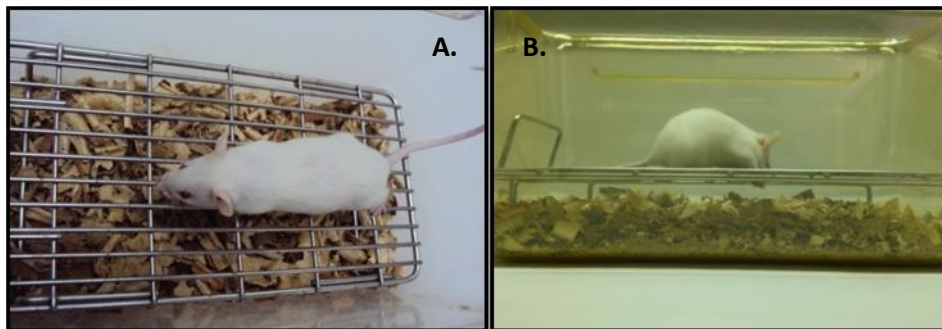


Figura 3. Procedimiento para el periodo de ayuno A y B. colocación de la rejilla metálica dentro de las respectivas jaulas sobre la burucha o viruta de madera.

3.7. Efecto inmediato sobre la glucemia.

Se establecieron 5 grupos experimentales conformados por 6 animales (♀) por grupo. Posterior a un ayuno previo de 10 horas se les proporciono el tratamiento de la siguiente manera: Grupo 1 o control: agua destilada, Grupo 2 o patrón: Glibenclamida con una concentración de 20mg/kg de peso, grupos tratamiento: 3, 4 y 5 extracto etanolico de las hojas de *H. patens* a concentraciones de 100, 250 y 500 mg/kg respectivamente, a todos los grupos se le administro un volumen de 0.2ml de las diferentes sustancias vía oral por canulación intragastrica. (Figura 4) A partir de ese momento se determinan las glucemias en todos los grupos a los 30, 60 y 120 min.

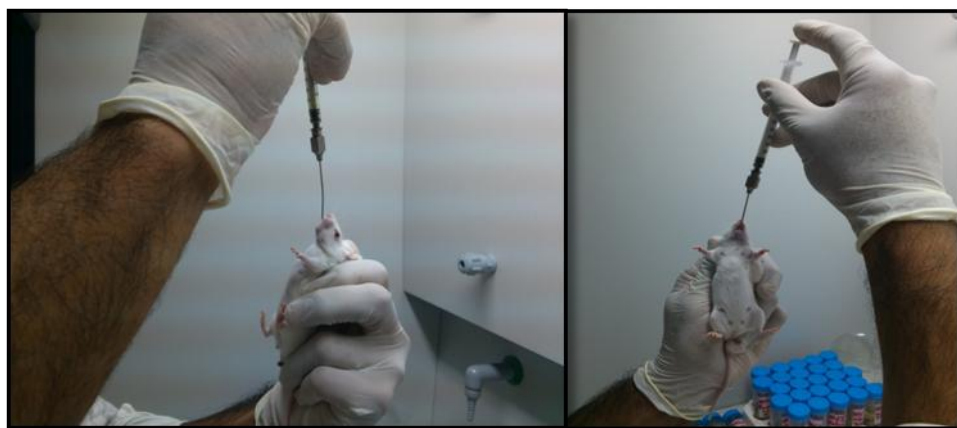


Figura 4. Vía de administración de las respectivas sustancias por medio del método de canulación

3.8. Efecto ante una sobrecarga de glucosa.

Se utilizaron 6 grupos a razón de 6 individuos por grupo, posterior al periodo de ayuno (10 hrs.) se determinó el valor basal de la glucemia a todos los grupos. Consecuentemente se les proporciono el tratamiento de la siguiente manera: grupo 1 y 2: agua destilada; Grupo 3 (GLI): Glibenclamida a concentración de 20 mg/kg; grupos 4, 5 y 6 (Tratamientos): 100, 250 y 500 mg/kg. de la sustancia de ensayo (extracto etanolico) respectivamente.

Una hora después de administrado el tratamiento anterior, se les administro a todos los grupos con excepción del grupo 1, una solución de glucosa en concentración de 3500 mg/kg. Posteriormente se determinó los niveles de glucemia a los 30, 60 y 120 min.

3.9. Efecto durante el desarrollo de la hiperglucemia inducida por bajas dosis repetidas de Estreptozotocina (diabetes tipo 2).

Se conformaron 6 grupos experimentales con igual número de integrantes (♀), así mismo se determinó la glucemia basal con el fin de asegurar el estado normoglucémico de los animales. Luego se inició el tratamiento de la siguiente manera: Grupo 1 (control no diabético): solución tampón citrato de sodio, pH 4.5, 0.1 ml. ip. durante todo el experimento; Grupos 2, 3, 4, 5 y 6 (diabéticos): Estreptozotocina (STZ) a dosis de 45 mg/kg, 0.1 ml. ip. en solución tampón de citrato (Figura 5) administrada durante 5 días consecutivos previo al inicio del experimento.



Figura 5. Administración de Estreptozotocina vía intraperitoneal para inducción a diabetes.

Luego de la inducción con STZ, el tratamiento a lo largo de 28 días fue el siguiente: Grupo 1 agua destilada (H₂O_d) ratones normoglucémico, grupo 2 agua destilada (H₂O_d) ratones diabéticos, al grupo 3 se le administro Glibenclamida (GLI) a una concentración de 20mg/kg de peso en volumen de 0.2 ml. Los grupos 4, 5 y 6 recibieron la sustancia de ensayo (extracto etanólico) a concentración de 100, 250 y 500 mg/kg respectivamente, todos a un volumen de 0.2 ml, todos los días hasta que duro el experimento. Se determinó las glucemias cada semana al grupo 2 con el objetivo de asegurar la eficacia del modelo de inducción. Al concluir el experimento (día 28), una hora después de la administración de los tratamientos y previo ayuno (tal cual fue descrito), se obtuvieron muestras sanguíneas para determinar los niveles de glucosa de todos los grupos.

3.10. Tratamiento Estadístico

Todos los datos obtenidos en cada una de las pruebas biológicas fueron estadísticamente evaluados con el software SPSS 18.0. La prueba de hipótesis incluyo el análisis de varianza de una sola vía (ANOVA) seguido de un test de Tukey para comparaciones múltiples. Se consideró que la diferencia entre los grupos comparados es significativa cuando $P < 0.05$ Los resultados fueron expresados como la media \pm DS (desviación estándar) de los grupos experimentales.

IV. RESULTADOS

4.1. Observaciones clínicas

Durante la administración de los diferentes extractos no se observó letalidad o signos de toxicidad tales como cambios en la apariencia del pelo, variaciones de peso, ojos y mucosa irritada o trastornos en la actividad motora. El comportamiento fue normal observándose una adecuada respuesta a los estímulos tanto táctiles como auditivos, esto en referencia a las hembras normoglucémicas o sanas que se utilizaron tanto en el efecto inmediato sobre la glucemia como ante una sobre carga de glucosa. No obstante las hembras hiperglucémicas inducidas mediante estreptozotocina presentaron signos clínicos adversos a lo largo del experimento. (Figura 6) Esto como consecuencia a la toxicidad de la STZ en destrucción de las células beta pancreática. Se pudo observar cambios repentinos de peso, aumento de la micción, polidipsia y en algunos casos un encorvamiento a la altura abdominal esto como posible malestares gastrointestinales, no observándose mortandad durante el experimento.

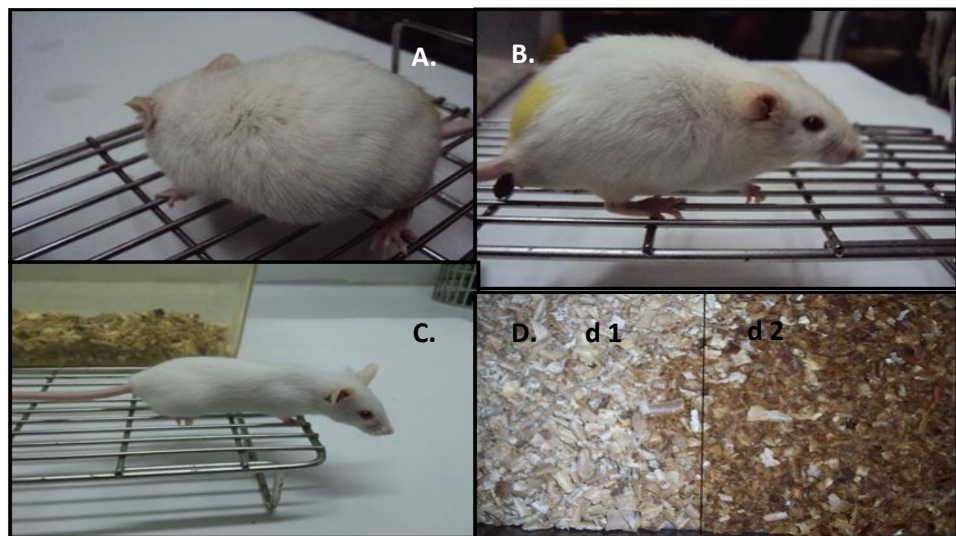


Figura 6. Principales variaciones clínicas en ratones inducidos con STZ. **A)** Apariencia del pelaje sucio, presencia de pilo erección **B)** algunos individuos desarrollaron sobrepeso y cambios en la locomoción **C)** ratón sano no presenta signos de toxicidad o signos clínicos desfavorables **D)** Desarrollo de poliuria. *d1* se aprecia parte del sustrato de madera seco *d2*. Muestra el sustrato humedecido debido al aumento de la micción.

4.2. Efecto Inmediato del extracto sobre la glucemia en ratones sanos.

Los valores de glucosa en ratones normoglicémicos (sanos) pueden apreciarse en la tabla 1, las medias basales se encuentran dentro de un intervalo de 106.83 y 124.67 mg/dl. apreciándose que no existen diferencias significativas entre los grupos experimentales. Transcurrida la media hora, el valor de glucosa disminuye levemente en el grupo administrado con Glibenclamida lográndose encontrar diferencias entre este y los restantes grupos. En las tomas subsiguientes (60 y 120 min.) los datos de glucosa muestran una mayor discrepancia arrojando un valor promedio de 53.5 mg/dl en el grupo tratado con Glibenclamida, datos que reflejan un estado hipoglucémico presentándose una diferencia estadísticamente significativa de glucosa en sangre comparado con los grupos de ratones administrados con el extracto etanólico de *H. Patens*. Puede apreciarse igualmente que los valores medios del grupo control (agua destilada) y los tratamientos (100, 250 y 500 mg/kg) tienden a un comportamiento muy similares entre sí.

Tabla 1. Efecto inmediato del extracto de *H. patens* sobre la glucosa en ratones normoglicemicos.

| Grupos | Basal | | | 30 min. | | | 60 min. | | | 120 min. | | |
|---------------------|--------|---|-------|---------|---|--------|---------|---|--------|----------|---|--------|
| | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S |
| Gli. | 113.67 | ± | 8.91 | 98.17 | ± | 10.42 | 64.00 | ± | 3.85 | 53.50 | ± | 5.28 |
| H ₂ O d | 117.67 | ± | 7.31 | 126.33 | ± | 11.02* | 118.33 | ± | 12.34* | 98.33 | ± | 10.31* |
| E.e. [100 mg/kg] | 124.67 | ± | 12.52 | 139.33 | ± | 21.86* | 123.17 | ± | 25.57* | 95.67 | ± | 16.31* |
| E.e. [250 mg/kg] | 114.00 | ± | 8.65 | 125.50 | ± | 13.38* | 122.00 | ± | 9.76* | 88.67 | ± | 13.85* |
| E.e. [500 mg/kg] | 106.83 | ± | 9.83 | 141.33 | ± | 20.04* | 129.17 | ± | 16.18* | 97.17 | ± | 12.61* |

Valores promedio y deferencia significativa en glucosa sanguínea del efecto inmediato del extracto etanólico de *H. patens* en hembras normoglicemicas. Los valores se expresan como la media ± D.S. (desviación estándar) p<0.05. Las comparaciones se realizan entre el fármaco Gli. y cada uno de los grupos. Las siglas significan GLI.= Glibenclamida, E.e= Extracto etanólico y (*) demuestra existencia de diferencia significativa.

4.3. Efecto ante una sobrecarga de glucosa

Si bien es cierto que esta prueba es realizada para diagnosticar diabetes temprana en grupos de alto riesgo, en este ensayo se pretendió determinar la capacidad de la sustancia de ensayo para estimular la secreción de insulina por parte de las células betas ante un exceso de azúcar en sangre. En cuanto a la prueba y tal como se aprecia en la tabla 2, los valores medios de todos los grupos experimentales muestran una glucemia basal posterior al periodo de ayuno muy homogénea con valores entre 79.83 y 106.17 mg/dl. En la siguiente toma, luego de la administración de la glucosa se visualiza un aumento en los valores de glucemia de todos los grupos sin excepción alguna, de manera más clara en los grupos de agua destilada (H₂O d_(b)) y los grupos tratados con la sustancia de ensayo, arrojando valores por arriba de los 200 mg/dl. alcanzando una máxima de 237.7 mg/dl, mostrando claras diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo tratado con Glibenclamida que logra una reducción hasta restablecer los valores a un estado normoglucemico o basal de 75.33 mg/dl transcurridos los 120 min. No así los grupos tratados con agua destilada y la sustancia de ensayo quienes muestran glucemias muy por encima de los valores observados en el grupo no sobre cargado con glucosa, tendencia que se mantuvo a lo largo del experimento.

Tabla 2. Valores de glucosa ante un exceso de azúcar en ratones sanos

| Grupos | Basal | | | 30 min. | | | 60 min. | | | 120 min. | | |
|-----------------------------------|--------|---|-------|---------|---|---------------------|---------|---|--------------------|----------|---|---------------------|
| | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S | Media | ± | D.S |
| H ₂ O d _(a) | 79.83 | ± | 22.1 | 112.8 | ± | 16.29 | 112.5 | ± | 40.41 | 95 | ± | 13.55 |
| H ₂ O d _(b) | 86.83 | ± | 7.91 | 247.8 | ± | 36.69 [†] | 144.17 | ± | 20.87 | 121.5 | ± | 17.99 |
| GLI. | 83.00 | ± | 12.6 | 141.5 | ± | 19.37 | 98.17 | ± | 44.77 | 75.33 | ± | 9.67 |
| E.e. [100 mg/kg] | 89.67 | ± | 11.1 | 237.7 | ± | 34.18 ^{*†} | 165.83 | ± | 25.69 [*] | 119.17 | ± | 21.48 ^{*†} |
| E.e. [250 mg/kg] | 92.83 | ± | 11.30 | 233.5 | ± | 49.87 ^{*†} | 158.33 | ± | 22.18 | 128.83 | ± | 17.67 [*] |
| E.e. [500 mg/kg] | 106.17 | ± | 10.30 | 219.3 | ± | 28.66 ^{*†} | 170.17 | ± | 47.01 [*] | 126.67 | ± | 14.65 ^{*†} |

Los valores se expresan como la media \pm D.S. (desviación estándar) $p < 0.05$ Las comparaciones se realizaron entre el fármaco Gli. y cada uno de los grupos tratados con *H. patens*. Las siglas significan (a)= grupo tratado únicamente con agua destilada en todo el experimento (b)= grupo tratado con agua destilada y posteriormente administrado con glucosa. Gli.= Glibenclamida, E.e= Extracto etanólico.*demuestra existencia de diferencia significativa entre Gli. y los grupos tratamientos. † Muestra diferencias estadísticamente significativa entre grupo H₂O_(a) y los restantes grupos.

4.4. Efecto durante el desarrollo de la hiperglucemia inducida por bajas dosis repetidas de Estreptozotocina.

Los valores de glucosa sanguínea se incrementaron significativamente en los grupos administrados con estreptozotocina posterior al quinto día de inducción (Tabla 3), logrando con ello alcanzar un estado hiperglucémico moderado por arriba de los 300 mg/dl. El grupo inducido a diabetes y tratado únicamente con agua destilada H₂O d_(b) desarrollo una hiperglucemia más severa con valores de 448.33 mg/dl. no obstante no presentaron complicaciones clínica severas.

Tabla 3. Valores de glucosa en ratones diabéticos

| GRUPOS | Media | \pm | D.S |
|-----------------------------------|--------|-------|----------------------|
| H ₂ O d ₍₁₎ | 153.83 | \pm | 12.58 |
| H ₂ O d ₍₂₎ | 448.33 | \pm | 42.35 |
| GLI | 235 | \pm | 84.04 ^{a b} |
| E.e [100 mg/kg] | 346.16 | \pm | 32.18 ^a |
| E.e [250 mg/kg] | 435.5 | \pm | 68.76 ^{a c} |
| E.e [500 mg/kg] | 324.15 | \pm | 96.4 ^{a c} |

Efecto del extracto etanólico de *H. patens* sobre los niveles de glucosa en sangre ante el desarrollo de la hiperglucemia inducida por STZ. Los valores se expresan como la media \pm D.S. (desviación estándar) $p < 0.05$ Las comparaciones se realizaron entre el grupo H₂O d_(a) y cada uno de los grupos experimentales. Las siglas significan (1) = grupo sano no inducido a diabetes (2) = grupo inducido a diabetes mediante STZ Gli.= Glibenclamida, E.e= Extracto etanólico.

Los valores muestran que los animales hiperglucemicos tratados 28 días con la concentración etanólica de *H. pantens* registran valores de glucosa considerablemente altos, cuyo rango se encuentra entre 324.15 y 435.5 mg/dl. Una mejor apreciación puede observarse (figura 7) en el comportamiento de cada grupo donde se encuentran marcadas diferencia estadísticas entre los tratamientos y los controles (No diabéticos / STZ+GLI) excepto el grupo de 100mg/kg del extracto etanólico cuya única diferencia estadística es con respecto al grupo de animales sanos. Por su parte Glibenclamida muestra una leve reducción en sus valores sin lograr alcanzar niveles normoglucemicos.

Los animales presentaron síntomas característicos como: poliuria y polifagia algunos individuos presentaron variaciones de peso sin alcanzar valores extremos. Los datos muestran que ninguna de las tres concentraciones del extracto etanólico de *H. patens* logro reducir la glucosa sanguínea de manera significativa al finalizar el experimento estos se mantuvieron al alza.

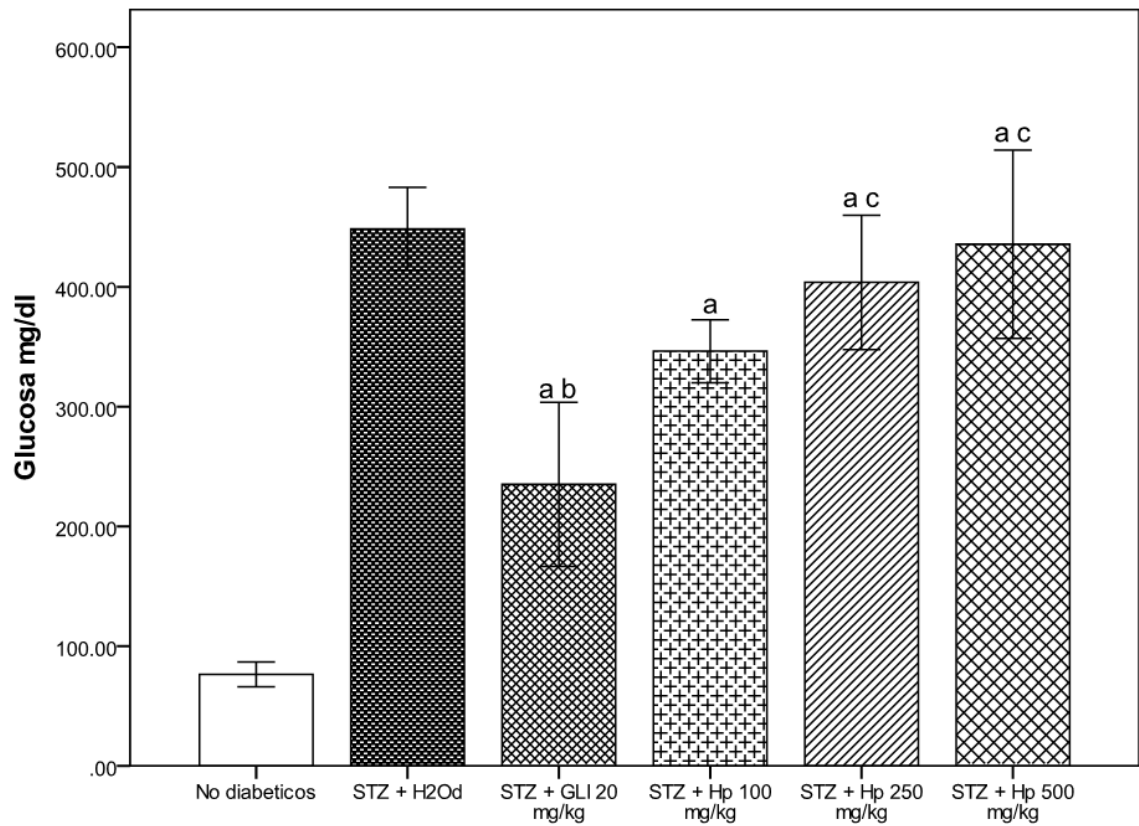


Figura 7. Medias de glucosa al finalizar el experimento luego de 28 días de tratamiento con extracto etanólico de *H. patens*. STZ= inducción a diabetes (animales enfermos) H2Od= grupo tratado únicamente con agua destilada. GLI= Glibenclamida. Hp= extracto etanólico de *H. patens*. a: diferente a No diabéticos b: diferente a STZ + H2O c: diferente a STZ + GLI. cuando el valor era menor a 0.05 (95% en el intervalo de confianza.).

V. DISCUSION

Los principales síntomas de toxicidad según Zeinstege *et. al.* (2003) se caracterizan por una locomoción errónea, convulsión, actitudes posturales anormales, y consecuente inanición y muerte. Respecto a lo anterior los datos de la presente investigación muestran que ninguno de los sujetos experimentales presento alteraciones que pudiesen resultar de la administración del extracto etanólico de *H. patens* en concentraciones de 100mg/kg 250mg/kg y 500mg/kg.

Por otro lado el modelo experimental para ensayo del efecto inmediato sobre la glucemia muestra, que la capacidad inmediata del extracto etanólico de *H. patens* sobre la glucosa sanguínea en individuos con metabolismo fisiológico normal es nula al no lograr reducir los niveles de glucosa, caso contrario el fármaco Glibenclamida el cual Schmitz *et. al.*(2003) describe que posee un mecanismo de acción directa sobre células beta funcionales provocando la estimulación de la producción de insulina por medio del bloqueo de canales de potasio sensibles a ATP (K_{ATP}), además de una disminución en la glucogenólisis hepática, produciendo una reducción considerable en los niveles de glucosa, hecho que se observó claramente en los resultados en este experimento, demostrando al mismo tiempo que el extracto etanólico de *H. patens* con diferentes concentraciones no posee las características metabólicas antes mencionadas por cuanto existen claras diferencias estadísticas entre los resultados obtenidos con la sustancia de ensayo y el grupos tratado con la sustancia patrón.

En cuanto a los valores de glucosa en la toma de los treinta minutos se han establecido diversos factores externos que pueden desencadenar en un mal funcionamiento de mecanismos reguladores de glucosa, entre estos factores se encuentra el estrés que ha sido estudiado en su relación con el control metabólico y variaciones glicémicas, encontrándose en diversos estudios una asociación significativa entre ambas. (Guthrie *et. al.* 2003; Peyrot *et. al.* 1999; Polonsky *et. al.* 2005)

En este sentido Unger y Orci (1982) mencionan que el estrés puede afectar hacia el aumento de los niveles de glicemia por medio del incremento de la producción de hormonas en respuesta a la liberación de hormonas correspondientes al estrés (cortisol, hormona de crecimiento, epinefrina y norepinefrina)

De esta manera al analizar los datos obtenidos se comprueba que la manipulación de los animales durante la primera fase de toma provocó un proceso de estrés repentino disparando con ello los niveles de glucosa. Lo anterior concuerda con el estudio realizado por Reid (1981) quien menciona que el estrés produjo hiperglucemia y glucosuria emocional en animales sometidos a procesos de estrés, llegando a desarrollar en algunos casos altos niveles por varias semanas aun después de retirar el estímulo.

El organismo de animales ha desarrollado una serie de mecanismos homeostáticos que le permiten tener los valores de concentración de glucosa en sangre en un margen fisiológico estable donde participan algunos órganos como hígado, páncreas, tejido muscular entre otros (Obradors & palacios 2005). En referencia a lo anterior, se realizó una prueba de sobre carga de glucosa que a pesar de usarse para el diagnóstico oportuno de personas de alto riesgo, en la presente investigación se realizó con el objetivo de evaluar el efecto del extracto de *H. patens* sobre la capacidad de los tejidos para incorporar la glucosa en presencia de cantidades normales de la hormona insulina y el efecto de la sustancia de ensayo sobre la estimulación de las células beta para una mayor producción de insulina, ambos ante una sobre carga de glucosa. Los datos muestran que la aplicación del modelo experimental es funcional, mostrándose diferencias estadísticas significativas marcadas entre los grupos control (H₂O^(b) y Gli.) lo anterior concuerda con resultados obtenidos en el estudio hipoglucemiante del extracto acuoso de *Phyllanthus sellowianus* realizados por Navarro *et. al.* (2004) quienes obtuvieron el comportamiento esperado de este modelo.

Los resultados del extracto etanólico de *H. patens* muestran que las concentraciones evaluadas de este no lograron una estimulación a nivel pancreático de las células beta para la producción de insulina, aun tomando en cuenta que dichas

células eran funcionales, tampoco un efecto sobre la capacidad de los tejidos para una mayor captación de glucosa y tampoco detiene la producción de glucosa en hígado, dicho lo anterior, el extracto de *H. patens* no actúa sobre estas rutas metabólicas por cuanto no redujo los valores de glucosa. Por otro lado los resultados en esta prueba muestran nuevamente un incremento en los valores de glucosa en la segunda toma, hecho que se atribuye al estrés generado por la manipulación de los animales.

Respecto a la inducción a diabetes mediante STZ dicha sustancias provoco efectos tóxicos en animales inducidos. Los resultados a la exposición de este químico producen alteraciones bioquímicas actuando a nivel celular, causando una deficiencia primaria de insulina. Chatzigeorgiou *et. al.* (2009) Los resultados exponen que todos los animales inducidos mediante dosis bajas de estreptozotocina durante 5 días desarrollaron hiperglucemias severas. Lo que posiblemente se debió a una disminución de la masa celular beta y por lo tanto en la secreción de insulina, estos resultados concuerdan con estudios similares realizados por Ibarra *et. al.* (2009) y Merkes *et. al.* (2001) quienes realizaron estudios hipoglucemiante de especies vegetales obteniendo hiperglucemia moderada en ratas por administración de STZ

Los resultados de Glibenclamida en esta prueba, muestran que el grado de eficacia de este se ve disminuido una vez que existen anormalidades en la secreción de insulina, debido al daño a nivel celular por parte de la acción toxica de la estreptozotocina. Según Herrera-Pombo (2001) sugiere que las sulfonilureas como la Glibenclamida tienen un efecto hipoglucemiante al estimular la secreción de insulina para que esto se lleve a cabo es necesario la presencia de un páncreas funcional para poder ejercer su acción, lo anterior concuerda con los datos mostrados con Glibenclamida. Mas sin embargo como se puede apreciar en la figura 7. si logro una reducción, debido a que actuó sobre las dos vías restantes en una mayor captación de glucosa sobre los tejidos y una disminución de la gluconeogénesis en hígado hecho que respalda las diferencias mostrados entre el grupo tratado con el fármaco y al resto de grupos excepto al grupo de concentración de 100mg/kg.

El objetivo de este experimento de inducción fue determinar la capacidad de protección o prevención por parte del extracto ante el desarrollo de la diabetes. En este sentido Ravi *et. al.* (2004) sugiere que existe una implicación del estrés oxidativo en la patogénesis de la diabetes, siendo sugerida no solo por la generación de radicales libres de oxígeno, sino también por la glicosilación de la proteína no enzimática, la auto-oxidación de la glucosa, y la alteración del metabolismo del glutatión. Por su parte Yokosawa *et. al.* (2002) sugiere que este proceso de estrés oxidativo durante el proceso de lipoxidación por radicales libre son los responsables de la destrucción de las células beta en los islotes de Langerhans en el modelo de inducción por STZ. Soto *et. al.* (1998) menciona que la prevención de la diabetes, puede estar relacionada con la capacidad de los flavonoides en reducir el estrés oxidativo.

Pese a todo lo anterior y a qué *H. patens* ha sido reportada por presentar una amplia variedad de compuestos químicos entre ellos alcaloides oxidolpentacíclicos, algunos de ellos incluyendo pteropodine y isopteropodine concordando con estudios realizados por Ríos y Aguilar 2006). Los resultados obtenidos demuestran que la sustancia de ensayo no posee un efecto protector de células beta puesto que los niveles de glucosa en sangre se mantuvieron al alza durante todo el experimento no alcanzó así la prevención esperada.

Los resultados antes mencionados pueden deberse según Reyes-chilpa *et. al.* (2004) a que el contenido de alcaloide pueda sufrir variaciones cuantitativas y que los efectos fisiológicos puedan diferir debido a dichas variaciones en el contenido de alcaloides apoyándose en el hecho que diferentes condiciones fenológicas y geográficas podrían estar correlacionadas con diferentes perfiles de alcaloides, sumándose el hecho que la utilización de diferentes solventes para la realización de los extracto supone variaciones en los compuestos químicos.

VI. CONCLUSIONES

En lo concerniente a los resultados obtenidos en la presente investigación y bajo nuestras condiciones experimentales, tanto la administración aguda como a dosis repetidas de 28 días del extracto etanólico de *Hamelia patens* (Chichipince) vía oral y a las concentraciones utilizadas, se concluye que dicho extracto no representa alteraciones serias en el estado de salud general de los animales experimentales; por tanto y de acuerdo a las categorías de toxicidad OECD (2001), la sustancia de ensayo se clasifica de uso seguro para el ser humano en las dosis de 100, 250 y 500mg/kg.

Por otro, lado luego de haber analizado los resultados obtenidos de las tres situaciones fisiológicas evaluadas y considerando que los modelos experimentales fueron efectivos, que la composición química de *Hamelia patens* no fue evaluada en esta investigación y que la comparación del posible efecto hipoglucemiante de la sustancia de ensayo fue con un fármaco sintético diseñado para bajar los niveles de glucosa en sangre se concluye que el extracto etanólico de *Hamelia patens* evaluado no presenta un efecto hipoglucemiante y por lo tanto no representa una alternativa para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

VII. RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta que existen diferencias en los compuestos químicos dependiendo de la parte de la planta, edad, época del año y lugar de colecta de una misma especie. Sería de mucha importancia para futuras investigaciones realizar estudios químicos que determinen cualitativa y cuantitativamente la composición química de esta especie vegetal en El Salvador en cada uno de sus órganos caracterizando al mismo tiempo dicho perfil químico a lo largo del año datos que permitan tomar una mejor toma de decisiones de cara a futuras investigaciones.

Se recomienda seguir evaluando el efecto hipoglucemiante y otras actividades biológicas de *Hamelia patens* pero utilizando otros métodos de extracción como por ejemplo la utilización de un solvente como el agua para la obtención de un extracto acuoso que de alguna manera se asemeje al uso etnobotánico que la población le da a esta especie vegetal de amplio uso en la medicina tradicional de El Salvador.

Debido al comportamiento de niveles de glucosa en sangre obtenidos por medio de la inducción por estreptozocina y luego de haber hecho una revisión bibliográfica de este modelo se recomienda la inclusión de una sustancia protectora de células beta durante la administración de la estreptozotocina con el objeto de evitar valores de hiperglucemia severa como por ejemplo nicotinamida.

Se recomienda el uso de cepas de ratones consanguíneas que reduzcas las variaciones a fin de obtener una mayor uniformidad en los resultados por otro lado se aconseja alargar el periodo de tratamiento de las sustancias de ensayo así como una combinación de esta con el fármaco de referencia utilizado.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- American Diabetes Association (ADA) 1997. Report of the expert comite on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 20:1183-97.
- Arison R. N., Feudale E. L. 1967. Induction of renal tumor by streptozotocin in rats. *Nature*. 214: 1254-55.
- Bailey C.C., Bailey O.T., Lecch R. 1946. Alloxan diabetes *Proc. Am. Daibetes Assoc.* 7: 277-287.
- Banderas T. Rosario. 2006. Mecanismos de Acción Hipoglucemiante de Extractos Obtenidos de Plantas Antidiabéticas. Trabajo de investigación para obtener el grado de Maestría en Biología Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana Ixtapalapa.
- Bouic P.J& J.H Lamprecht. 1999. Plant sterols and sterolins: a review of their immune-modulating properties. *Altern Med Rev.* 4(3):170-7.
- Brosky G., Logothetopoulos J. 1968. Streptozotocin induced diabetes in the mouse and guinea pig. *Fed. Proc.* 27: 547
- CCAC (1998). Guide for the care and use of laboratory animals. Canadian Council on Animal Care, Ottawa, Canada. www.ccac.com
- Chatzigeorgiou A., Halapas A., Kalafatakis K., Kamper E. 2009. The Use of Animal Models in the Study of Diabetes Mellitus. *Review in vivo* 23: 245-258
- Desert-Tropicals. 2001. Texas firecracker bush scarlet bush. *Deserrtropical rubiaceae hamelia patens* pag. 2
- Epand R.M., Stanford A.R., Tyres M., Nieboer E. 1985. Mechanism of action of diabetogenic zinc-chelatin agents. *Mol. Pharmacol.* 27: 366-374.
- Goldner M.G., Gomori G. 1944. Alloxan diabetes *Proc. Am. Diabetes Assoc.* 4: 87-110.
- Gonzales A. Julio C. 1994. Botánica medicinal popular: etnobotánica medicinal de El Salvador. Asociación Jardín Botánico La Laguna. San Salvador. El Salvador pág 184.
- Grunert M.G., Phillips P.H. 1951. Uric acid diabetes in the rat. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 76: 642-645.

- Guthrie, D., Bartsocas, C., Jarros-Chabot, P. & Konstantinova, M. 2003. Psychosocial issues for children and adolescents with diabetes: Overview and recommendations. *Diabetes Spectrum*, 16, 7 – 12.
- Hard G.C. 1985. Identification of a high-frequency model of renal carcinoma by induction of renal tumors in the mouse with a single, dose of streptozotocin. *Cancer Research* 45: 703-708.
- Hermansen K. 1981. Characterisation of the abnormal pancreatic D and A cell function in streptozotocin diabetes dogs: Studies with D-glyceraldehyde, Dihydroxyacetone, D-mannoheptulose, D-glucose and D-arginine. *Diabetologia*. 21: 489-494.
- Herrera-Pombo J.L. 2001. Sulfonilureas y biguanidas en el tratamiento de la diabetes. *Terapéutica Endocrinología*. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma. Madrid.
- Houssay B.A., Penhos J.C., 1960. Pancreatic Diabetes and hypophysectomy in the snake *Xonodon merrenii*. *Acta. Endocrinol.* 35: 312-323.
- Houssay B.A. 1944. Thyroid and metathyroid diabetes. *Journal endocrinol.* 35; 158-172.
- Howard, R. A. 1989. *Flora of the Lesser Antilles, Leeward and Windward Islands*. Vol. 6. Arnold Arboretum, Harvard University, Jamaica Plain, MA. 658 p.
- Hsu H.Y, Yang JJ & C.C Lin . 1997. Effects of oleanolic acid and ursolic acid on inhibiting tumor growth and enhancing the recovery of hematopoietic system postirradiation in mice. *Cancer Lett.* 111(1-2):7-13.
- Ibarra J. de Ma. ; Cantú C. Pedro; Verde J. María: Oranday Susana. 2009 Caracterización Fotoquímica y Efecto Hipoglucemiante de *Tecoma stan* y su relación de cromó como factor de tolerancia a la glucosa. Facultad de salud pública y nutrición. Universidad autónoma de Nuevo León. Pág. 10.
- Kadota L., Midorikawa O. 1950. Diabetogenic action of organic reagents; destructive lesion of islets of Langerhans caused by sodium diethyldithiocarbamate and potassium ethylxanthate. *Journal Lab. Clin. Med.* 38: 671-688.
- Kalofoutis C.; Piperi C.; Kalofoutis A.; Harris F.; Phonix D.; Singh J. 2006 Type II Diabetes Mellitus and Cardiovascular Risk Factors: Current therapeutic approaches. *CLINICAL CARDIOLOGY* Vol. 12 No 1 pp.28.
- Liogier, H.A. 1997. *Plantas medicinales de Puerto Rico y del Caribe*. Iberoamericana de Ediciones, Inc. San Juan, PR. 566 p.

- Lisson A. Rosa. 1999 Glibenclamida en Diabetes Mellitus Servicio de endocrinología, Hospital Nacional E. Rebagliati Martins, Instituto peruano del seguridad social. Rev. Farmacol Terap (Lima) 6 (1-2)
- Little, E.L., Jr., R.O. Woodbury, and F.H. Wadsworth. 1974. Trees of Puerto Rico and the Virgin Islands. Vol. 2. Agriculture Handbook 449. U.S. Department of Agriculture, Washington, DC. 1,024 p.
- Madaleno I. Maria. 2007 Etno-farmacología en Iberoamérica, una alternativa a la globalización de las prácticas de cura. Geográficos; 41 (2007-2), pp. 61-95.
- Mast Arboretum. 2001. *Hamelia patens*, firebush. StevenF. Austin State University.<http://www.sfasu.edu/ag/arboretum/plants/hameliapatens/hamelia%20patens.htm>. p.3.
- Merino M.H. 1998. Contribución al conocimiento etnobotánica en San Luis La Herradura, Departamento de La Paz, El Salvador. Universidad de El Salvador. Trabajo de graduacion para optar al grado de Licenciada en Biología.
- Meckes M.; Garduño-Ramírez M.; Marquina S.; Álvarez L. 2001. Iridoides Adicionales de la Planta Medicinal *Astianthus viminalis* y su actividad hipoglucemiante e antihiperoglucemiante. Revista de la sociedad Química de México, Vol. 45 Num. 4 195-199.
- Mora, A., Aragón, D., Ospina, L. 2009. Caracterización del estrés oxidativo en ratas wistar diabéticas por estreptozotocina. VITAE, Revista de la Facultad de QuímicaFarmacéutica; 16(3): 311-319.
- Navarro M.; Coussio J.; Hnatyszyn O.; Ferraro G. 2004. Efecto Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de *Phyllanthus sellowianus* ("sarandí blanco") en Ratones C57BL/Ks *Acta Farm. Bonaerense* 23 (4): 520-3.
- Obradors M.J., Palacios E.P s.a Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.
- OECD (2001) Guideline for testing of chemicals N° 423. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method.
- Ortiz. M. Segura. 2011 Evaluación del extracto etanolico de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. Sobre la regulación de la secreción de adipocinas asociadas a la resistencia a la insulina. Trabajo de graduacion para obtener el grado de Maestría de ciencias ambientales. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Facultad de ciencias químicas, ingeniería y medicina. Programa multidisciplinarios de ciencias ambientales pp.68.

Ovesná Z, Kozics K& D Slamenová. 2006. Protective effects of ursolic acid and oleanolic acid in leukemic cells. *Mutat Res.*600(1-2):131-7. Epub. Jul 10.

Paciorek, C.J., B.R. Moyer, R.A. Levin, and S.L. Halpern. 1995. Pollen consumption by the hummingbird flower mite, *Proctolaelaps kirmsei*, and possible fitness effects on *Hamelia patens*. *Biotropica* 27(2): 258-262.

Paredes C. David Alexander s.a. Tratamientos Alternativos en el Control de la Mastitis Clínica Bovina; plasma marino, propóleos y Chichipince (*Hamelia patens*). Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.

Penhos J.C., Houssay B.A., Lujan M.A. 1965. Total pancreatectomic in lizards. Effect of several hormone. *Endocrinology* 76: 989-993.

Peyron M., F. Mcmurry jr., F. Kruger D. 1999. A biopsychosocial model of Glycemic control of diabetes stress , coping and regimen adherence. *Journal of health and social behavior* Vol. 40:141-158.

Polonsky W. H., Fischer L. Earlers J., Dudl J.R., Lees J., Mullan J., Jackson R. A. 2005 Assessing Psychosocial Distress in Diabete Diabetes Care 03 vol. 28no. 3 626-631.

Raintree Nutrition. 2001. Scarlet bush. Raintree Nutrition, Inc. <http://www.raintree.com/scarletbush.htm>. 3 p.

Raintree Nutrition. 2004. Biological Activities for Extracts and compoends of Scarlet Bush *Hamelia patens*.

Ravi, K., Ramachandran B., Subramanian S. 2004. Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sciences*; 75: 2717-2731.

Reid P.D., 1981. Animal models of diabetes mellitus: A review. *Lab. Animal* pp. 40-45

Reid R. L., Hinsk N. T., Mills S.C., 1963. Alloxan diabetes in pregnant ewes. *Journal Endocrinol* 27: 1-19.

- Rios M. Y & B Aguilar-Guadarrama. 2006. Alcaloides indólicos, terpenos, esteroides y flavonoides de las hojas de *Hameliapatens* Jacquin (Rubiaceae). *Rev Cubana Plant Med*; 11(1)
- Rerup C.C., 1970. Drugs producing diabetes through damage of the insuline secreting cells. *Pharmacol. Rev.* 22: (4) 485-518.
- Reyes-Chilpa R; Rivera J; Oropeza M; Mendoza P; Amekraz B; Jankowski C & M Campos. 2004. Methanol extracts of *Hamelia patens* containing oxindole alkaloids relax KCl-induced contraction in rat myometrium. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* (2004), 27(10), 1617-1620
- Russell, W.M.S., Burch, R.L. 1992 *The principles of humane experimental technique*. London: Methuen. Universities Federation for Animal Welfare (UFAW), Potters Bar, Herts, UK: England. Special edition: 238.
- Schimitz A. C., Schiue Q., Feng G. G., Deng M.T., Póurdehnad R. Schirmacher M. Vatamaniuk N., Doliba F., Matschinsky B., Wolf F., Rosch A., Naji., A.A. Alavi. 2003. Synthesis and evaluation of fluorine-18 labeled glyburide analogs as beta cells imaging agents.
- Schopbach R. 2007 *Manual de Diabetes (Diabetes Handbook)* Phoenix Children's Diabetes Center. pág. 158.
- Strayer D.A; Schub T. 2009. La diabetes mellitus tipo 1 Editorial Pravikoff D. Fuente *Guía de Enfermería CINAHL, Sistemas de Información Cinahl*, (Glendale, California) pág. 2
- Soto, C.P., B.L. Pérez, L.P. Favani & J.L. Reyes 1998 *Comp. Biochem. Physiol. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol.* **119**: 125-9
- Unger R. H., Orci L., Hisatomi U., Maruyama H. 1982 Insulin within islets is a physiologic glucagon release inhibitor *Journal of clinical investigation* Vol. 74: 2296-2999.
- Yokosawa, T., H.Y. Kim, E.J. Cho & H.Y. Chung 2002 *J. Agric. Food Chem.*
- Yuong F.G. 1950. Grown hormone and experimental diabetes. *Proc. Am. Diabetes Assoc.* 10: 23-24.
- Zeinsteger, P.; Acosta de Pérez, O.; Teibler, P.; Rios, E.; Jorge, N. 2003. Hepatotoxicidad de compuestos volátiles de *Seneciogris ebachii* (primavera). *Comunicaciones Científicas y Tecnológicas—Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes. Publicación sin referato. Quite espacios.*

ANEXOS

Anexo 1. Fuente: Procedimiento Normalizado de Trabajo. PROC-NT-018. 2010. Efecto Hipoglucemiante Laboratorio de Experimentación Animal CENSALUD.

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE
HOJA DE DATOS EFECTO EN RATONES SANOS**

DESCRIPCION GENERAL

SUSTANCIA DE ENSAYO: _____ VIA DE ADMINISTRACION: _____ Nº DEL/LOS ANIMALES(ES): _____ SEXO: _____ ESPECIE: _____

CEPA: _____ EDAD: _____ FECHA: _____ CONCENTRACIÓN O DOSIS: CONTROL [1]: _____ PATRON [2]: _____

TRATAMIENTO1 [3]: _____ TRATAMIENTO 2 [4]: _____ TRATAMIENTO 3 [5]: _____

LAPSO DE TIEMPO (MIN):

| | | |
|----|----|-----|
| 30 | 60 | 120 |
|----|----|-----|

EFFECTO EN RATONES SANOS

| Grupo 1 | Ident. Animal | Valor Glucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | | Grupo 3 | Ident. Animal | Valor Glucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | | Grupo 5 | Ident. Animal | Valor Glucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | |
|-----------|---------------|--------------------|-----------------------------|--------|---------|---------|---------------|--------------------|-----------------------------|--------|---------|---------|---------------|--------------------|-----------------------------|--------|---------|
| | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min | | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min | | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min |
| Control 1 | A1 | | | | | T1 | A1 | | | | | T3 | A1 | | | | |
| | A2 | | | | A2 | | | | | A2 | | | | | | | |
| | A3 | | | | A3 | | | | | A3 | | | | | | | |
| | A4 | | | | A4 | | | | | A4 | | | | | | | |
| | A5 | | | | A5 | | | | | A5 | | | | | | | |
| | A6 | | | | A6 | | | | | A6 | | | | | | | |
| Grupo 2 | | | | | | Grupo 4 | | | | | | | | | | | |
| Patrón | A1 | | | | | T2 | A1 | | | | | | | | | | |
| | A2 | | | | | | A2 | | | | | | | | | | |
| | A3 | | | | | | A3 | | | | | | | | | | |
| | A4 | | | | | | A4 | | | | | | | | | | |
| | A5 | | | | | | A5 | | | | | | | | | | |
| | A6 | | | | | | A6 | | | | | | | | | | |

Anexo 2. Fuente: Procedimiento Normalizado de Trabajo. PROC-NT-018. 2010. Efecto Hipoglucemiante Laboratorio de Experimentación Animal CENSALUD

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE
HOJA DE DATOS SOBRECARGA DEGLUCOSA**

DESCRIPCION GENERAL

SUSTANCIA DE ENSAYO: _____ VIA DE ADMINISTRACION: _____
 Nº DEL/LOS ANIMALES(ES): _____ SEXO: _____ ESPECIE: _____ CEPA: _____ EDAD: _____ FECHA: ____/____/____
 CONCENTRACIÓN O DOSIS: CONTROL 1 [1]: _____ CONTROL 2[2]: _____ PATRON [3]: _____ TRATAMIENTO1 [4]: _____ TRATAMIENTO 2 [5]: _____
 TRATAMIENTO 3 [6]: _____ LAPSO DE TIEMPO (MIN):

| | | |
|----|----|-----|
| 30 | 60 | 120 |
|----|----|-----|

EFFECTO SOBRECARGA DE GLUCOSA

| Grupo 1 | Ident. Animal | ValorGlucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | | Grupo 3 | Ident. Animal | ValorGlucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | | Grupo 5 | Ident. Animal | ValorGlucem Basal | Toma de valores de Glucemia | | |
|-----------|---------------|-------------------|-----------------------------|--------|---------|---------------|---------------|-------------------|-----------------------------|--------|---------|---------------|---------------|-------------------|-----------------------------|--------|---------|
| | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min | | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min | | | | 30 Min | 60 Min | 120 Min |
| Control 1 | A1 | | | | | Patrón | A1 | | | | | Tratamiento 2 | A1 | | | | |
| | A2 | | | | | | A2 | | | | | | A2 | | | | |
| | A3 | | | | | | A3 | | | | | | A3 | | | | |
| | A4 | | | | | | A4 | | | | | | A4 | | | | |
| | A5 | | | | | | A5 | | | | | | A5 | | | | |
| | A6 | | | | | | A6 | | | | | | A6 | | | | |
| Grupo 2 | | | | | | Grupo 4 | | | | | | Grupo 6 | | | | | |
| Control 2 | A1 | | | | | Tratamiento 1 | A1 | | | | | Tratamiento 3 | A1 | | | | |
| | A2 | | | | | | A2 | | | | | | A2 | | | | |
| | A3 | | | | | | A3 | | | | | | A3 | | | | |
| | A4 | | | | | | A4 | | | | | | A4 | | | | |
| | A5 | | | | | | A5 | | | | | | A5 | | | | |
| | A6 | | | | | | A6 | | | | | | A6 | | | | |

Anexo 3. Fuente: Procedimiento Normalizado de Trabajo. PROC-NT-018. 2010. Efecto Hipoglucemiante Laboratorio de Experimentación Animal CENSALUD

**LABORATORIO DE EXPERIMENTACION ANIMAL
CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO EN SALUD
UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE
HOJA DE DATOS INDUCCION A DIBETES CON STZ**

DESCRIPCION GENERAL

SUSTANCIA DE ENSAYO: _____ VIA DE ADMINISTRACION: _____ N° DEL/LOS ANIMALES(ES): _____
SEXO: _____ ESPECIE: _____ CEPA: _____ EDAD: _____ FECHA: ___/___/___ CONCENTRACIÓN O DOSIS: CONTROL 1 [1]: _____
CONTROL 2[2]: _____ PATRON [3]: _____ TRATAMIENTO1 [4]: _____ TRATAMIENTO 2 [5]: _____ TRATAMIENTO 3 [6]: _____

Inducción a Diabetes mediante dosis de estreptozotocina

| Grupo 1 | Ident. Animal | Toma de valores de Glucemia | | | | Grupo 3 | Ident. Animal | Toma de Glucosa final | Grupo 5 | Ident. Animal | Toma de Glucosa final |
|-----------|---------------|-----------------------------|----------|----------|----------|--------------|---------------|-----------------------|--------------|---------------|-----------------------|
| | | Semana 1 | Semana 2 | Semana 3 | Semana 4 | | | | | | |
| Control 1 | A1 | | | | | Patrón | A1 | | Tratamient 2 | A1 | |
| | A2 | | | | | | A2 | | | A2 | |
| | A3 | | | | | | A3 | | | A3 | |
| | A4 | | | | | | A4 | | | A4 | |
| | A5 | | | | | | A5 | | | A5 | |
| | A6 | | | | | A6 | | | A6 | | |
| Grupo 2 | | | | | Grupo 4 | | | Grupo 6 | | | |
| Control 2 | A1 | | | | | Tratamient 1 | A1 | | Tratamient 3 | A1 | |
| | A2 | | | | | | A2 | | | A2 | |
| | A3 | | | | | | A3 | | | A3 | |
| | A4 | | | | | | A4 | | | A4 | |
| | A5 | | | | | | A5 | | | A5 | |
| | A6 | | | | | | A6 | | | A6 | |

Anexo 4. Compendio de actividad biológica de *Hamelia patens*. Fuente Raintree Nutrition 2004.

Actividad Biologica del Extracto Scarlet Bush (*Hamelia patens*)

| Part - Origin | Activity Tested For | Type Extract | Test Model | Dosage | Result | Notes/Organism tested | Ref # |
|---------------|-----------------------------------|--|------------|-----------------|--|---|--------|
| Leaf Panama | Toxicity Assessment(quantitative) | MeOH Ext | IP Mouse | LD50=1.54 Gm/kg | | | T14754 |
| Leaf Cuba | Antibacterial Activity | Acetone Ext Acetone Ext Acetone Ext Acetone Ext Acetone Ext Acetone Ext Acetone Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext ETOH(95%)Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext H2O Ext | Agar Plate | Not Stated | Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Inactive Active Active Active Active Active Active Active Inactive Inactive Inactive Active Active Active Active Active Active Inactive Inactive Inactive Inactive Active Active Active Active Active Active Inactive Inactive Inactive Inactive | <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella B</i> <i>Salmonella newport</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Sarcina lutea</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Shigella flexneri</i> <i>Staphylococcus albus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella newport</i> <i>Sarcina lutea</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> B213 <i>Salmonella B</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Staphylococcus albus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella B</i> <i>Salmonella typhi</i> <i>Sarcina lutea</i> | T16329 |

Anexo 5. Compendio de actividad biológica de los compuestos de *Hamelia patens*. **Fuente** Raintree Nutrition 2004.

Actividad Biologica de los Componentes de Scarlet Bush (*Hamelia patens*)

| Compound | Activity Tested For | Test Model | Dosage | Result | Notes/Organism tested | Ref # |
|---------------------------------|-------------------------------|---------------------|-----------------|------------------|---|--------|
| Isopteropodine | Glutamate Receptor Modulation | Rat Xenopus oocytes | Not stated | Inactive | | BV1009 |
| Pteropodine Isopteropodine | Current Response Inhibition | Rat Xenopus oocytes | 10 mM 10 mM | Active | Reduced EC(50) values of acetylcholine and serotonin that elicited current responses. | BV1009 |
| Pteropodine + Isopteropodine | Immunostimulating Activity | In vitro | 10(-2) - 10(-7) | Active | | BV1015 |
| Rosmarinic Acid | Immunosuppressive Activity | Mice | 50 mg/kg | Active | vs. collagen induced arthritis. | BV1010 |
| Rosmarinic Acid | Immunosuppressive Activity | In vivo In vitro | Not Stated | Active Active | vs. splenic T-cell proliferation. Prolonged skin graft survival in combination with rapamycin. | BV1011 |
| Rosmarinic Acid | Immunosuppressive Activity | In vitro | Not Stated | Active | Inhibited T-cell antigen receptor-induced interleukin 2 expression and subsequent T-cell proliferation. | BV1012 |
| Pteropodine + Isopteropodine | Amyloid Inhibition | In vitro | Not Stated | Active | | BV1014 |