

302927

5

Rey



UNIVERSIDAD FEMENINA DE MEXICO

ESCUELA DE QUIMICA
INCORPORADA A LA U.N.A.M.

ESTUDIO FARMACOLOGICO E HISTOLOGICO DEL
EXTRACTO ALCOHOLICO DE *Asclepias glaucensces*
(Oreja de liebre).

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

MARIA DE JESUS MUÑOZ ESPINAL



MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

Presidente: M. en C. Verónica Rodríguez López.
Vocal: Q.F.B. Esperanza Hernández Koellig.
Secretario: M. en C. Alma Miriam Novelo Torres.
Primer suplente: Q.F.B. Santiago Salazar López.
Segundo suplente: M. en C. Lino Joel Reyes Trejo.

Sitio donde se desarrollo el tema:

Departamento de Farmacia, Sección de Fittoquímica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional.

Asesoras externas: Dra. Estela Meléndez Camargo
Q.F.I. Blanca Berdeja Martínez
Q.B.P. Julieta Herrera Martínez

Asesora interna: M. en C. Alma Miriam Novelo Torres

Sustentante: María de Jesús Muñoz Espinal

Gracias Señor

Por darme la vida, la salud, la fuerza y la firmeza para continuar adelante aún en los momentos más difíciles y tristes de mi existir, porque con tu ayuda pude cruzar barreras y alcanzar objetivos. Gracias Señor por estar siempre conmigo.

A mis Padres.

Gracias le doy a mis Padres, Rosendo Muñoz Juárez y Natalia Espinal González,, porque a lo largo de mi vida me han proporcionado lo más que han podido, permitiéndome alcanzar el objetivo por el que juntos luchamos. Este trabajo es la síntesis de tres esfuerzos unidos, el reflejo parcial de una lucha constante cuyo único objetivo fue proporcionar una vida más digna y larga a mi Padre. Sin embargo, pese a nuestros esfuerzos él se fue, y aunque a mi lado ya no está quiero decirle: Gracias Papá por el amor con que me recibiste al nacer, y el dolor con que me dejaste al fallecer. Gracias por tu trabajo que aunado a infinitos sacrificios me permitieron terminar la Universidad. Gracias por tu ternura,, educación, paciencia y comprensión que me permitieron alcanzar nuestro objetivo, por todo ello y mucho más, Gracias Papá porque Tu Amor y Mi Amor a pesar de la distancia no nos separará jamás.

A mis Asesoras Externas

Le doy las gracias a mis asesoras externas la Dra. Estela Meléndez Camargo, la Q.F.I. Blanca Berdeja y la Q.B.P. Julieta Herrera, por el apoyo moral, intelectual y económico que me brindaron lo que hizo posible el desarrollo y conclusión del trabajo experimental que aquí se presenta.

A mi Asesora Interna y demás Profesores.

Le doy las gracias a mi asesora interna, Alma Miriam Novelo Torres, y a todos los Profesores que conocí a lo largo de nueve semestres de formación profesional por obsequiarme parte de su conocimiento, tiempo, paciencia y amistad, regalos que me permitieron iniciar y terminar la presente Tesis.

En general quiero dar las gracias a todas las personas, familiares y amigos, que de una u otra forma se han mantenido a mi lado proporcionándome constantemente su apoyo.

A mi novio Juan Manuel García Hernández, por quien siento un cariño muy especial, y de quien espero seguir teniendo su apoyo por mucho tiempo más.

INDICE

Lista de figuras.....	III
Lista de cuadros.....	III
Lista de Gráficas e Histogramas.....	V
Introducción.....	VI
1.- Antecedentes.....	1
1.1.- Generalidades sobre la familia Asclepiadeaceae.....	1
1.2.- Características etnobotánicas de la especie <i>Asclepias glaucescens</i>	5
1.2.1.- Estudios fitoquímicos y farmacológicos realizados sobre <i>Asclepias glaucescens</i>	7
1.3.- Generalidades sobre la <i>Diabetes Mellitus</i>	9
1.3.1.- Definición de la <i>Diabetes Mellitus</i>	9
1.3.2.- Clasificación de la <i>Diabetes Mellitus</i>	9
1.3.3.- Factores Desencadenantes de la <i>Diabetes Mellitus</i>	12
1.3.4.- Complicaciones (Crónicas y Agudas).....	14
1.3.5.- Tratamiento de la <i>Diabetes Mellitus</i>	20
2.- Parte Experimental.....	29
2.1.- Material vegetal.....	29
2.1.1.- Preparación del extracto orgánico.....	29
2.1.2.- Evaluación fitoquímica preliminar.....	29
2.1.2.1.- Identificación de azúcares.....	29
2.1.2.2.- Identificación de cumarinas.....	29
2.1.2.3.- Identificación de glucósidos cardíacos.....	30
2.1.2.4.- Identificación de flavonoides.....	30
2.1.2.5.- Identificación de Quinonas.....	30

2.1.2.6.- Identificación de sesquiterpenlactonas.....	31
2.1.2.7.- Identificación de taninos.....	31
2.1.2.8.- Identificación de saponinas.....	31
2.1.2.9.- Identificación de glicósidos clonogénicos.....	32
2.1.2.10.- Identificación de alcaloides.....	32
2.2.- Preparación del Material Biológico.....	32
2.3.- Estudio Farmacológico (Tratamiento).....	34
2.4.- Estudio Histológico.....	34
3.- Resultados.....	38
3.1.- Evaluación fitoquímica preliminar.....	39
3.2.- Evaluación farmacológica.....	41
3.2.1.- Tratamiento de ratas sanas.....	41
3.2.2.- Tratamiento de ratas diabetizadas.....	42
3.3.- Evaluación Histológica.....	45
3.3.1.- Observación del tejido Pancreático.....	45
3.3.1.1.- Análisis Histológico en ratas sanas.....	45
3.3.1.2.- Análisis Histológico en ratas diabetizadas.....	46
3.3.2.- Observaciones en los tejidos Cardíaco y Pulmonar.....	48
3.3.2.1.- Análisis Histológico en ratas sanas.....	48
3.3.2.2.- Análisis Histológico en ratas diabetizadas.....	49
4.- Análisis y Discusión de Resultados.....	52
5.- Conclusiones.....	64
ANEXOS.....	66
Bibliografía.....	70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.- Estructura Básica de los Glicósidos Cardíacos.....	2
Figura 2.- Mecanismo de acción de la hormona insulina a nivel del receptor de membrana.....	24

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1.- Metabolitos Secundarios aislados de distintas especies pertenecientes a la Familia Asclepiadaceae.....	4
Cuadro 2.- Características Etnobotánicas de la especie <i>Asclepias glaucescens</i>	6
Cuadro 3.- Estudio preliminar del potencial farmacológico en <i>Asclepias glaucescens</i>	8
Cuadro 4.- Plantas Utilizadas en el tratamiento tradicional de la <i>Diabetes mellitus</i>	26
Cuadro 5.- Dosis de Aloxana para diabetizar el material biológico.....	33
Cuadro 6.- Condiciones del experimento (Tratamiento).....	34
Cuadro 7.- Evaluación Fitoquímica preliminar de la especie <i>Asclepias glaucescens</i>	39
Cuadro 8.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas sanas sin tratamiento.....	41
Cuadro 9.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas sanas con tratamiento (dosis: 8.35 mg/ día/ rata).....	41
Cuadro 10.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas sanas con tratamiento (dosis: 33.40 mg/ día/ rata).....	42
Cuadro 11.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 8.35 mg/ día/ rata).....	42
Cuadro 12.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 16.70 mg/ día/ rata).....	43
Cuadro 13.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 25.05 mg/ día/ rata).....	43
Cuadro 14.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas diabetizadas (dosis: 25.05 mg/día/rata; tratamiento de cinco semanas).....	44

Cuadro 15.- Niveles de glucosa en sangre (mg/ dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 33.40 mg/ día/ rata).....	44
Cuadro 16.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas sanas sin tratamiento.....	45
Cuadro 17.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas sanas con tratamiento (dosis 8.35 mg/ día/ rata).....	45
Cuadro 18.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas sanas con tratamiento (dosis 33.40 mg/ día/ rata).....	45
Cuadro 19.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 8.35 mg/ día/ rata).....	46
Cuadro 20.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 16.70 mg/ día/ rata).....	46
Cuadro 21.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 25.05 mg/ día/ rata).....	47
Cuadro 22.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 33.40 mg/ día/ rata).....	47
Cuadro 23.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de ratas sanas sin tratamiento.....	48
Cuadro 24.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de ratas sanas con tratamiento (dosis: 8.35 mg/ día/ rata).....	48
Cuadro 25.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de ratas sanas con tratamiento (dosis: 33.40 mg/ día/ rata).....	49
Cuadro 26.- Evaluación Histológica en tejido pulmonar y cardíaco de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 8.35 mg/ día/ rata).....	49
Cuadro 27.- Evaluación Histológica en tejido pulmonar y cardíaco de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 16.70 mg/ día/ rata).....	50

Cuadro 28.- Evaluación Histológica en tejido pulmonar y cardiaco de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 25.05 mg/ día/ rata).....	50
Cuadro 29.- Evaluación Histológica en tejido pulmonar y cardiaco de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento: 33.40 mg/ día/ rata).....	51
Cuadro 30.- Evaluación Histológica (observaciones realizadas en tejidos pancreático, cardiaco y pulmonar).....	56

LISTA DE GRAFICAS E HISTOGRAMAS

Gráfica 1.- Niveles séricos de glucosa en rata sana, con y sin tratamiento.....	58
Gráfica 2.- Tendencia del potencial farmacológico del extracto alcohólico de <i>A. glaucensces</i> (en rata sana con y sin tratamiento).....	59
Gráfica 3.- Niveles séricos de glucosa en rata sana sin tratamiento y diabetizada bajo tratamiento (dosis 16.70 y 25.05 mg/día/rata).....	60
Gráfica 4.- Tendencia del Potencial Farmacológico del Extracto Alcohólico de <i>A. glaucensces</i> (en rata sana sin tratamiento y diabetizada bajo tratamiento).....	61
Histograma 1.- Analisis Histológico del Tejido Cardiaco y Pulmonar (efectos ocasionados por el extracto alcohólico de <i>A. glaucensces</i> en rata sana).....	62
Histograma 2.- Analisis Histológico del Tejido Cardiaco y Pulmonar (efectos ocasionados por el extracto alcohólico de <i>A. glaucensces</i> en rata diabetizada).....	63

INTRODUCCION

La diabetes mellitus es una enfermedad mortal que ocupa uno de los primeros lugares de incidencia poblacional. El mejorar la vida de un paciente diabético tiene una enorme importancia a niveles sociomédicos y políticos sanitarios, tal que, impulsa a las ciencias médicas y, a la biotecnología, a desarrollar terapias nuevas o mejorar las ya existentes para el tratamiento de la diabetes mellitus (dependiente y no dependiente de la insulina). Los avances logrados hasta la actualidad, dentro de este campo, son inmensos e importantes. Sin embargo, no se ha encontrado una solución para la cura total de esta enfermedad. Por esta razón continúa la búsqueda de medicamentos con propiedades hipoglucemiantes que superen a los existentes, o agentes con los que se logre la recuperación total de un paciente con diabetes (1).

La identificación y purificación de la molécula de insulina representa uno más de los episodios importantes y bellos de las ciencias biomédicas. El éxito se obtuvo cuando dos médicos, Canadenses Frederick Grant Banting y Charles Herbert, aislaron la insulina del páncreas de un perro. Ataron quirúrgicamente el conducto pancreático del animal vivo y esperaron siete semanas antes de sacrificarlo para poder extraer la hormona de su páncreas. Desde entonces, y hasta mediados de los años 80's, millones de personas en el mundo controlaron su diabetes con insulina derivada y extraída de animales, sobre todo, de origen porcino. Actualmente, se aprobó el uso clínico de la molécula de insulina humana recombinante, sintetizada por medio de la bacteria *Escherichia coli*, y cuya patente pertenece a la empresa norteamericana Eli Lilly. Este hecho permite que millones de pacientes se inyecten a diario hormona insulina de exacta e idéntica secuencia de aminoácidos a la elaborada por el páncreas humano. La síntesis de insulina en conjunto con otras hormonas (hormona del crecimiento), constituyen nuevos éxitos clínicos y científicos en el reciente campo de la investigación biotecnológica a nivel industrial. Más aún, la lista se agranda constantemente (47).

Además del campo biotecnológico, la búsqueda de nuevos medicamentos se realiza dentro del reino vegetal, debido a la gran diversidad de especies de plantas con propiedades medicinales, que potencialmente contienen sustancias de valor terapéutico y que aún están por descubrirse. Las plantas son usadas popularmente como una alternativa terapéutica (planta entera, hojas, tallos, raíz o frutos). Los extractos completos preparados, no únicamente contienen al principio activo de interés farmacológico sino que también se pueden encontrar asociados con otras sustancias, con un efecto sinérgico, ya sea ayudando o potenciando la acción farmacológica; o bien, pueden actuar antagónicamente llegando incluso a anular dicha acción (1).

El efecto terapéutico de algunas plantas es importante y efectivo siempre y cuando se usen adecuadamente, ya que aún los medicamentos de origen vegetal son tóxicos e incluso pueden llegar a ser venenosos. Por otra parte, se sabe que muchos componentes de las plantas son inestables, pudiendo sufrir cambios ya sea por efecto de las enzimas, por el calor o por la humedad durante el proceso de desecación. A veces estos cambios son muy complejos por lo que las condiciones de estos procesos deben controlarse estrictamente (1).

El estudio de plantas medicinales para tratar de evitar la diabetes, o minimizar los efectos de esta, se encuentran en auge descubriéndose a través de las investigaciones etnobotánicas algunas plantas de las cuales además de disminuir los niveles de glucosa en sangre, tienen otros efectos que mejoran las condiciones de vida del paciente diabético (1), tal es el caso de la planta cultivada en la India *Gymnema sylvestre*, perteneciente a la familia Asclepiadaceae. Esta especie vegetal ha sido objeto de estudio sobre su acción hipoglucemiante en ratas diabetizadas, observándose que dicha acción se debe a un efecto regenerador de los islotes de Langerhans e incremento de las células beta del tejido pancreático (2).

En varias regiones del Valle de México, crece una planta perteneciente al género *Asclepias* (Asclepiadaceae) para la cual se ha reportado su utilización en caso de diabetes, existiendo además un estudio farmacológico que muestra su efecto sobre la glucemia (4). Se

le conoce con el nombre popular de oreja de liebre (Malinalco), señorita (Sinaloa), oreja de mula (Sonora), entre otros. Su nombre científico es *Asclepias glaucescens* (5).

Considerando la posible relación filogenética con *Gymnema sylvestre*, y utilizando un modelo biológico en ratas, se planteó retomar el estudio farmacológico de *Asclepias glaucescens*, a fin de confirmar la actividad del potencial hipoglucemiante, además de realizar un estudio histológico que permita observar algún efecto regenerador a nivel pancreático.

Con la esperanza de encontrar una planta que provoque la regeneración del tejido pancreático afectado en la diabetes, se desarrolló la presente investigación. A fin de evaluar, primeramente, la veracidad del efecto hipoglucemiante que se reporta para *Asclepias glaucescens* (4) y, posteriormente, poder determinar un posible mecanismo de acción. Esperando que la presente investigación pueda marcar una pauta para investigaciones posteriores, tales como:

Estudiar el efecto de la planta en una población diabética (tanto en diabetes insulina dependiente, como en diabetes no insulina dependiente).

Establecer el mecanismo real de acción de *Asclepias glaucescens*, entre otras investigaciones.

OBJETIVOS DEL PRESENTE ESTUDIO

Objetivo General:

Determinar el potencial hipoglucemiante del extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens* sobre rata diabetizada y normal, complementando con un análisis histológico del tejido pancreático.

Objetivos particulares:

- 1.- Evaluar el potencial hipoglucemiante del extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens*.
- 2.- Realizar un estudio histológico en páncreas para observar un posible efecto regenerador de las células β .
- 3.- Complementar el estudio histológico observando tejido cardíaco y pulmonar.

1.- Antecedentes.

1.1.- Generalidades sobre la familia Asclepladaceae.

Dentro de diversos estudios realizados tanto a nivel Internacional como nacional, se han encontrado reportes de varias familias de plantas que han sido objeto de varios estudios etnofarmacológicos y fitoquímicos, debido a las propiedades terapéuticas que han presentado algunos de sus metabolitos secundarios aislados. Entre algunos de estos grupos de plantas encontramos a la familia Asclepladaceae, a la cual pertenecen aproximadamente unos 300 géneros y 1800 especies vegetales de la clase fanerógamas, subclase angiospermas y de orden dicotiledóneas. Son arbustos generalmente de clima tropical y subtropical de América, con frecuencia trepadoras frutales bejucos o hierbas perennes, con hojas opuestas o verticiladas, sin estípulas y con flores solitarias o en corimbo, el polen es trinucleado y el endosperma de tipo nuclear (6).

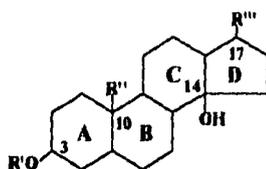
El común denominador entre las plantas pertenecientes a esta familia, es la presencia de una sustancia de aspecto lechoso y blanquesino que se ha denominado látex. Esta sustancia, es rica en triterpenos, y se deposita en unas células denominadas latexíferas. Otros constituyentes identificados son alcaloides del tipo del indol y la fenantroindolcina.

La familia Asclepladaceae se destaca por su efecto sobre el corazón, lo cual es debido a la presencia de los glicósidos cardíacos que son sustancias derivadas de esteroides, y de sabor amargo, que actúan sobre el corazón. La actividad farmacológica de los glicósidos cardíacos es debida a la presencia de un anillo lactónico insaturado de cinco a seis miembros en la posición 17 y un grupo hidroxilo en los carbonos 14 y 3 al cual va unida la porción de azúcar (metil pentosas y desoxiazúcares), los anillos C y D deben estar en posición cis (6) (figura 1).

Los glicósidos cardíacos del tipo cardenólidos se han encontrado presentes, en altas concentraciones, en algunas especies del género *Asclepias* (*Asclepias eriocarpa*, *A. labriformis* y *A. curassavica*), las estructuras de los cardenólidos identificados en *A. eriocarpa* y *A. labriformis*, han sido determinadas parcialmente y son la labriformidina

($C_{31}H_{39}O_{10}$), la labriformina ($C_{29}H_{36}O_{11}$) y la erlocarpina. Además, en especies *Hemidemus indicus* y en los folículos de *Leptademia reticulata* se ha reportado la presencia de glicósidos flavónicos, distribuidos en forma de quercentina, Kaempferol y flavonoles (6).

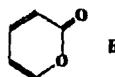
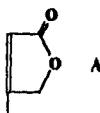
Figura 1.- Estructura básica de los glicósidos cardiacos.



$R' = OH$ u O -azúcar.

$R'' = CH_2CHO$ o CH_2OH .

$R''' =$ cardenólido(A) o bufadienólidos(B).



El género *Asclepias* esta conformado de plantas herbáceas las cuales son generalmente nativas de América, y contienen un jugo lechoso. Varias especies son cultivadas por el aprecio que se tiene a sus flores ostentosas, todas ellas son marginalmente venenosas (7).

Entre algunas de las plantas pertenecientes a este género y para las cuales se han reportado usos terapéuticos dentro de la medicina tradicional encontramos a las siguientes especies (7):

Asclepias curassavica.- Es empleada en el occidente de la India como un hemético, y se le conoce con el nombre de Ipecacuana.

Asclepias tuberosa.-Tiene propiedades purgativas y promueve una buena respiración y expectoración.

Asclepias acida (Planta Soma): De esta planta se habla en la mitología Hindú y es considerada como la reina de las plantas; es una medicina que da salud, vida larga y elimina la mortalidad.

La raíz y hojas de las tres especies anteriores son de sabor acre, contienen un aceite volátil, una sustancia amarga y otra igual que el alcanfór.

Asclapias syriaca.- La planta es usada popularmente en EEUU debido a las propiedades caimantes su raíz y el rizoma. La raíz ha sido empleada, continuamente, como en el caso *A. tuberosa*, en forma de polvo e infusión en casos de asma y fiebre tifoidea (acompañadas de catarro), produciendo expectoración y calmando la tos. También ha sido usada contra la escrófula con gran éxito.

Esta especie contiene una sustancia cristalina de consistencia resinosa estrechamente relacionada a lactucone y llamada ascleplone; también contiene sustancias grasas, goma, azúcar, sales de ácido acético y de otro tipo.

Asclepias verticillata.- Es usada en los estados del sur como un remedio contra el efecto de las mordeduras de víbora y de los piquetes de insectos venenosos; causa una acción calmante y sudorífica seguida de sueño apasible.

De los diferentes géneros y especies de la familia Asclepladaceae se han aislado y caracterizado distintos metabolitos secundarios. El cuadro I presenta algunos ejemplos.

Cuadro 1.- Metabolitos secundarios aislados de distintas especies pertenecientes a la familia Asclepiadaceae.

Planta	Grupo químico aislado	Nombre del constituyente	Uso
<i>Marsdenia rostrata</i>	Alcaloides. Alcaloides esteroidales	rostratamina. rostratina y dihidrorostratina anabacina	no reportado (9)
<i>Marsdenia tomentosa</i>	Alcaloides.	tomentomín. gagamínín.	no reportado (8)
<i>Marsdenia volubilis</i>	Flavonol.	quercentína y azúcares	Industrial (12)
<i>Stephanotis japonica</i>	Esteres N-metil antranilólos.	stenfantranilinas C y A	no reportado (8)
<i>Asclepias linaria</i>	Cardenólidos.	Triacontane, sitosterol, β -taraxasteryll-acetato y ácido oleanólico (partes aéreas), taraxasteryllacetato y ácido oleanólico (partes aéreas).	Medicinal (14)
<i>Asclepias speciosa</i>	Polímeros vegetales y triterpenos Cardenólidos.	Lignina y celulosa. Acetatos α y β , α y β amirín (en látex) y clspolísopreno (11). desglucosíloside (13).	Industrial y Medicinal
<i>Asclepias syriaca</i>	Triterpenos.	Acetato de α y β amirín	Industrial y Medicinal (11)
<i>A. curassavica</i>	Triterpenos, polímeros vegetales, y cardenólidos.	acetato de α y β amirín, lignina y celulosa (10), calotropagenina, calactina, calotropina, calotoxina, voruscarina, N-S, uscarina y ozarigenina (13).	Medicinal e Industrial
<i>Asclepias eriocarpa</i>	cardenólidos.	labriformina, labriformida y desglucosílosida.	Medicinal (13)
<i>Asclepias vestita</i>	cardenólidos.	calotropagenina, calactina, calotropina, calotoxina y uscarina	Medicinal (13)
<i>Asclepias cordifolia</i>	cardenólidos.	calactina, calotropina, calotoxina y uscarina y voruscarina	Medicinal (13)
<i>A. erosa</i> y <i>A. labriformis</i>	cardenólidos.	labriformina	Medicinal (11, 13)
<i>Cynanchum atratum</i> ("pai-wei")	oligoglicósidos.	Cinantosida A, B, C, D y E	Medicinal (antifebril y antidiurético) (10)
<i>C. glaucescens</i> ("Pai-Ch"ien")	oligoglicósidos	glucogenina-C	Medicinal (antitusivo y expectorante) (10)

1.2.- Características Etnobotánicas de la especie *Asclepias glaucescens*.

Asclepias glaucescens H.B.K. es una planta nativa en zonas de bosques de pinos y encinos. Se distribuye geográficamente en el Salvador, Guatemala, Costa Rica y México, se conoce como "matacoyote" (Guatemala), jicara (Salvador); oreja de burro (Costa Rica), y oreja de llebre (Edo. de Méx.). En Malinalco es utilizada por los habitantes como remedio en caso de catarro o sinusitis. La planta produce un látex blanco al que se le atribuye la propiedad descongestionante para las vías respiratorias superiores. Otras fuentes de información reportan la utilización de esta especie en caso de dolor de cabeza, empleándose en forma de chiquiladores, y también el uso de la planta entera en caso de diabetes (3).

La familia Asclepladaceae es conocida por su rico contenido de glicósidos cardíacos (5). No obstante, existen reportes empíricos sobre el potencial hipoglucemiante de *Gymnema sylvestre*, especie considerada dentro de dicha familia, en las investigaciones realizadas se ha observado la regeneración de los islotes de Langerhans en ratas diabetizadas (2).

En base a todos estos antecedentes se decidió evaluar el potencial farmacológico de *Asclepias glaucescens*, lo que permitirá determinar si esta especie medicinal posee propiedades semejantes a *Gymnema sylvestre*, considerado como premisa una posible relación filogenética. En consecuencia, se propone realizar la evaluación del potencial hipoglucémico de *Asclepias glaucescens* por métodos clínicos e histológicos. El cuadro 2 presenta las características etnobotánicas de esta especie vegetal.

Cuadro 2.- Características etnobotánicas de la especie
Asclepias glaucescens H.B.K. (6).

Familia	Asclepiadaceae
Nombre Científico	Género: <i>Asclepias</i> Especie: <i>glaucescens</i>
Nombre vulgar	gülevada (Oaxaca), palo hulsí (Chihuahua), señorita (Sinaloa), oreja de mula (Sonora), oreja de liebre (Mallinalco, Edo. de México).
Descripción	Crece como maleza en terrenos baldíos muy soleados; es una planta anual de color pardo verdosos de aproximadamente 80 cm de altura, de tallos volubles con tubos laticíferos, de hojas compuestas, flores blanco amarillentas disépala, con corola provistas de apéndices en umbela, frutos compuestos de un carpelo simple, con folículo dehiscente longitudinalmente y semillas redondeadas de largos pelos sedosos. La raíz es de aproximadamente 60 cm de largo o más y muy profunda, de color café claro.
Distribución	Crece en bosques de pino-encino; es vegetación secundaria (ruderal). Se le encuentra en el Salvador, Guatemala, Costa Rica y México.
Usos	Hipoglucemiante (Veracruz), hipotensivo y descongestionante (Mallinalco).

1.2.1.- Estudios fitoquímicos y Farmacológicos de *Asclepias glaucescens*.

Como ya se mencionó, el común denominador de las especies pertenecientes al género *Asclepias* es la producción de un látex, el cual ha sido objeto de muchos estudios debido a las propiedades biológicas que se le atribuyen dentro de la medicina tradicional. Del látex y, en menor proporción, de las partes aéreas de *Asclepias glaucescens* se aislaron los acetatos de taraxaesterol, Ψ -taraxaesterol y el glicósido cardíaco labriformina (15).

Otros estudios realizados permitieron el aislamiento de una enzima polimórfica, denominada *Asclepaina G* que presenta actividad proteolítica (16, 17, 18).

Un análisis fitoquímico preliminar efectuado en el látex de la oreja de liebre, permitió detectar la presencia de alcaloides, flavonoides, glicósidos cardíacos y azúcares. En el mismo estudio la evaluación farmacológica demostró una actividad relajante para los músculos lisos de tráquea y bronquios en ratas. Además, se observó un efecto cardiotónico positivo en una preparación cardíaca de tortuga *in situ*, y en artejo de rana produjo una vasoconstricción periférica (5).

En un estudio cualitativo sobre el contenido de alcaloides se utilizaron los extractos acuosos de la planta fresca y seca, y el extracto alcohólico de la planta seca. Se reportó la presencia de alcaloides y la evaluación de ensayos sobre actividades farmacológicas diferentes. El cuadro 3 presenta los resultados obtenidos en este estudio farmacológico (4).

El estudio fitoquímico preliminar sobre el extracto alcohólico de la raíz de *Asclepias glaucescens*, demostró la presencia de alcaloides, flavonoides, glicósidos cardíacos, azúcares reductores y taninos. La evaluación farmacológica en este estudio, realizadas en aurículas de cobayo aisladas, permitió observar una actividad potencial cardiotónica al presentarse un aumento en la frecuencia cardíaca y en la fuerza de contracción, causada por los glicósidos cardíacos. Además, se presentaron arritmias cardíacas sin recuperación del músculo cardíaco ante exposiciones prolongadas. En esta investigación se concluyó la posible utilidad de la raíz en el tratamiento de insuficiencia y arritmias cardíacas (6).

Cuadro 3.- Evaluaciones del potencial farmacológico en *Asclepias glaucescens* (4).

Estudio farmacológico.	Material vegetal		
	Extracto de la planta seca	Extracto alcohólico de la planta	Extracto acuoso de la planta seca
Porcentaje de rendimiento (%).	4.4(fresca)	15.2(seca)	42.7(seca)
Tolerancia por vía intravenosa a 2mg/10g de peso en ratón ^a .	M	M	Bn
Frecuencia respiratoria en conejos sin anestésicar.	X
Influencia sobre el efecto del cardiasol en ratas sin anestésicar	XXX	XXX	XX
Glucemia en conejos sin anestésicar.	no	XXX	..
Diuresis en ratas sin anestésicar según la prueba de Burn.	no	...	++
Acción sobre la presión arterial en gato anestésicado.	+.	+	+
Modificación en la amplitud respiratoria, en gato anestésicado ^b .	no	no	no
Acción sobre corazón aislado de rana, en preparación de Clark: amplitud de las contracciones; frecuencia.	—	—	—
Acción sobre leon aislado de cobayo.	++	+	+
Acción sobre útero de rata	XX
Prueba de Tredelenburg en rana (órganos aislados)	XX
Efecto antihistamínico, expresado como resumen de las pruebas efectuadas con animal anestésicado e leon de cobayo	no	no	no
Interés farmacológico de extracto	si	no	no

a: (Bn=buena, R=regular, M= mala).

b: + (hipertensión);- (hipotensión).

1.3.- Generalidades sobre la Diabetes Mellitus.

1.3.1.- Definición de la Diabetes mellitus

La Diabetes Mellitus es un trastorno crónico del metabolismo de los hidratos de carbono producido por una deficiencia relativa o absoluta de insulina o de un trastorno en el efecto biológico de la misma (19). Esta enfermedad es caracterizada por hiperglucemia, poliuria, glucosuria, polidipsia (que dependen del grado de hiperglucemia pudiendo ser nulas o evidentes) (20) y alteraciones en el metabolismo de las grasas y las proteínas. Se le considera un síndrome y sus causas pueden ser diferentes (21).

Los síntomas a largo plazo están relacionados con las complicaciones que se van presentando, las cuales dependen fundamentalmente del tipo de evolución de la enfermedad y del grado de hiperglucemia (20).

1.3.2.- Clasificación de la Diabetes Mellitus

A) Diabetes Mellitus insulino-dependiente o Tipo 1.

Aparece generalmente antes de los treinta años de edad (diabetes juvenil, propensa a la cetosis, inestable); clínicamente el comienzo de la enfermedad es habitualmente brusco, y se caracteriza en general por un inicio súbito de polidipsia, poliuria, y polifagia que progresan rápidamente. La secreción de insulina está francamente disminuida, estos escasos o nulos niveles de insulina endógena son responsables de la gravedad de las manifestaciones clínicas y de la tendencia a la aparición de una cetoacidosis diabética. Algunos de estos pacientes presentan una fase de remisión de la enfermedad que se caracteriza por una disminución de los requerimientos de insulina, y la cual puede durar desde algunas semanas hasta varios meses y al final de dicha fase se presenta un aumento en el requerimiento de insulina. Por definición sólo se incluyen los sujetos que dependen en forma permanente de insulina para controlar la hiperglucemia (20, 22).

B) Diabetes Mellitus no insulino-dependiente Tipo 2 (Asociada o no con la obesidad).

Aparece generalmente después de los cuarenta años (diabetes mellitus del adulto, resistente a la cetosis ect), aunque no es excepcional su presentación en jóvenes. El comienzo de la enfermedad suele ser insidioso y es frecuente que haya obesidad; El tiempo que transcurre entre el inicio real y el diagnóstico puede ser muy dilatado. Este fenómeno es debido a que las manifestaciones clínicas pueden ser muy escasas (un poco más de sed, sensación de cansancio, levantarse por la noche a orinar, etc.) o incluso nulas. Estos pacientes no requieren de insulina y en muchas ocasiones una dieta bien realizada y/o hipoglucemiantes es suficiente para corregir la hiperglucemia. Por definición los pacientes no necesitan insulina exógena para corregir la hiperglucemia, ya que tienen insulina circulante que incluso puede encontrarse en niveles supranormales en algunas condiciones (20, 22).

C) Diabetes Mellitus manifestaciones varias.

I.- Diabetes gestacional.- Se refiere al surgimiento "de novo" de intolerancia a los carbohidratos durante la gestación y que tal anomalía cesa al terminar el embarazo, aunque algunas de estas pacientes (antecedentes familiares de diabetes, obesas, edad avanzada, etc.) llegan a desarrollar diabetes mellitus tipo 2 en el transcurso de los siguientes diez años (22).

II.- Diabetes asociada o secundaria.- Se refiere a un conjunto de situaciones en las cuales la diabetes acompaña a otras enfermedades o es secundaria a ellas.

Ila) Destrucción pancreática: En la que se reduce la secreción de insulina, como ocurre en los casos de pancreatitis, pancreatectomía, fibrosis quística, etc.

Ilb).- Exceso de hormonas antagonistas a la insulina: como la enfermedad de Cushing, acromegalia, glucagonoma, etc., puede asociarse con la diabetes.

Ilc) Fármacos de tipo tiazidas, diuréticos, glucocorticoides y agentes adrenérgicos, pueden causar diabetes o intolerancia a los carbohidratos.

II d) Genéticos: Existe una variada patología, como la miotomía distrófica, síndromes de Turner, Klinefelter, que tienen mayor incidencia de diabetes.

II e) Otras categorías incluyen la acantosis nigricans, en donde existen anticuerpos en contra de los receptores de insulina, así como algunas mujeres con hirsutismo y ovarios quísticos que tienen una población disminuida de receptores para la insulina (20, 22).

III.- Intolerancia a la glucosa (Diabetes mellitus asintomática, química o latente).

Corresponde a personas que no tienen una curva de glucemia normal, pero que tampoco muestran cifras suficientemente elevadas para ser diagnosticadas como diabéticas (una tolerancia de la glucosa intermedia entre la normal y la diabética).

Lo más característico es que la alteración no necesariamente empeora con el tiempo, sino que puede quedar igual o incluso mejorar (19, 20).

IV.- Anomalia previa de tolerancia a la glucosa.

Se refiere a personas que han tenido alteraciones en su curva de glucemia en determinadas situaciones (después de un infarto agudo de miocardio, o traumatismo, cuando tomaban algunos medicamentos, etc.), pero que una vez resuelta esta situación muestran tolerancia a la glucosa dentro de los límites de la normalidad. Esta situación constituye un riesgo para la diabetes (20).

V.- Anomalia potencial de tolerancia a la glucosa (19).

Personas que nunca han presentado tolerancia anormal a la glucosa pero que poseen riesgo elevado de desarrollar diabetes, tales casos son:

Para tipo 1:

a) sujetos con anticuerpos frente a las células de los islotes.

b) Familiar o descendiente de un diabético tipo 1.

Para tipo 2,

c) Ser gemelo monocigoto de un paciente, pariente en primer grado.

d) Individuos obesos y ciertos grupos étnicos.

e) Ser pariente en primer grado.

1.3.3.- Factores Desencadenantes de la Diabetes Mellitus (23).

En términos generales toda agresión síquica o psicoafectiva puede ejercer una acción desencadenante, pero cuatro factores tienen una importancia particular:

- a) La sobrealimentación que es causa de obesidad.
- b) Las condiciones sociales, por ser la diabetes una enfermedad de la población urbana y sedentaria.
- c) Infecciones microbianas y virales, especialmente las que afectan al páncreas (parotiditis, hepatitis viral ictérgica).
- d) Algunos medicamentos, tales como corticosteroides.

Agentes causales de la Diabetes Insulino Dependiente

En particular, existen tres factores causales en mayor o menor grado de la diabetes mellitus insulino dependiente que son:

1.- Herencia.- Es sabido que es más frecuente que esta enfermedad se produzca cuando hay antecedentes familiares que cuando no existen, la enfermedad puede aparecer en cualquier momento de la vida y no existe un marcador genético que permita el seguimiento de la transmisión del gen o genes diabetógenos en familias o grupos de población. La herencia predispone fuertemente a padecer la enfermedad, pero no la condiciona totalmente, siendo necesaria la presencia de otros factores (19, 20).

2.- Autoinmunidad: La posesión de determinadas dotaciones HLA conlleva un riesgo relativo superior para la diabetes juvenil. Sin embargo la sospecha de que la diabetes mellitus insulino dependiente es autoinmunitaria se evidenció cuando Botazzo demostró la presencia de ICA (Anticuerpos contra las células de los islotes) en la sangre de pacientes afectados de diabetes mellitus insulino-dependiente al inicio de la enfermedad (20).

Los ICA son inmunoglobulinas G que se encuentran en el 85% de DMI-D al inicio de la enfermedad (este grupo de pacientes ICA-persistente, está relacionado con el antígeno DR3/ B8).

3.-Virus: Desde hace un centenar de años existe evidencia indirecta de que los virus pueden desempeñar algún papel en la etiología de la diabetes. No obstante, la comprobación definitiva de que al menos en algunos casos la diabetes puede ser producida por un virus se obtuvo cuando Yoon y col. aislaron un virus del páncreas de un joven diabético que había fallecido al iniciar la enfermedad. Este virus era un coxsackie B₄

Los virus que se consideran implicados en la etiología de la diabetes son: el de la rubeola, la parotiditis, encefalomielit, y coxsackie B₄ (20).

Agentes causales de la Diabetes mellitus no Insulino dependiente.

Para el caso particular de la diabetes Mellitus no Insulino dependiente los factores causales son fundamentalmente:

1.- Herencia: Al igual que para la diabetes tipo 1, para la diabetes mellitus no insulino dependiente la herencia demuestra un papel determinante, sin embargo es sabido que la diabetes tipo 2 muestra una agregación familiar más marcada que la diabetes tipo 1, de modo que la posibilidad de transmitir a un hijo la enfermedad es más elevada que para la diabetes tipo 1, quien tendrá un 10% de probabilidad de padecer la forma clínica y un 25% para tener intolerancia a la glucosa (20).

2.- Factores ambientales: En los individuos portadores de genes diabetógenos, diversos factores ambientales tales como el peso corporal (a mayor índice de masa corporal mayor porcentaje de diabetes), embarazo por dos razones: aumenta el trabajo metabólico del páncreas materno y, por otro lado, de alguna manera provoca un estado de resistencia a la insulina; agentes infecciosos, el aumento de la longevidad de la población en general, y de los diabéticos en particular, el sedentarismo, el estrés crónico, el consumo de azúcares refinados y hasta el hiperinsulinismo, el cual es también responsable de una insulina resistencia relativa, que contribuirá a la fácil aparición de diabetes en el momento de una mayor y más frecuente ingesta de carbohidratos de absorción rápida (19, 20).

En resumen, la resistencia a la insulina, característica común de la diabetes mellitus no Insulino dependiente, puede ser debida a una disminución de los receptores de Insulina, a una alteración de los efectos postreceptor de la Insulina o a ambos (19).

Para la diabetes tipo 1 son situaciones de riesgo (20):

- 1.- Tener ICA en el suero
- 2.- Tener un gemelo afecto de diabetes tipo 1
- 3.- Tener un hermano afecto de diabetes tipo 1 y que presente la misma dotación HLA.
- 4.- Tener un progenitor diabético.

Para la diabetes tipo 2 son situaciones de riesgo (20).

- 1.- Tener un gemelo afecto de diabetes tipo 2.
- 2.- Tener un pariente directo afecto de diabetes tipo 2.
- 3.- Haber tenido hijos de más de 4 500 g al nacer.
- 4.- Ser obeso.
- 5.- Pertenecer a determinados grupos étnicos (indios pima).

1.3.4.-Complicaciones Crónicas

Reciben este nombre aquellas alteraciones de los tejidos del organismo que afectan de manera más o menos específica a las personas diabéticas. Estas lesiones son por regla general irreversibles y su causa no es totalmente conocida aunque la hiperglucemia crónica constituye posiblemente el principal factor desencadenante. Entre las complicaciones más frecuentes se encuentran:

1.-Microangiopatías diabéticas, siendo las principales:

a) Retinopatía diabética.- Uno de los aspectos más amenazadores de la diabetes mellitus, es el desarrollo de la ceguera a consecuencia de la retinopatía, formación de cataratas o glaucomas (19).

Cada una de las partes del ojo es susceptible de ser afectada por la diabetes, en un rango que va desde fallos en la refracción hasta la ceguera (20). Las patologías incluyen alteraciones en la dilatación pupilar, el glaucoma del ángulo abierto y el neovascular, errores en la refracción, catarata, contracción del vítreo, atrofia óptica, oftalmoplegia, infecciones de órbita y retinopatía diabética. El efecto primario de la diabetes a nivel de la retina se jerca en los capilares ya que este funciona en forma incompetente.

Hay cinco procesos patológicos reconocidos en la retinopatía: formación de microaneurismas, obstrucción de capilares y arteriolas, aumento de la permeabilidad vascular, proliferación de nuevos vasos y del tejido glial, y contracción del vítreo con proliferación fibrosa y desprendimiento de la retina por tracción. Estos procesos se manifiestan en los diferentes estadios de la retinopatía diabética: simple, preproliferativa, y proliferativa.

Los factores clínicos no oculares que influyen en el desarrollo y velocidad de progresión de la retinopatía son: la edad del paciente al iniciar la diabetes, duración de la enfermedad, grado de control, hipertensión arterial, embarazos, e insuficiencia renal (20).

La retinopatía no proliferativa es la variedad más frecuente en la diabetes tipo 2, y la proliferativa predomina en la tipo 1 y debe manejarse con fotocoagulación (22).

B).- Nefropatía diabética

Los riñones suelen ser los órganos más gravemente afectados en el diabético. La nefropatía diabética puede adoptar las siguientes modalidades.

1. Arteriosclerosis y Arterioesclerosis

2.-Glomerulosclerosis diabética. a) nodular, b) difusa y c) exudativa.

3.-Infecciones bacterianas del tracto urinario con: a) pielonefritis, b) papilitis necrosante ocasionalmente.

4.- Depósito tubular del glucógeno, grasa, y mucopolisacáridos.

5.-Necrosis tubular aguda.

De todas estas manifestaciones renales, las únicas específicas de la diabetes son la glomerulosclerosis difusa y nodular (21).

1.- Glomerulitis Intercapilar (23).

La afección puede observarse a cualquier edad. El comienzo clínico es una albuminuria de 1 a 5 g por día, luego aparecen los edemas de miembros inferiores y de la cara. El balance lípido-protéico orienta hacia el diagnóstico de un síndrome nefrótico con retinopatía, hipertensión diastólica y elevación moderada de la urea. La evolución es lenta pero grave, e inevitablemente los enfermos mueren por insuficiencia renal.

Las lesiones histológicas difieren según se trate de la forma nodular o difusa.

a).- Forma nodular.- Es la más típica, la región centrolobulillar de los glomérulos es invadida por células conjuntivas especiales llamadas mensajales y por el depósito de una sustancia hialina que parece ser una glucoproteína.

b).- Forma difusa.- Existe un espesamiento de la membrana basal de los capilares, el glomérulo conserva su tamaño y no se atrofia (23).

La evolución hacia la insuficiencia renal es inexorable pero esta condicionada por la tensión arterial, las infecciones urinarias y el control metabólico.

Uno de los primeros indicadores de afectación renal es la aparición de microalbuminuria (excreción entre 20 y 200 µg/ml) (20).

2.- Macroangiopatías Diabéticas.

Estas lesiones son secundarias a la arteriosclerosis (comienza a aparecer en la mayoría de los diabéticos, cualquiera que sea su edad, a los pocos años de iniciarse en la diabetes tipo 1 o la tipo 2, puede originar estrechamente oclusiones arteriales con las correspondientes lesiones isquémicas de los órganos, otras veces puede inducir dilataciones aneurismáticas, la mayoría de las veces en la aorta con grave riesgo de rotura). La lesión fundamental es la placa de ateroma que tiene especial predilección por las extremidades

Inferiores, donde se manifiestan como claudicación intermitente, atrofia muscular y cutánea, úlceras y gangrena. Las úlceras de los pies pueden ser neuropáticas o isquémicas.

La úlcera neuropática se origina por la inflamación e infección que se desarrolla debajo de la cabeza de los metatarsianos.

La úlcera isquémica se origina por daño epitelial.

Cuando la placa de ateroma ocurre en las arterias coronarias puede dar lugar a:

1. Angina de Pecho.
2. Infarto de miocardio.
3. Insuficiencia cardíaca.

La macroangiopatía tiene escasas posibilidades de tratamiento farmacológico per se. Lo importante es corregir los factores de riesgo: normalizar la glucemia, los lípidos y tensión arterial (20).

3.- Neuropatías Diabéticas

Bajo este nombre se agrupan las manifestaciones neurológicas que pueden aparecer en el diabético y que son la causa más frecuente de incapacidad y la que más empeora la calidad de vida del diabético (22, 23).

La neuropatía puede diferenciarse en dos formas:

1.- Periférica, siendo la más frecuente la polineuropatía, que aunque es predominantemente sensitiva el compromiso motor no es raro. La pérdida de la sensibilidad y la debilidad motora afectan la porción distal de los nervios largos, de modo que los pies son afectados antes que las manos.

La afectación motora radica en la atrofia muscular en manos y pies o un pie caído.

En muchos pacientes, también puede afectarse la sensibilidad vibratoria, la táctil y la posicional (20). En fases avanzadas de la neuropatía pueden aparecer lesiones tróficas muy penetrantes con afectación ósea (21).

2).-Vegetativa.- Los signos más habituales son hipotensión ortostática, enteropatía, gastroparesia, vejiga neurogénica, eyaculación retrógrada, impotencia y alteraciones de sudoración (20).

a) Neuropatía Vegetativa Cardiovascular.- En la cual hay menor percepción del dolor cardíaco isquémico, alteración en la respuesta frente a situaciones de exigencia circulatoria (ejercicio) o hipotensión ortostática que ocurre por una serie de eventos que fallan al pasar de la posición de acostado a la de pie, al fallar estos mecanismos la tensión arterial desciende, no se produce taquicardia compensadora, disminuye el flujo sanguíneo cerebral y el paciente sufre mareos, vértigos o cuadros sincopales (20).

b) Neuropatía vegetativa gastrointestinal (20).

c) Neuropatía vegetativa genitourinaria.- Las manifestaciones más frecuentes son la vejiga neurogénica la eyaculación retrógrada y la impotencia. La vejiga neurogénica aparece como aumento de los intervalos entre las micciones y mayor residuo postmiccional.

La eyaculación retrógrada, se produce como consecuencia de una función vegetativa del esfínter vesical interno.

En cuanto a la impotencia en el varón a partir de los 40 años de edad cuando lleva más de 15 o 20 con diabetes, la neuropatía vegetativa puede dar lugar a afectación de los nervios pudendos y en consecuencia a dificultades en la erección, que lo podrían incapacitar con el tiempo para la penetración (20).

1.3.4.-Complicaciones Agudas Hiperglucémicas (20).

Existen varios tipos de complicaciones agudas hiperglucémicas:

a) Cetoacidosis.

Afecta de forma típica la diabetes de tipo 1, y se caracteriza por la presencia de cuerpos cetónicos en plasma, acidosis metabólica, hiperglucemia y deshidratación.

Todas estas manifestaciones clínicas aparecen de forma lenta y progresiva, y se insaturan el cuadro en varias horas y a menudo en varios días.

Las complicaciones de la cetoacidosis son:

1.- Hipopotasemia, que puede ser causa de alteraciones del ritmo cardíaco e incluso de paro cardíaco.

2.- La alcalosis de rebote.

3.- Hipoglucemia

4.- Edema cerebral, es una complicación grave que puede dejar secuelas neurológicas importantes.

5.- Trombosis mesentérica, de presentación rara pero no excepcional.

b) Coma Hiperosmolar no cetósico.

Se caracteriza por deshidratación intensa, hiperglucemia muy grave y ausencia de acidosis.

Se presenta en forma característica en personas afectas de diabetes tipo 2, es muy frecuente que las infecciones desencadenen el proceso. Las complicaciones más frecuentes ocurren en el territorio cardiovascular (infartos, trombosis y embolismos) al tratarse de personas de edad avanzada con daño vascular y una elevada viscosidad de la sangre por deshidratación.

c) Acidosis láctica.

Es una afección muy rara que se caracteriza por un alto nivel de ácido láctico en plasma como consecuencia de una deficiente oxigenación de los tejidos. Se presenta en pacientes con una enfermedad como puede ser insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria, anemias graves o alcoholismo.

d) Cetosis.

La diabetes tipo 1 tiende por sí misma a la reproducción de cuerpos cetónicos y en consecuencia a la cetosis y cetoacidosis. Se entiende por cetosis la presencia de cuerpos en

orina, en ausencia de acidosis metabólica y su manifestación puede ser debida a:

1.- Aporte insuficiente de carbohidratos.

2.- Déficit de insulina.- La cetosis va acompañada siempre de hiperglucemia y en consecuencia glucosuria intensa. Sus síntomas son pérdida de apetito, ardor, dolor de estómago, náuseas y cansancio, además de un aliento característico.

La cetosis y cetoacidosis son casi exclusivas de la diabetes tipo 1, mientras que el coma hiperosmolar es privativo de la diabetes tipo 2.

1.3.5.- Tratamiento de la Diabetes Mellitus.

El tratamiento de la diabetes mellitus se lleva a cabo a través de la interacción de varios factores tales como la educación, la dieta, el ejercicio físico y los medicamentos.

Educación

La educación del diabético implica una orientación con respecto al conocimiento de su enfermedad, dieta a seguir, ejercicio físico, medicamento para su tratamiento, conocimiento de las pruebas de autocontrol de glucosa en orina y sangre, prevención de la hipoglucemia, conocimiento de las complicaciones propias de la diabetes, etc (1).

Dieta

Parte importante del tratamiento del enfermo diabético es una dieta adecuada que contribuya a normalizar la concentración de glucosa y lípidos séricos. En niños y adolescentes la dieta debe conservar la tasa de crecimiento, en el embarazo y la lactancia debe proveer adecuada nutrición para la madre y el hijo, es recomendable que la alimentación contenga las calorías suficientes para conservar el peso corporal óptimo. Se recomienda que el consumo de calorías este distribuido entre los tres tipos principales de alimentos: carbohidratos, grasas y proteínas. Se recomienda la ingesta diaria de fibra dietética (20).

Ejercicio

El ejercicio físico es importante como método terapéutico en pacientes diabéticos y como factor preventivo de la diabetes ya que mejora la tolerancia a la glucosa mediante un aumento en la actividad de la insulina. El entrenamiento aumenta la sensibilidad a la insulina haciendo que los músculos utilicen más glucosa. Los ejercicios de tipo aerobio la aumentan más que los anaerobios (20) -

Medicamentos

En términos generales la diabetes mellitus es tratada mediante el uso de insulina e hipoglucemiantes orales.

i.-insulina (24)

La insulina, es una hormona anabólica que permite que todos los tejidos, incluyendo el hígado, utilicen los carbohidratos; participa también, en el metabolismo de las grasas y proteínas y es necesaria para transportar la glucosa a través de las paredes celulares. La secreción deficiente de insulina da por resultado una utilización inadecuada del azúcar por los tejidos corporales, lo cual se traduce en diabetes. La insulina aislada de los páncreas del ganado vacuno y porcino puede reemplazar a la insulina humana con eficacia en los padecimientos por deficiencia insulínica, como es el caso de la diabetes insulino-dependiente o de tipo I. La administración de esta hormona en pacientes diabéticos mantiene sus niveles de azúcar en sangre dentro de los límites normales (80 a 120 mg/ 100ml) y mantiene la orina libre de azúcar y cuerpos cetónicos, previene el desarrollo de acidosis y coma diabético.

No obstante, como se mencionó previamente, ha sido aprobado el uso clínico de una insulina humana recombinante, obtenida a partir de la bacteria *E. coli*, con la secuencia de aminoácidos exacta a la hormona sintetizada por el humano. Para tal efecto, la obtención de alguna sustancia de interés terapéutico, a partir de un organismo u organismos distintos al individuo en cuestión, requiere de ciertos elementos importantes (47):

a).-Un receptor, que se ha definido como el organismo, u organismos (hongos, bacterias, virus, etc.), el cual sufre una modificación genética por efecto de la adición de un

gen exógeno o foráneo (en el caso de la insulina, es de origen humano) dentro de su propia información genética.

b).- Un vector de transformación, que es una pequeña cadena de DNA (circular) a la cual se le ha integrado un fragmento de DNA foráneo, a fin de que éste último permanezca en forma estable en el organismo receptor. A este respecto, existen tres grupos de vectores: los plásmidos, los bacteriófagos y los cósmidos.

C).- Un gen exógeno o foráneo, que es un fragmento de DNA el cual codifica información para la síntesis de la sustancia de interés, y que al ser introducido en el organismo receptor promueve la transcripción de dicha información y ,por lo tanto, la síntesis proteica necesaria.

En general, y a *grosso modo*, se puede resumir que la obtención de una sustancia a partir de un organismo receptor, consiste - primeramente - en la introducción de un gen exógeno mediante la ayuda de un buen vector de transformación, que incluso puede acompañarse de algunos elementos genéticos reguladores los cuales permiten incrementar la expresión de dicho gen dentro del receptor, sin que éste último implique que el gen sea reconocido por la maquinaria de duplicación y transcripción del receptor, que se transforma en una verdadera fábrica de proteínas.

Es importante indicar que para la obtención de la insulina humana a partir de bacterias, es necesario introducir los genes codificantes de las cadenas A y B, por separado en bacterias diferentes. Posteriormente, se deben purificar estas cadenas sintetizadas para luego unirlos químicamente en el laboratorio (37).

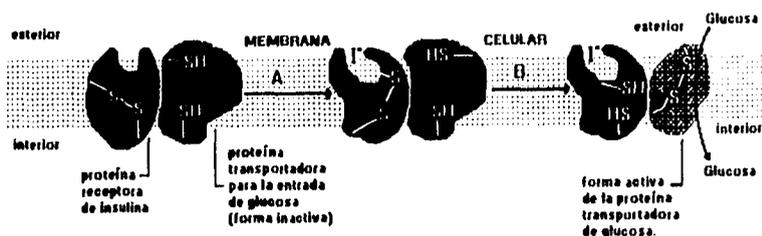
Por su acción, la insulina de origen animal puede ser de acción rápida, intermedia y prolongada. Sin embargo, a pesar de las ventajas también se llegan a presentar reacciones adversas tales como: hipoglucemia o shock insulínico por hiperinsulinismo (exceso de insulina), reacciones de alergia, resistencia a la insulina y ocasionalmente cambios en la visión al iniciar la terapia o en pacientes que han estado sin control por mucho tiempo (24).

Mecanismo fisiológico de la Insulina.

La Insulina controla una variedad de procesos celulares; el más común de éstos es la estimulación del transporte de glucosa al interior de la célula. La explicación molecular comienza con la participación de una proteína receptora de insulina. Algunos descubrimientos interesantes logrados se pueden aplicar a otros receptores: I, existen al menos dos clases de receptores de insulina que difieren en la capacidad de unión de la hormona, II los receptores de insulina tienen la capacidad de movilizarse en la membrana y formar agregados, III el receptor de insulina se comporta en forma diferente en tejidos diferentes (25).

El receptor de insulina [formado por cuatro subunidades separadas, unidas por puentes disulfuro se dividen como dos subunidades alfa, de localización extracelular, y dos subunidades beta que se sitúan en el interior de la membrana y protuyen hacia el lado intracitoplásmico] (26) solubilizado de hígado y adenosinas de una proteína oligomérica (PM aprox. de 300 000) con algunas subunidades conectadas por puentes disulfuro (-S-S-). Existen evidencias de que las uniones -S²- están íntimamente implicadas en la explicación de como la unión de insulina controla otros procesos celulares. Una sugerencia específica (véase el dibujo) indica que la insulina unida cambia la conformación del receptor de modo que las uniones -S²- se aproximen a los grupos -SH- de otra proteína de membrana, asociada a la difusión facilitada de la glucosa. En esta nueva disposición, el enlace -S²- del receptor oxida a los grupos SH de la proteína transportadora. La formación ahora de una unión -S²- en esta última proteína cambia su conformación a una que es activa en el transporte de glucosa. Interacciones similares con otras proteínas de membrana pueden explicar también la estimulación del transporte de aminoácidos y sodio por parte de la insulina. Estudios recientes sugieren también que además otros efectos de la insulina pueden resultar de la liberación al interior celular de un fragmento polipeptídico de una proteína de la membrana. Esta ruptura implicaría a una enzima proteolítica activada por la unión de insulina a su receptor. De este modo, no existe una explicación única para la acción de la insulina (25).

Figura 2.- Mecanismo de acción de la hormona insulina a nivel del receptor de membrana.



- A) El receptor altera su conformación al unirse a la insulina.
 B) Intercambio de protones entre los grupos -S⁻ y -SH que promueve la forma activa de la proteína acarreadora.

II.-Hipoglucemiantes orales

Existen varios tipos de hipoglucemiantes orales para pacientes que padecen formas leves de diabetes. Esto se usa principalmente en pacientes con diabetes mellitus no insulino dependiente, generalmente asociada con obesidad cuyas condiciones no se pueden controlar únicamente con la dieta pero que tampoco requieren de insulina. Hay dos tipos de medicamentos química y farmacológicamente diferentes: la sulfonilureas y las biguanidas.

a).-Sulfonilureas: Son fármacos, cuyo efecto hipoglucemiante se debe a que provocan una degranulación seguida por un aumento de la secreción de insulina endógena. La degranulación obedece a la ley del "todo o nada" y no aumenta con la elevación de la dosis, por lo anterior, se puede ver, que estas sustancias requieren de la existencia de cierta reserva pancreática para su acción.

De las ocho formas comerciales existentes de sulfamidas, la de mayor potencia es la clorpropamida y la menos activa la tolbutamida. Los restantes se sitúan en una escala de valores intermedios. Algunos medicamentos, pueden modificar el efecto hipoglucemiante de dichas sustancias tal es el caso de la clorpromacina y los barbitúricos que son antagonistas de

la sulfodrogas; la aspirina, la fenilbutazona y la sulfanidas antibacterianas lo potencian seguramente por retardar su eliminación urinaria.

b).- Biguanidas: Las biguanidas actuales se empezaron a emplear en la clínica dos años después de la sulfanilureas (1957). Las tres biguanidas que se han estado empleando en la clínica han sido: La femformina, metformina y buformina. Hace poco tiempo ha sido retirada la femformina, acusada de toxicidad pero disponemos de las otras dos que son menos tóxicas.

Son hipoglucemiantes lo mismo en los diabéticos que en los sanos, aumentan la utilización anaeróbica de la glucosa, Inhiben la neoglucogénesis y aumentan el lactato en la sangre, algunos les atribuyen acción anorexígena y de interferencia en la absorción intestinal de la glucosa.

Estos fármacos pueden producir acidosis láctica y aumentar la lactacidemia. Es aconsejable evitar su administración en todos los estados de hipoxia e insuficiencia renal o hepática, tampoco debe aplicarse a los ancianos y alcohólicos y en cualquier afección cardiovascular o respiratoria.

3.- Tratamiento de la Diabetes Mellitus con plantas medicinales.

En la medicina tradicional en México, el tratamiento de la diabetes mellitus se lleva a cabo a través del consumo de una serie de plantas entre las que se encuentran las mencionadas en la tabla siguiente..

Cuadro 4.- Plantas utilizadas en el tratamiento tradicional de la diabetes mellitus.

Nombre vulgar	Nombre científico	Uso popular	parte utilizada de la planta	Acción fisiológica
Achual	<i>Bidens pilosa</i> L. (Compositae)	Antidiabético y diurético	Tallo, hojas y flores	No tiene propiedades antidiabéticas y su propiedad diurética no es constante.
Alcachofa	<i>Cynara scolymus</i> L. (Compositae)	Controla la diabetes, es diurética, expulsa la bilis y disuelve cálculos biliares	Hojas y flores	Es hipoglucemiante debido a que sus partes comestibles contienen insulina en lugar de fécula por lo que se recomienda como alimento para los diabéticos.
Caña de jabalí	<i>Costus ruber</i> Griseb o <i>Costus pictus</i> (Zingi)	Antidiabética, desinflama los riñones y la vejiga	Tallo únicamente	Los usuarios la demandan afirmando que les controla los principales síntomas de la diabetes como la sed y el gran apetito.
Capulín	<i>Prunus serotina</i> esp. <i>capulli</i> Mc Vangh. (Rosaceae)	Recomendada para quitar la intensa sed del diabético	Hojas	El polvo de la corteza cura inflamaciones, ablanda y humedece la lengua por mucho calor vehemente, entre otros usos.
Cola de caballo	<i>Equisetum arvense</i> Br (Equisetaceae)	Controla la diabetes diurético, cicatrizante, reconstituyente y mejora el funcionamiento del Hígado	Tallo y hojas	Actualmente no existe ningún trabajo que respalde su eficacia.
Cuachalalate	<i>Amphipterygium adstringens</i> Schiede ex. <i>Schlecht.</i> (Julianiaceae)	Antidiabético, se recomienda para tratar la deficiente cicatrización del diabético.	Corteza del tallo	Hasta la fecha no se ha comprobado su eficacia en el control de la diabetes.
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i> Labiell. (Mirtaceae)	Se emplea para controlar la diabetes, como desinfectante de los riñones, de la vejiga y cicatrizante.	Hojas, flores y frutas.	La infusión de las hojas, actúa como cicatrizante en las heridas de difícil cicatrización, descongestionante de los riñones y vejiga entre otros.
Guarumbo	<i>Cecropia obtusifolia</i> Bartol (Moraceae).	Como antidiabético y en enfermedades Hepáticas	Hojas	Es un tónico cardíaco y que actúa como diurético de acción similar a la digitoxina sobre la cual tiene la ventaja de ser debilmente tóxica.

Cuadro 4.- Plantas utilizadas en el tratamiento tradicional de la diabetes mellitus.[Continuación]

Heno	<i>Tillandsia usneoides</i> L. (Bromeliaceae)	Antidiabético y eficaz para quitar la sed.	Toda la planta	no investigada.
Nombre vulgar	Nombre científico	Uso popular	parte utilizada de la planta	Acción fisiológica
Marrubio	<i>Marrubium vulgare</i> L. (Labiatae).	Antidiabético, activa el funcionamiento del hígado, y como diurético.	tallo y hojas	Excita la secreción de la orina efectiva en catarros crónicos, asma, enfermedades del hígado y en la diabetes (Martínez, 1969).
Naranja agrio	<i>Citrus aurantium</i> L. (Rutaceae)	Antidiabético, arroja la bilis	Fruto con cáscara	Los usuarios afirman que es eficaz para controlar la diabetes, pero hasta ahora no se ha comprobado su acción a nivel científico.
Nopal	<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Miller. (Cactaceae).	Antidiabético y diurético	Las pencas (los artículos)	Gracias a su contenido en sales de K ⁺ y Ca ⁺⁺ , le otorgan acción diurética; actúa como tónico cardíaco, aumenta la amplitud y fuerza de contracción. Ibañez en 1978, demostró la disminución de glucosa en sangre por la acción del nopal.
Palodulce	<i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ort.) Sarg. (Leguminosae)	Controla la diabetes y es diurético	el tallo	Limpia los riñones y la vejiga; disminuye la acidez de la orina, extingue las fiebres.
Simonillo	<i>Conyza filaginoides</i> D.C. (Compositae).	Controla la diabetes, bilis y quita el dolor del hígado	Tallo hojas y flores	El Instituto Médico Nacional comprobó su acción fisiológica en inflamaciones del estómago, vías respiratorias y de la vesícula biliar, hace desaparecer la ictericia, quita el estreñimiento entre otros.
Tejocote	<i>Crataegus pubescens</i> (H.B.K.) Stand. (Roseasae).	Antidiabético y diurético	Raíz y corteza del tallo	Los usuarios afirman que es eficaz, aunque a la fecha no existe un estudio que la respalde.
Tepozán	<i>Buddleja americana</i> L. (Loganiaceae).	Controla la diabetes y es diurético	Raíz, tallo y hojas	La acción antiséptica del aceite esencial y las resinas de las hojas se utilizan para curar heridas, como diurético, entre otros usos.

Cuadro 4.- Plantas utilizadas en el tratamiento tradicional de la diabetes mellitus.[Continuación]

Tomate	<i>Physalis philadelphica Lam. (Solanaceae).</i>	Recomendado para la sed del diabético.	Cáscara del fruto	Los usuarios afirman que es eficaz para controlar la diabetes, pero hasta ahora no existe ningún trabajo que la respalde. Calderón (1947) reporta la acción antidiabética del tomate debida a una sustancia llamada tomatina.
Nombre vulgar	Nombre científico	Uso popular	parte utilizada de la planta	Acción fisiológica
Tronadora	<i>Tecoma stans (H.B.K.) (Bignoniaceae).</i>	Antidiabético, antibilioso y diurético	tallo hojas y flores	Aunque se han hecho estudios farmacológicos, que no han demostrado que controla la diabetes, los usuarios afirman que atenua la sed y la sensación de hambre.
Xoconostli	<i>Opuntia imbricata (Haw) De condolle (Cactaceae)</i>	Antidiabético y diurético	frutos	Los usuarios afirman que es eficaz aunque a la fecha no se ha hecho investig. de esta planta que compruebe la eficacia de su elevado uso.

2.- Parte experimental

2.1 Material vegetal

El material se colectó en Malinalco, Edo. de México, en junio de 1992. Una muestra se llevó al Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (Depto. de Botánica, IPN).

2.1.1- Preparación del extracto orgánico (28, 29).

El material seco y molido (1.3 Kg) se sometió a un proceso de maceración durante 15 a 20 días utilizando etanol al 70 %. Al final de este período se filtró y se concentró a presión reducida, obteniéndose un jarabe el cual se terminó de concentrar a sequedad en una cápsula de porcelana mediante una parrilla de calentamiento obteniendo finalmente un rendimiento de 80 g. Una muestra del extracto se sometió a un estudio fitoquímico preliminar.

2.1.2- Evaluación Fitoquímica Preliminar (6, 28, 29).

2.1.2.1- Identificación de azúcares.

Diluir un mililitro del extracto con agua destilada, medir el pH, si es menor de 10 alcalinizar con hidróxido de sodio al 5%. Dividir el extracto en dos tubos.

a).-Reacción de Fehling: A 0.5 ml del extracto alcalino se le adicionan 0.5 ml de la solución A y 0.5 de la solución B.

b).-Reactivo de Benedict: 0.5 ml del extracto alcalino se mezcla con 0.5 ml de reactivo y 1 ml de agua.

c).- Preparar un blanco para cada reactivo. Colocar los tres tubos en un baño maria por 15 minutos.

2.1.2.2- Identificación de cumarinas.

a).- Reacción de Erlich: Colocar una pequeña porción del extracto en un tubo de pp, añadirle dos gotas de reactivo y una gota de ácido clorhídrico concentrado.

b).- Reacción con hidróxido de amonio: A una porción del extracto concentrado adicionarle 0.5 ml de etanol más dos gotas de hidróxido de amonio concentrado.

2.1.2.3- Identificación de glucósidos cardíacos.

Transferir a un tubo de ensayo una porción del extracto, adicionar 3 ml de una mezcla cloroformo-metanol (1:1), por decantación separar el extracto cloroformo-metanólico (E-CM) y concentrar a la tercera parte de su volumen original, dividir en tres fracciones para la realización de las siguientes pruebas.

a).- Reacción de Legal: Colocar dos gotas del extracto (E-CM) en un tubo de ensayo, dejar que se evapore completamente el disolvente y adicionar 2 o 3 gotas de piridina, agregar 1 gota de nitroprusiato de sodio al 0.5% y 4 gotas de hidróxido de potasio.

b).- Reacción de Baljet: Colocar dos gotas del extracto (E-CM) en un tubo de ensayo, adicionar tres gotas del reactivo de Baljet. Mezclar con tres gotas de la solución A y tres gotas de la solución B al momento de usarse.

c).- Reacción de Kedde: Aplicar en una tira de papel filtro una gota de reactivo y dejar secar, enseguida adicionar una gota del extracto (E-CM).

2.1.2.4- Identificación de flavonoides.

A una porción del extracto, diluirlo con 2 ml de etanol, calentar por 1 min., enfriar y filtrar el extracto (E-E), dividir éste en tres tubos de ensayo, uno de los que servirá como testigo para realizar las siguientes reacciones.

a).- Reacción de Shinoda: Adicionar 2 gotas de HCL conc. a uno de los tubos que contenga 0.5 ml del extracto (E-E), comparar con el tubo testigo. Si no hay cambio adicionar un trocito de magnesio metálico.

b).- Reacción con hidróxido de sodio al 10%: Al otro tubo con (E-E) adicionar 3 gotas de NaOH al 10%.

2.1.2.5- Identificación de Quinonas.

a).- Reacción con hidróxido de amonio: A una pequeña porción de extracto concentrado añadirle un gota de NH_4OH conc.

b).- Reacción de Borntrager: Se diluye una porción del extracto con tres ml de agua y se filtra. Al líquido filtrado añadirle tres ml de KOH al 5%, calentar a ebullición por 10 min., enfriar y transferir a un embudo de separación. Extraer entonces con 5 ml de benceno, la fase acuosa se elimina y la bencénica se extrae con dos ml de KOH al 5%.

2.1.2.6.- Identificación de sesquiterpenlactonas.

a).- Reacción con hidroximato férrico: Pasar una porción del extracto a un tubo de ensayo, adicionar dos gotas de clorhidrato de hidroxilamina 2N y una gota de KOH 2N en metanol, esta mezcla se calienta a ebullición por 1 o 2 min., enfriar y acidular a pH 1 con HCL 0.5N en seguida adicionar una gota de cloruro férrico al 1%.

2.1.2.7.- Identificación de Taninos.

A una porción del extracto se le adicionan 2 ml de agua y tres gotas de NaCl al 2% , calentar a ebullición por 1 minuto enfriar y filtrar. Al filtrado resultante (E-A), dividirlo en 3 tubos de ensayo para la realización de las siguientes pruebas:

a).- Reacción con gelatina: adicionar al tubo que contiene al extracto (E-A) 1 o 2 gotas del reactivo.

b).- Reacción con Cloruro férrico al 1%: A otra porción de extracto (E-A) adicionarle una gota de cloruro férrico al 1%.

c).- Reacción con ferricianuro de potasio: Al tubo de la prueba anterior, adicionarle una gota de ferricianuro de potasio al 1%.

2.1.2.8.- Identificación de saponinas.

a).- Prueba de la espuma: Pesar 0.5 g de la planta y adicionarle 1 ml de agua, calentar y agitar vigorosamente este extracto acuoso. Medir la altura de la espuma y su tiempo de estabilidad.

b).- Reacción de Liebermann-Burchard: Disolver una pequeña porción del extracto concentrado en 2 gotas de anhídrido acético, estratificar con 1 gota de ácido sulfúrico concentrado.

c).- Reacción de Rosenthaler: A una pequeña porción del extracto concentrado, disolver en dos gotas del reactivo, añadir una gota de ácido sulfúrico concentrado.

2.1.2.9.- Identificación de glicósidos cianogenéticos.

a).- Reacción de Guignard: Pesar 1 g de planta y colocarlo en un tubo de ensayo, adicionarle 2 ml de agua y calentar a ebullición colocando en la boca del tubo una tira de papel filtro impregnado con reactivo de picrato de sodio.

2.1.2.10.- Identificación de Alcaloides.

Pesar 1 g de la planta y adicionarle de 5-10 ml de HCl al 10%, calentar a ebullición por 5 min., enfriar y filtrar (E-Ac). Dividir el filtrado claro, transparente (inoloro) en 6 tubos de ensayo, uno de los cuales servirá para comparar los cambios que se presenten entre el extracto original y los tubos en los que se realicen las reacciones.

a).- Reacción de Dragendorff: Añadir a uno de los tubos con extracto (E-Ac) una gota del reactivo.

b).- Reacción de Mayer: Adicionar le al tubo una gota del reactivo.

c).- Reactivo de ácido silicotúngstico: Adicionar una gota del reactivo a un de los tubos que contiene el extracto (E-Ac).

d).- Reactivo de Sonneschain: Adicionar una gota del reactivo a uno de los tubos de prueba.

e).- Reactivo de Wagner: Añadir una gota del reactivo a uno de los tubos con el extracto (E-Ac).

2.2 Preparación del Material biológico (30, 36, 37).

Se utilizó un lote de 60 ratas de la raza wister, con un peso promedio entre 160-200 g. Debidamente marcadas se sometieron al siguiente proceso:

1.- Ayuno nocturno (aproximadamente 12 h).

- 2.- Toma de muestra sanguínea mediante punción ocular (por duplicado).
 - 3.- Evaluación del nivel normal de glucosa en suero (técnica de la glucosa oxidasa; Glucosa Trinder, Merck).
 - 4.- Agrupación en siete lotes (al azar), los cuales a su vez se dividieron en dos grupos:
 - a) Lotes sanos.
 - b) Lotes diabéticos.
- 3.2.1.- Inducción de la diabetes.

En primer lugar los siete lotes se dejaron en ayuno durante 1 h. Al término de este tiempo se administró una solución isotónica de NaCl o una solución de aloxana como se indica en el cuadro 5.

Cuadro 5.- Dosis de diabetización.

Lote	Solución
Sano (1-3)	NaCl (0.9 %)
Diabético (4-7)	Aloxana (65 mg/ Kg de peso)

La solución de aloxana se utilizó como el agente diabetizante y se administró por vía intravenosa a los lotes denominados diabéticos. La solución de cloruro de sodio se administró por la misma vía a las ratas del los grupos control (lotes sanos). Después de 72 hs se sometieron a un ayuno nocturno y posteriormente se evaluaron los niveles de glucosa en suero. En los casos en que no se registraron niveles altos de glucosa (mayores de 100 mg/dl), los individuos eran sometidos a una segunda administración de aloxana. Finalmente, los lotes 2-7 se sometieron a un tratamiento con el extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens* para la evaluación del potencial hipoglucemiante de este último.

Equipo utilizado.

Centrífuga para capilares, Brake, Damon/IEC Division(IEC MB, Centrífuga microhematocrit); Espectrofotómetro Milton Roy Company Spectronic 20D; Microscopio binocular Carl Zeiss (West-German); Microtomo rotatorio para cortes por parafina, Leltz Wtzler.

2.3.- Estudio farmacológico (Tratamiento).

Se prepararon diferentes soluciones del extracto con agua destilada, las cuales se fueron administrando por vía oral diariamente. El cuadro 6 muestra las características de cada lote y las dosis de extracto utilizadas en el tratamiento (2).

Cada ocho días se tomaron muestras sanguíneas a toda la población de estudio para evaluar algún cambio en los niveles de glucosa en suero. El tratamiento se siguió durante cuatro meses, al término de este período las ratas fueron sacrificadas por exposición prolongada con éter.

Cuadro 6.-Condiciones del experimento

Lote	Características	dosis (mg/día/rata)
1	Ratas sanas sin tratamiento	-
2	Ratas sanas con tratamiento	8.35
3	Ratas sanas con tratamiento	33.40
4	Ratas diabéticas con tratamiento	8.35
5	Ratas diabéticas con tratamiento	16.7
6	Ratas diabéticas con tratamiento	25.05
7	Ratas diabéticas con tratamiento	33.40

2.4.- Estudio Histológicos.

El páncreas, corazón y pulmón de todos los animales de experimentación se sometieron a una serie de procedimientos para poder realizar el estudio microscópico de los mismos como a continuación se describe (31, 32, 33):

1.- Se obtuvieron muestras de 1 cm^3 de cada uno de los órganos en estudio y se fijaron en formol al 10%.

2.- Se procedió a la deshidratación de dichos órganos para lo cual se colocaron en alcohol etílico de 96° durante 1 h y en alcohol absoluto también 1 h a 60°C .

3.- La transparentación se realizó colocando los órganos en Xilol durante 1 h a 60°C .

4.- La inclusión de los órganos se realizó colocándolos durante 24 h a 60°C en parafina histológica [con p.f. = $56-58^\circ\text{C}$]. La inclusión definitiva se hizo con parafina histológica con p.f. de $56-58^\circ\text{C}$ y se dejó solidificar.

5.- La obtención de cortes histológicos se realizó en un microtomo de parafina obteniéndose cortes de 5 a 9 micras de grosor, los cuales fueron montados en portaobjetos.

6.- Los cortes obtenidos fueron teñidos con la técnica de coloración histológica Hematoxilina-eosina de la manera siguiente.

a).- Técnica para desparafinar.

I.- Un baño en xilol tres veces, 15 minutos cada vez.

II.- Un baño en alcohol absoluto-xilol durante 10 minutos.

III.- Un baño en alcohol de 96° durante 10 minutos.

IV.- Un baño en alcohol de 70° durante 10 minutos.

V.- Lavado con agua de la llave durante 5 minutos.

B) Técnica para teñir.

VI.- Coloración hematoxilina-eosina.

VII.- Lavar con agua de la llave.

VIII.- Diferenciación con alcohol ácido.

IX.- Lavar con agua de la llave.

X.- Virar en agua amoniacal.

XI.-Lavar con agua de la llave.

XII.- Lavar con agua destilada.

XIII.- Teñir con el colorante eosina.

XIV.- Lavado en alcohol de 96 °.

C).- Técnica para deshidratar.

XV.- Un baño en alcohol absoluto-xilol durante 10 min.

XVI.-Un baño en xilol tres veces 15 min cada vez.

XVII.- Montar en bálsamo de Canadá o resina sintética.

7.-Se procedió al análisis microscópico de todas las preparaciones histológicas de los órganos en estudio.

8.- Técnica de coloración de Gomori para células de islotes pancreáticos.

a) Fijación en Bouins o formol neutro al 10 %.

b) Cortes en parafina, de 6 micras o menos de grosor.

c)Procedimiento:

1.- Desparafinar e hidratar con agua destilada.

2.- Un baño en solución de Bouins durante 35 min. a temperatura ambiente.

3.- Lavar en agua de la llave para remover el ácido pícrico por 15 min.

4.- Un baño en solución de permanganato de potasio por 5 min.

5.- Diferenciar en solución de bisulfito de sodio.

6.- Lavar bien en agua corriente por 10 min.

7.- Un baño en solución de hematoxilina crómica por 40 min.

8.- Diferenciar en solución de alcohol ácido rápidamente.

9.- Lavar en agua corriente por 10 min.

10.- Un baño en solución de floxina por 5 min.

11.- Lavar en agua destilada.

12.- Un baño en solución de ácido fosfotúngstico durante 1 min.

13.- Lavar en agua corriente durante 5 min.

14.- Diferenciar en alcohol al 96 %

15.- Deshidratar en alcohol absoluto, alcohol absoluto-xilol.

16.- Aclarar en un baño de Xilol durante 24 hr.

17.- Montar en resina sintética neutra.

d).-Observar al microscopio:

A.-Interpretación de resultados:

Identificación de las células de acuerdo a su afinidad con los colorantes utilizados:

células α	Color rojo.
células β	Color azul.
células δ	Tonalidad de rojo a rosa
células exócrinas	Tonalidad azul oscuro (granulaciones rojas.
núcleos	Tonalidad azul oscuro.

B.-Soluciones:

Permanganato de potasio al 0.3 %.

Bisulfito de sodio al 5 %.

Hematoxilina crómica.

Alcohol ácido al 1 %

Floxina al 0.05 %.

Acido fosfotúngstico al 5 %.

4.- Resultados

3.1.-EVALUACION FITOQUIMICA PRELIMINAR

Cuadro 7.- Evaluación fitoquímica preliminar de la especie *Asclepias glaucescens*.

Metabolito secundario	Prueba	Observaciones	Resultados
Alcaloides	1.-Mayer	ne	ne
	2.-Dragendorff	-	negativo
	3.-Sonnenschain	pp amarillo que cambia verde	positivo
	4.- Wagner	-	negativo
	5.- Silicotúngstico	pp blanquecino	positivo
Azúcares	1.-Fehling	p anaranjado	positivos
	2.-Benedict	pp rojo	
Cumarinas	1.-Ertich	-	negativos
	2.-NH4OH	-	
Glicósidos cardiacos	1.-Legal	-	negativo
	2.-Baljet	coloración naranja	positivo
	3.- Kedde	-	negativo
Glicosidos cianogenéticos	1.- Guignard	-	negativos
		-	

Cuadro 7.- Evaluación fitoquímica preliminar de la especie *Asclepias glaucescens* (Continuación).

Metabolito secundario	Prueba	Observaciones	Resultado
Quinonas	1.-NH ₄ OH 2.- Bortzguer	- -	negativos
Flavonoides	1.-Shinoda a) HCl b) Mg 2.-HCl + PrOH 3.-NaOH	ne ne coloración roja coloración naranja-rojo coloración café naranja	ne ne positiva para flavonoles positivo inespecífico positivo para flavonoles
Saponinas	1.- Espuma 2.- Liebermann-Buchard 3.- Rosenthaler	- - -	negativos
Sesquiterpen-lactonas	1.- Hidroxímato férrico	-	negativo
Taninos	1.-Gelatina 2.-FeCl ₃ (1%) 3.- K ₃ Fe(CN) ₆ (1%)	pp blanco coloración azul-negra coloración azul turqueza	detección (+) de derivados del ác. gálico y del catecol. detección (+) de derivados del ác. gálico. detección (+) de grupos fenólicos

3.2.-EVALUACION FARMACOLOGICA

3.2.1.-Tratamiento de ratas sanas:

Cuadro 8.-Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas sanas sin tratamiento (lote1)

clave/ semana	0ª	1	2	3	4
CA	63.72	63.69	94.45	57.96	88.57
LO	57.62	61.14	85.19	60.50	74.50
PD	87.45	73.88	83.71	69.42	86.85
PI	55.18	60.50	82.51	59.87	88.57
CO	65.42	63.69	68.52	67.51	89.14

Cuadro 9.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas sanas con tratamiento (dosis de 8.35 mg/día/rata) [lote 2].

clave/ semana	0ª	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
CA	63.25	59.74	66.04	43.13	74.92	57.65	90.91	67.15	88.67	83.73	81.78	91.40	95.56
OD	69.27	74.50	79.28	44.29	95.31	60.78	ne	56.32	†				
OI	61.85	74.36	96.78	53.11	77.02	54.51	72.95	53.06	54.57	75.36	132.44	131.61	ne
MD	85.55	74.79	75.94	49.72	87.06	49.80	79.77	52.49	98.21	82.66	80.33	119.14	78.83
LOCO	69.85	81.66	75.40	45.88	ne	67.06	ne	63.22	40.36	89.23	95.11	99.35	106.31

Cuadro 10.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas sanas con tratamiento (dosis de 33.40 mg/día/rata) [lote 3].

clave/ semana	0ª	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
MI	56.42	54.87	66.58	70.73	74.43	62.75	74.09	42.72	ne	145.2	84.09	99.78	ne	99.32
LO	67.74	57.16	79.14	43.84	78.48	52.94	42.73	35.45	56.99	72.96	66.03	49.33	87.74	84.98
PD	68.16	67.05	112.3	46.10	78.48	65.49	ne	64.08	57.85	70.28	65.07	†		
PI	74.72	62.32	ne	40.23	78.96	ne	ne	38.26	47.32	77.14	48.80	84.11	100.0	ne
CO	70.67	65.19	77.54	37.06	88.67	87.45	ne	45.07	60.54	114.1	64.35	100.2	107.9	75.09

3.2.2.-Tratamiento de ratas diabetizadas.

Cuadro 11.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento 8.35 mg/día/rata) [lote 4].

clave/ semana	0ª	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
MDPD	51.03	37.52	54.88	80.0	616.36 ^b	43.19	†				
MI	49.40	43.69	51.03	49.40	110.00 ^b	26.76	59.77	121.67	102.39	102.89	116.77
CAPD	37.96	47.13	60.10	97.39	94.55	62.31	158.81 ^b	551.69	152.15	ne	†
CA	72.41	85.68	72.41	84.56	79.84	99.15	90.99	84.21	65.28	111.39 ^b	112.90
LO	54.88	53.59	61.17	66.04	77.39	74.14	88.44	98.84	90.94	334.18 ^b	301.08
MIPD	48.19	61.17	66.04	74.14	88.44	90.94	92.89	91.42	83.10	332.66 ^b	124.73

Cuadro 12.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento 16.70 mg/día/rata) [lote 5].

clave/ semana	0ª	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CO	61.17	66.42	72.17	76.88	707.73	†					
LOCO	43.69	51.03	49.40	158.82	211.82	529.35	†				
PI	61.81	73.79	75.94	422.35	ne	†					
CAMI	72.91	97.11	77.22	500.00	423.86	198.12	†				
MD	66.83	80.40	62.88	218.82	ne	333.10	‡				
CAOI	66.54	50.66	66.83	84.78	171.82	180.52	54.89	344.13	735.65	122.44	91.61
CAPI	43.69	37.52	54.88	80.00	119.54	90.84	58.33	61.83	89.95	88.00	116.99

Cuadro 13.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento 25.05 mg/día/rata) [lote 6].

clave/ Semana	0ª	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
OILO	61.81	141.69	ne	ne	47.95	46.24	83.52	78.83	ne	80.22	109.68
ODCO	79.26	210.17	105.66	133.72	191.82	53.76	154.88	ne	349.52	431.33	294.62
OIPD	85.42	223.73	92.39	102.74	88.18	118.31	93.29	93.44	128.23	153.67	135.70
MDLO	61.17	66.04	199.35	66.27	90.90	77.93	103.45	385.29	70.57	92.67	132.90
MDMI	44.91	24.94	506.79	131.57	754.54	30.05	†				
OIPI	72.41	83.16	355.34	178.43	522.73	106.10	45.21	366.80	†		
ODLO	51.03	42.03	460.19	†							
PD	46.53	43.03	519.81	43.72	†						
MDPI	60.04	49.40	463.88	264.7	ne	37.56	†				
ODPD	49.40	34.90	71.67	94.78	73.03	78.65	354.69	330.72	192.34	372.0	298.06
CAMD	66.04	ne	50.51	80.58	85.29	92.47	88.06	75.93	122.49	118.89	153.76

Cuadro 14.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento 25.05 mg/día/rata; tratamiento de cinco semanas*) [lote 6a].

clave/ Semana	0ª	1	2	3
PDPI	62.88	420.57	†	
LOPD	83.16	382.54	147.11	249.46
LOPI	78.65	281.34	68.44	43.55

*Tratamiento administrado antes de finalizar el experimento.

Cuadro 15.- Niveles de glucosa en sangre (mg/dl) de ratas diabetizadas (dosis de tratamiento 33.40 mg/día/rata) [lote 7].

clave/ semana	0ª	1	2	3
OI	79.26	284.75	529.13	†
OD	66.44	644.07	†	
CAOD	83.16	328.14	†	
OIMD	77.22	488.14	†	
MDCO	85.42	288.81	562.13	†
ODPI	51.03	288.47	†	
OICO	62.88	389.15	411.65	†
OIMI	30.84	261.69	ne	†
ODMI	64.40	314.58	697.09	†
ODMD	57.62	286.10	173.14	†

a: La semana 0 corresponde a valores de glucosa en sangre antes de iniciar el tratamiento.

b:

Notas: 1.- Los valores de glucosa en sangre determinados para las ratas diabetizadas con tratamiento se evaluaron dos semanas después de iniciado el tratamiento, con el extracto vegetal, para el lote de ratas normales con y sin tratamiento.

2.- Después de alcanzado el estado de diabetes se inició el tratamiento. Las semanas anteriores se realizó la inducción de la enfermedad con aloxana.

3.3.- EVALUACION HISTOLOGICA

3.3.1.- Observación del tejido pancreático.

3.3.1.1.- Análisis Histológico en Ratas Sanas.

Cuadro 16.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata sana sin tratamiento [lote 1].

Clave/ Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los Islotes
CA	+	+	normal	normal	α y β
LO	+	+	normal	normal	α y β
PD	+	+	normal	normal	α y β
PI	+	+	normal	normal	α y β

Cuadro 17.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata sana con tratamiento.
(dosis 8.35 mg/día/rata) [lote 2].

Clave/ Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los Islotes
CA	ne	ne	ne	ne	ne
MD	+	+	normal	normal	α y β
LOCO	+	+	normal	normal	α y β
OD	ta	ta	ta	ta	ta
OI	+	+	normal	normal	α y β

Cuadro 18.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata sana con tratamiento.
(dosis 33.40 mg/día/rata) [lote 3].

Clave/ Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los Islotes
PI	+	+	normal	normal	α y β
Mi	+	+	normal	normal	α y β
LO	+	+	normal	normal	α y β
PD	ne	ne	ne	ne	ne
CO	+	+	normal	normal	α y β

3.3.1.2.- Análisis histológico en ratas diabetizadas.

Cuadro 19.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata diabetizada bajo tratamiento.
(dosis 8.35 mg/dla/rata) [lote 4].

Clave/Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los islotes
CAPD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
LO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CA	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
MI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
MIPD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
PDCO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α

Cuadro 20.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata diabetizada bajo tratamiento.
(dosis 16.70 mg/dla/rata) [lote 5].

Clave/Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los islotes
MD	++	++	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CAMI	++	++	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CAPI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CAOI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
LOCO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α

Cuadro 21.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata dlabetizada bajo tratamiento.
(dosis 25.05 mg/día/rata) [lote 6]:

Clave/ Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los Islotes
LOPI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
MDLO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
ODCO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
MDPI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
OIPD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CAMD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
ODPD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
OILO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
ODLO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α

Cuadro 22.- Evaluación Histológica en tejido pancreático de rata dlabetizada bajo tratamiento.
(dosis 33.40 mg/día/rata) [lote 7].

Clave/ Efecto	Vaso dilatación	Congestión	Tejido exócrino	Islotes	Tipo celular restante en los Islotes
OIMI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
CALO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
OI	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
ODMD	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α
MDCO	+	+	normal	pequeños y con pocas células centrales	α

3.3.2.- Observación en los Tejidos Cardíaco y Pulmonar.

3.3.2.1.- Análisis histológico en ratas sanas.

Cuadro 23.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata sana sin tratamiento [lote 1].

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
CA	ne	ne	ne	+	+	-	-
LO	ne	ne	ne	+	+	-	-
PD	+	+	normal	+	+	-	-
PI	+	+	normal	+	+	-	-

Cuadro 24.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata sana con tratamiento.
(dosis de 8.35 mg/día/rata) [lote 2]

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
CA	+++	+++	normal	++	++	++	++
MD	+++	+++	normal	++	++	++	++
LOCO	+++	+++	normal	++	++	++	++
OD	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
OI	+++	+++	normal	++	++	++	++

Cuadro 25.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata sana bajo tratamiento.
(dosis de 33.40 mg/día /rata) [lote 3].

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
PI	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
MI	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
LO	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
PD	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
CO	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++

3.3.2.2.- Análisis histológico en ratas diabetizadas.

Cuadro 26.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata diabetizada.
(dosis de 8.35 mg/día /rata) [lote 4].

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
CAPD	+++	+++	normal	++	++	++	++
LO	+++	+++	normal	++	++	++	++
CA	+++	+++	normal	++	++	++	++
MI	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
MIPD	+++	+++	normal	++	++	++	++
PDCO	+++	+++	normal	++	++	++	++

Cuadro 27.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata diabetizada.
(dosis de 16.70 mg/día /rata) [lote 5].

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
MD	+++	+++	normal	++	++	++	++
CAMI	+++	+++	normal	++	++	++	++
CAPI	+++	+++	normal	++	++	++	++
CAOI	+++	+++	normal	++	++	++	++
LOCO	+++	+++	normal	++	++	++	++

Cuadro 28.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata diabetizada.
(dosis de 25.05 mg/día /rata) [lote 6].

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	Infiltrado inflamatorio agudo
LOPI	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
MDLO	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
ODCO	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
MDPI	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
OIPD	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
CAMD	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
ODPD	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne
OILO	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++
ODLO	++++	++++	normal	+++	+++	+++	+++

**Cuadro 29.- Evaluación Histológica en tejido cardíaco y pulmonar de rata diabetizada.
(dosis de 33.40 mg/día/rata) [lote 7]**

Clave/ Efecto	Corazón			Pulmón			
	vaso dilatación	congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vaso dilatación	congestión	Edema intraalveolar	infiltrado inflamatorio agudo
OIMI	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
CALO	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
OI	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
ODMD	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++
MDCO	++++	++++	normal	++++	++++	++++	++++

Notaciones:

- + = leve.
- ++ = moderada.
- +++ = severa.
- ++++ = muy severa.
- = sin efecto aparente.
- ne = no evaluado

Análisis y Discusión de Resultados.

1.- El análisis fitoquímico preliminar se realizó mediante reacciones sencillas a fin de evidenciar la posible presencia de metabolitos secundarios de interés farmacológico (Cuadro 7). Sin embargo, los resultados obtenidos no son concluyentes, por lo que se sugiere continuar el análisis del contenido metabólico de manera más específica.

2.- Para producir Diabetes mellitus en los animales de experimentación (ratas) se administró por vía intravenosa el agente diabetogénico aloxana (sustancia química originada por oxidación del ácido úrico), el cual actúa destruyendo selectivamente las células β (células productoras de Insulina) de los Islotes de Langerhans, con una consecuente disminución del diámetro de los Islotes (36, 37, 38, 39) (Cuadros 17-22, 30). Algunos mecanismos se han propuesto para explicar la hipoglucemia consecuente a la administración de dicha sustancia, sin embargo, aún se desconoce su mecanismo de acción. Aún así, se sabe que la aloxana produce tres efectos, una vez administrada (36):

1.- Inhibe a la Insulina, antes de destruir los sitios de producción de la misma (células β), provocando inicialmente una fase de hipoglucemia.

2.- Degenera a las células β liberando grandes cantidades de Insulina, ocasionando la fase hipoglucémica severa (duración de 15 a 20 hrs) y a menudo fatal.

3.- Produce finalmente, hiperglucemia y glucosuria (diabetes declarada).

Una vez que se ha inducido la diabetes existen tres mecanismos que pueden explicar una posible regeneración de los Islotes de Langerhans y células β destruidos:

a) La regeneración de las células β a partir de procesos mitóticos de las células β residuales (37).

b) Durante la diabetización, las células α no son dañadas por la aloxana, y se caracterizan por presentar una enorme hiperplasia. Algunos autores suponen que las células α son parte de una etapa intermedia y que evolucionan hacia células β (37).

c) Regeneración de los Islotes pancreáticos a partir de una proliferación exagerada de los conductos intercalares (porción exócrina), lo que da origen a nódulos de hiperplasia llamados Islotes de conductos. A expensas de estos conductos y por diferenciación de sus células se originan los elementos específicos que caracterizan al islote, con formación de células α y las β . La sobreestimulación de la que son objeto las células β las conduce al agotamiento y luego a la necrosis persistiendo las células α (37).

El estudio histológico del tejido pancreático de todas y cada una de las ratas se efectuó a fin de determinar si la tendencia hipoglucemiante observada para esta planta se debía a alguno de los tres mecanismos de regeneración antes citados. Sin embargo los resultados revelaron que la planta no posee esta capacidad regeneradora, además la observación del tejido pancreático demostró la ausencia total de células β , y, en consecuencia, ausencia de insulina (Cuadros 18-22, 30).

3.- Las condiciones experimentales en el desarrollo del presente estudio no fueron las mismas para los individuos del material biológico utilizado. Por tal razón, no se logró realizar el manejo estadístico correspondiente con los valores de glucosa sérica obtenidos durante el tratamiento, con las diferentes dosis del extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens*. De tal forma, que no fue posible establecer con certeza la presencia o ausencia de el efecto hipoglucemiante popularmente atribuido para esta especie vegetal. Sin embargo, se observó la disminución de algunos síntomas típicos de la diabetes (20,22,23), es decir, disminución en la cantidad de líquido ingerido y de orina excretada, además de cierta tendencia de estabilidad para la actividad o del estado físico en algunas ratas, por algunos períodos; la ampliación del intervalo de sobrevivencia de los animales tratados en comparación con los no tratados, y la disminución de los niveles de glucosa en sangre observados durante el tratamiento (Gráficas 1 y 3) provocando incluso, en algunos, la muerte por hipoglucemia (Cuadro 13). Todas estas observaciones permiten suponer que la planta, administrada por vía oral, presenta cierta tendencia

hipoglucemiante (Gráficas 2 y 4) para los casos con hiperglucemia moderada y, en algunas ocasiones, con hiperglicemia elevada. Esta tendencia posiblemente sea mayor utilizando otra vía de administración.

De acuerdo a lo anterior, es factible que no se demostrara una marcada tendencia hipoglucemiante, para el extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens*, debido a los siguientes factores:

A).- La vía de administración: En algunos estudios sobre plantas con propiedades hipoglucemiantes (atribuidas popularmente) se ha demostrado que la administración oral de los preparados vegetales en animales de experimentación provocan efectos hipoglucémicos leves o nulos. Sin embargo, al ser administrados por otras vías (principalmente vía parenteral) se observa un marcado potencial hipoglucemiante (34, 35).

B).- A la presencia de constituyentes que pudieran actuar sinérgicamente, potenciando la acción farmacológica; o bien, pueden actuar en forma antagónica, incluso anulando la acción del principio activo de interés terapéutico (1).

Por otra parte, es importante mencionar algunos efectos importantes que se desarrollaron durante el tratamiento:

a) Inestabilidad de los valores de glucosa en sangre, una vez que se alcanzaron niveles bajos o normales de la misma (Cuadros 11-15; Gráfica 3).

b) En algunos casos se provocó una hipoglucemia mortal (Cuadro 13 Dosis 25.05).

c) La tendencia hipoglucemiante de la planta era menor a dosis bajas, y viceversa. Sin embargo, a dosis mayores esta tendencia, que si bien era más alta, indujo un mayor efecto tóxico (Cuadros 11, 13, 24-30; Gráfica 3; Histograma 2).

4.- Además del estudio histológico sobre el tejido pancreático, se analizaron también corazón y pulmón de todas las ratas, ya que en ratas con mayor tiempo de

tratamiento y con dosis más elevada se presentaron ciertas alteraciones visibles, tales como, dificultad para respirar e ingerir líquidos, agitación, acumulación de líquidos en tórax, a causa de un incremento en el diámetro de los vasos sanguíneos provocando un aumento en la permeabilidad de las células de los vasos con consecuente salida de líquidos, y constricción de vías respiratorias inferiores (pulmón), lo cual no pudo ser demostrado a través del estudio histológico, pero sí a nivel de un estudio anatómico macroscópico ya que se observaron zonas hipóxicas localizadas (lo puede conducir a necrosis del tejido). Así pues, los resultados del estudio histológico (histogramas 1 y 2) mostraron, tanto para los tejidos de corazón como pulmón, que la vasodilatación y la consecuente congestión fueron el resultado de un mecanismo de defensa ante la presencia de sustancias quimiotácticas o tóxicas. Probablemente, la presencia de glicósidos cardíacos en la planta, fue el móvil que desencadenó el mecanismo antes citado (6, 40, 41, 42), además de lo anterior todavía para pulmón se observó adicionalmente un edema intralveolar y un infiltrado inflamatorio agudo, signos de un proceso inflamatorio (Cuadros 24-29).

Sí bien al incrementar la dosis del extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens* el aparente efecto hipoglucemiante era mayor. Este se acompañó de una alta toxicidad a nivel de pulmón y corazón, provocando daños irreversibles aún cuando la dosis se disminuyera o suspendiera (5, 6) (Cuadro 30). Por lo tanto, si algunas localidades del estado de México (Mallinalco) utilizan el látex de esta planta por sus propiedades descongestionantes de las vías respiratorias superiores (5), con estos resultados se sabe que a nivel de vías respiratorias inferiores su efecto es fatal, ya que conduce a un cuadro de neumonía y finalmente la muerte.

Cuadro 30.- Evaluación Histológica (observaciones realizadas en tejidos pancreático, cardíaco y pulmonar).

lote/efecto	n	páncreas			
		vasodilatación y congestión	tejido exócrino	Islotes	tipo celular restante en los Islotes
normales sin tratamiento	4	+	normal	normal	α y β
normales con tratamiento (8.35 mg/día)	5	+	normal	normal	α y β
normales con tratamiento (33.4 mg/día)	5	+	normal	normal	α y β
diabetizada con tratamiento (8.35 mg/día)	6	+	normal	pequeños con pocas células centrales	α
diabetizada con tratamiento 16.70 mg/día	5	+	normal	pequeños con pocas células centrales	α
diabetizada con tratamiento (25.05 mg/día)	9	+	normal	pequeños con pocas células centrales	α
diabetizada con tratamiento (33.40 mg/día)	5	+	normal	pequeños con pocas células centrales	α

n = número de Individuos (ratas).

+ = leve (debido al stress causado por la muerte)

++ = moderada (dosis dependiente)

+++ = severa (dosis dependiente)

++++ = muy severa (dosis dependiente).

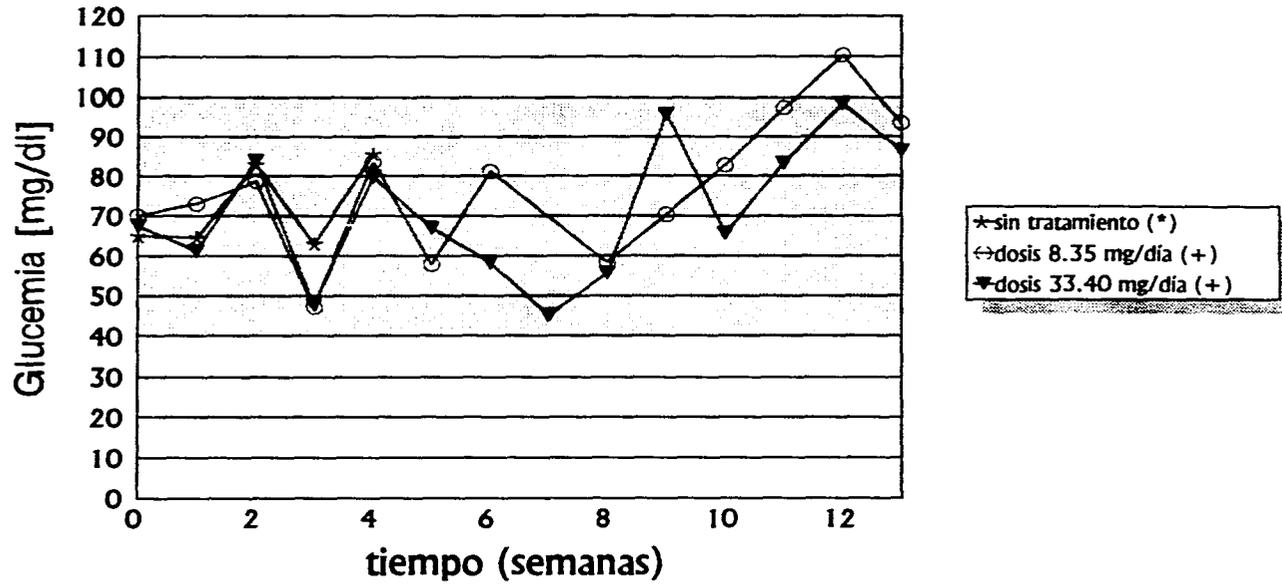
..... = sin efecto aparente.

Cuadro 30.- Evaluación Histológica (Continuación).

Ratas lote/efectos	n	corazón		pulmón		
		vasodilatación y congestión	tejido muscular estriado cardíaco	vasodilatación y congestión	edema Intraalveolar	Infiltrado Inflamatorio agudo
normales sin tratamiento	4	+	normal	+	-	-
normales con tratamiento (8.35 mg/día)	5	+++	normal	++	++	++
normales con tratamiento (33.4 mg/día)	5	++++	normal	++++	++++	++++
diabetizada con tratamiento (8.35 mg/día)	6	+++	normal	++	++	++
diabetizada con tratamiento (16.70 mg/día)	5	+++	normal	++	++	++
diabetizada con tratamiento (25.05 mg/día)	9	++++	normal	+++	+++	+++
diabetizada con tratamiento (33.40 mg/día)	5	++++	normal	++++	++++	++++

n = número de individuos (ratas).
 + = leve (debido al stress causado por la muerte)
 ++ = moderada (dosis dependiente)
 +++ = severa (dosis dependiente)
 ++++ = muy severa (dosis dependiente).
 - = sin efecto aparente.

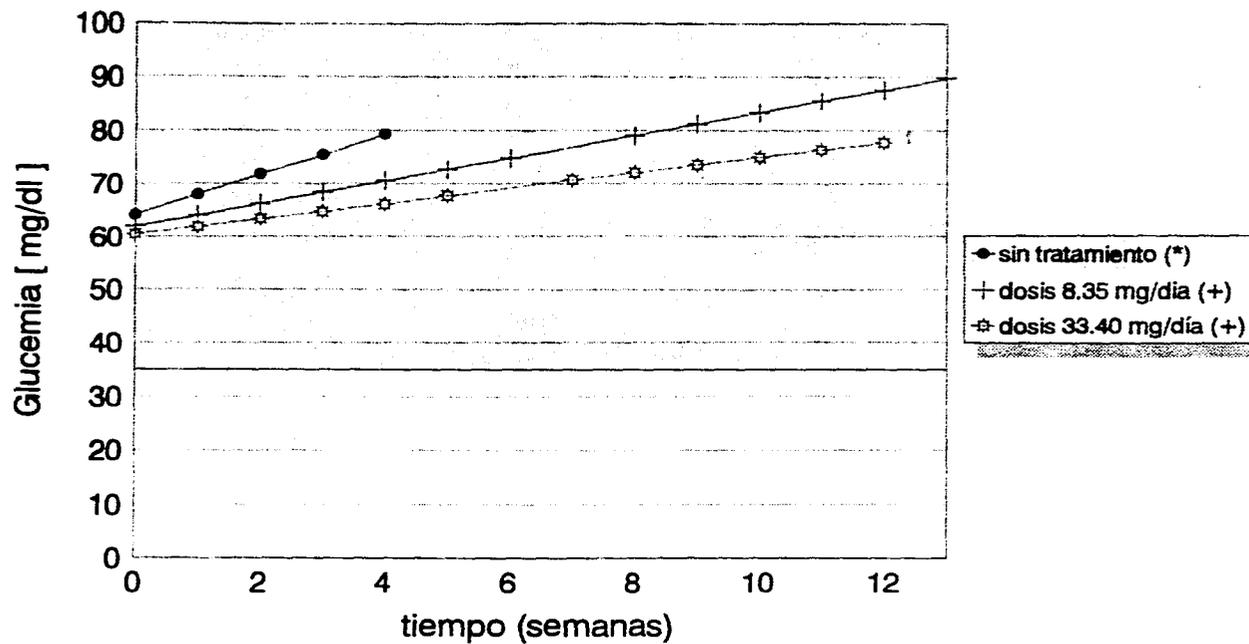
Gráfica 1.- Niveles Séricos de Glucosa
Rata sana sin y bajo tratamiento



(*) Lote sano sin tratamiento; (+) Lote sano bajo tratamiento

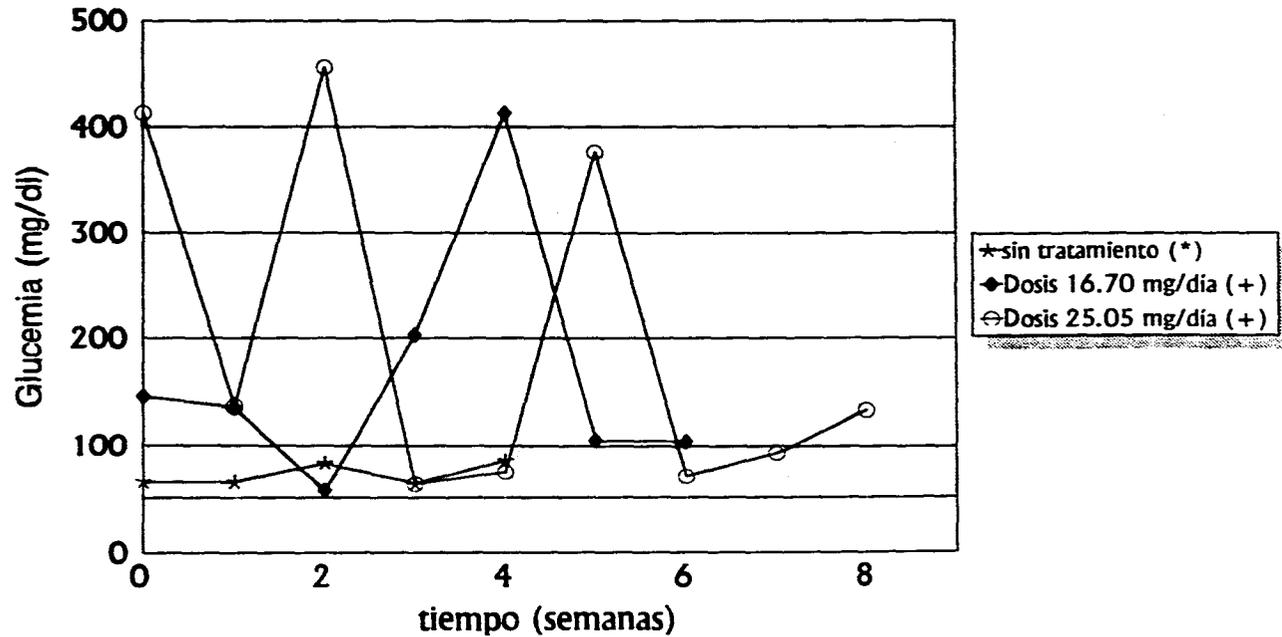
Gráfica 2.-Tendencia del Potencial Farmacológico del Extracto Alcohólico de *Asclepias glaucences*.

Niveles séricos de glucosa en rata sana con y sin tratamiento



(*) Lote sano sin tratamiento ; (+) Lote sano con tratamiento

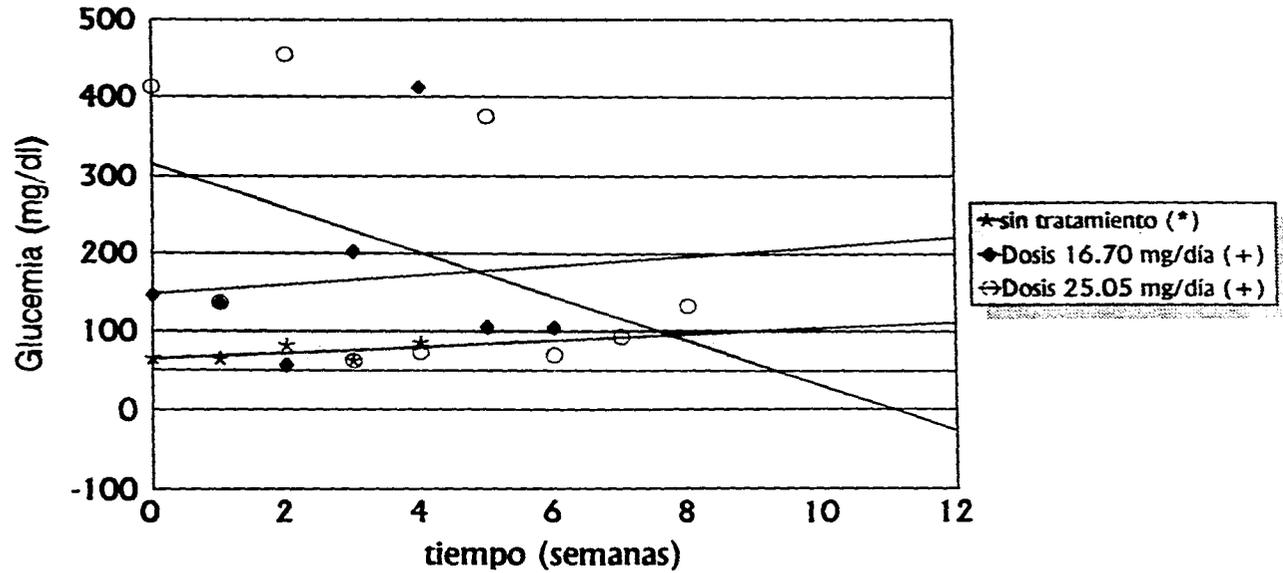
Gráfica 3.- Niveles Séricos de Glucosa
Rata sana sin tratamiento y diabética bajo tratamiento.



(*) Lote sano sin tratamiento; (+) Lote diabético con tratamiento.

Gráfica 4.- Tendencia del Potencial Farmacológico del Extracto Alcohólico de *Asclepias glaucences*.

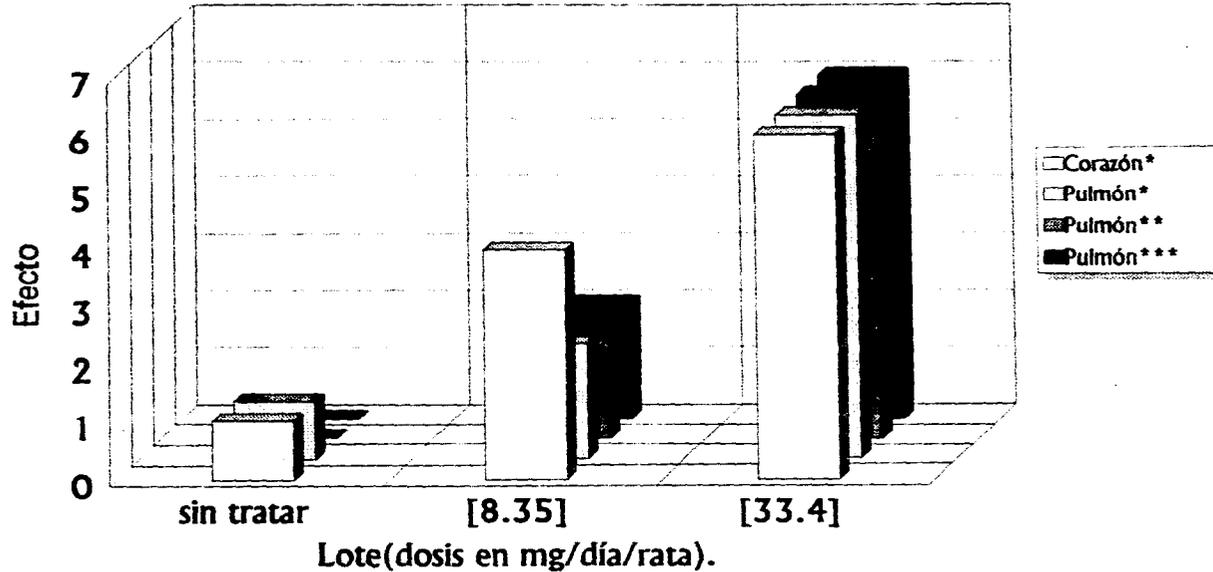
Niveles séricos de glucosa en rata sana sin tratamiento y diabetizada bajo tratamiento.



(*) Lote sano sin tratamiento; (+) Lote diabético con tratamiento.

Histograma 1.- Análisis histológico de Tejido Cardíaco y de Tejido Pulmonar.

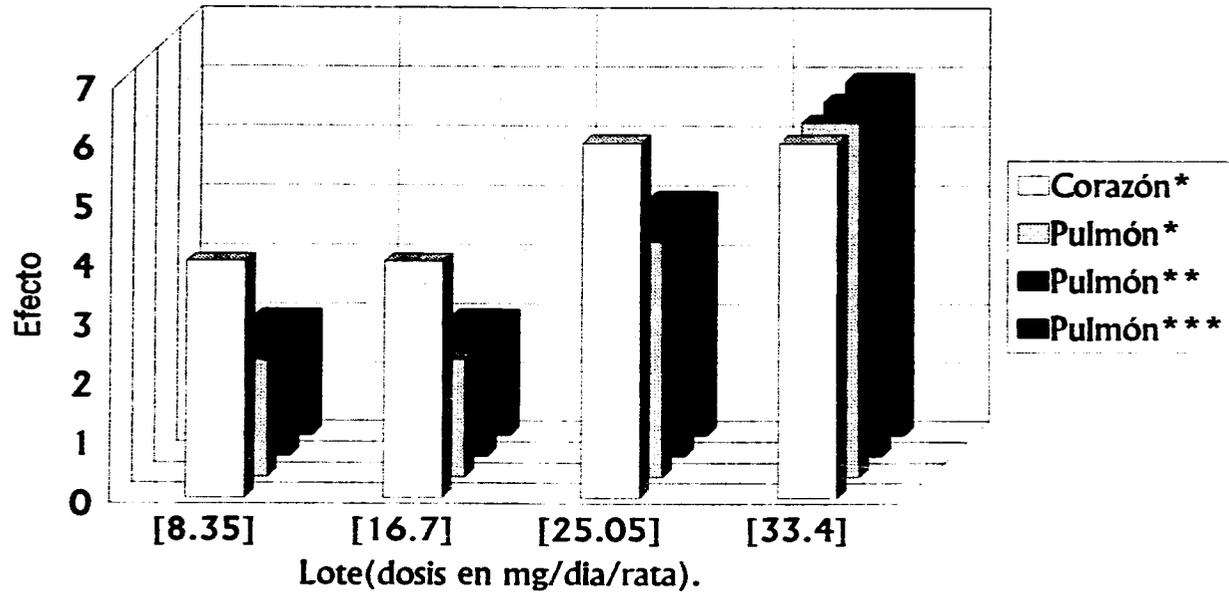
Efectos ocasionados por el extracto alcohólico de *Asclepias glauscences* en rata sana.



* Vaso dilatación y congestión.
** Edema intralveolar.
*** Inflamación aguda.

Histograma 2.- Análisis Histológico de Tejido Cardíaco y de Tejido Pulmonar.

Efectos ocasionados por el extracto alcohólico de *Asclepias glauscences* en rata diabetizada



63

* Vaso dilatación y congestión.
** Edema intralveolar.
*** Inflamación aguda.

CONCLUSIONES

El análisis fitoquímico preliminar de *Asclepias glaucescens* permite suponer la presencia de alcaloides y glucósidos cardiacos lo cual podría explicar los efectos tóxicos observados en las vías respiratorias inferiores y corazón. Cabe mencionar el hallazgo de zonas hipóxicas en muestras de tejido renal en un individuo de experimentación.

La evaluación de la actividad farmacológica realizada sobre el extracto alcohólico de la especie vegetal *Asclepias glaucescens*, no permitió demostrar de manera fehaciente el potencial antidiabético atribuido popularmente a la planta oreja de liebre (3). Sin embargo, se observó un cierto efecto con tendencia hipoglucemiante sobre ratas sanas y diabéticas, cuando se administró el extracto vegetal por vía oral, observándose el mejor efecto a la dosis de 250 mg/ día/ rata (gráfica 3).

El análisis histológico practicado sobre muestras de tejido pancreático de ratas diabéticas, y en ratas sanas (sin y con tratamiento), demostró que el agente diabético (aloxana) destruye completamente las células β . Por otra parte, se observó que el material vegetal administrado en diferentes dosis, a las ratas diabéticas, no promueve algún tipo de regeneración celular.

Es posible que otros factores hayan influido para que el extracto alcohólico de *Asclepias glaucescens* no presentara una marcada tendencia hipoglucemiante: en primer lugar se considera a la vía de administración y, en segundo lugar, la presencia de sustancias que actuaran de manera antagonica pudiendo anular la acción del principio activo de interés farmacológico.

El análisis histológico adicional practicado sobre los tejidos cardíaco y pulmonar permitió observar un efecto secundario tóxico a nivel celular, detectado primeramente en forma de síntomas y comportamientos inusuales en el material biológico de experimentación. La administración del extracto por vía oral provocó edema intraalveolar y un cuadro de inflamación aguda en dichos tejidos.

El severo efecto tóxico demostrado por *Asclepias glaucescens* en distintos tejidos de los animales de experimentación, permite señalar los riesgos que existen al utilizar esta planta en la medicina tradicional o como remedio casero. Por lo tanto, se plantea el prohibir su utilización mientras no se realice una investigación exhaustiva sobre su potencial farmacológico y/o una forma de administración que inhiba dicho efecto secundario.

ANEXOS

PROPUESTA DE PROTOCOLO DE INVESTIGACION.

Título:

Evaluación del potencial hipoglucemiante de *Asclepias glaucescens*.

Objetivos:

1.-Estandarizar las condiciones experimentales para la evaluación del potencial hipoglucemiante de *Asclepias glaucescens*.

2.-Verificar el potencial hipoglucemiante observado para el extracto alcohólico de *A. glaucescens*.

3.-Preparar otros extractos con distintos disolventes para evitar la presencia de glicósidos cardiacos, a fin de evaluar el efecto hipoglucemiante en los mismos.

Metodología Experimental.

I.-Selección y tratamiento del material vegetal.

1.- Colectar la planta después de haber sufrido la influencia de las heladas.

2.- Lavar, secar y separar cada una de las partes constitutivas de la planta (raíz, tallo, hojas y flores).

3.- Triturar y Moler por separado cada una de las partes de la planta.

4.- Realizar pruebas fitoquímicas preliminares a cada una de las partes constitutivas de la planta.

5.- Juntar aquellas partes que hayan dado negativo para glicósidos cardiacos, en caso de que ninguna parte haya dado negativo trabajar con la planta entera.

6.- A partir de la parte o partes que hayan dado negativo para glicósidos cardiacos preparar, además del extracto alcohólico, otros extractos con disolventes no polares (para la preparación del extracto alcohólico remitirse al artículo indicado en la referencia 2.

II.-Selección y tratamiento del material biológico.

1.- Utilizar un lote de 150 ratas macho jóvenes (120-150 gr.), raza wistar, las cuales serán sometidas al siguiente proceso:

a).- Después de pesar y marcar debidamente a todos los animales, someterlos a un ayuno nocturno a fin de practicar al otro día una prueba oral de tolerancia a la glucosa.

b).- Utilizar para el desarrollo experimental únicamente aquellos animales que hayan cumplido con los siguientes criterios:

b.1.- Niveles en ayunas de azúcar en sangre por debajo de 85 mg/dl.

b.2.- 60 minutos después de la carga de glucosa niveles de azúcar de sangre por debajo de 150 mg/dl.

b.3.- Regreso a los niveles de ayuno en 150 minutos.

c).- Siete días después de realizada la prueba oral de tolerancia a la glucosa, mantener en ayuno durante dos horas a todos aquellos animales que hayan cumplido los criterios anteriores, a fin de administrar a la mitad del lote una inyección de 55 mg/kg de peso de estreptozotocina, vía intravenosa. Usando como vehículo para la misma un buffer de citrato 0.1 M con un pH de 4.5, así mismo, a la mitad remanente del lote le será administrado únicamente el buffer de citrato.

d) -Después de la inyección dar a todos los animales alimento y agua ad libitum.

e).- Treinta y seis horas después de la administración de la estreptozotocina y el buffer de citrato, determinar los niveles de glucosa en sangre de todos los animales. A partir de esta determinación, medir cada ocho días durante un mes (32 días) los niveles de glucosa en sangre.

III.-Evaluación biológica.

1.-A partir de las ratas que quedaron diabéticas, obtener cinco lotes de los cuales cuatro corresponderán a diabéticas con tratamiento y uno a diabéticas sin tratamiento, lo mismo se hará con las ratas normales. Las ratas que no hayan quedado diabéticas desecharlas y trabajar únicamente con aquellas en las que se logró la diabetización.

2.- Administrar a uno de los lotes de las ratas diabéticas el extracto alcohólico de la planta; a otro el extracto purificado y reprecipitado obtenido a partir del primero; al siguiente, el extracto clorofórmico y al último el extracto hexánico, además de tener un lote testigo (diabético sin tratamiento), lo mismo se hará para el lote de ratas normales (la dosis será de 20mg/ día/ rata vía oral, administrada por las mañanas).

3.- Iniciar el mismo día, en el tratamiento, a todas las ratas que han de recibirlo.

4.- Determinar cada cinco días a partir de iniciado el tratamiento los niveles de azúcar en sangre, a fin de poner término a éste, una vez que los animales hayan alcanzado niveles normales de azúcar en sangre en ayunas.

5.- Una vez alcanzados los niveles normales, mantener a los animales, por un período adicional de cuarenta días bajo alimento ad libitum.

6.-A los noventa y cinco días a partir de alcanzados los niveles normales, practicar una prueba oral de tolerancia a la glucosa tanto en los grupos diabéticos tratados, como normales con y sin tratamiento.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

IV.- Tratamiento de datos.

1.- Sacrificar a todos los animales por decapitación, dos días después de la prueba oral de la glucosa, y, extirpar los tejidos pancreático y bazo además de aquel o aquellos órganos que macroscópicamente presenten alguna anomalía.

2.- Realizar el análisis estadístico con los niveles de glucosa en sangre obtenidos a lo largo del tratamiento, mediante la prueba de T student.

3.- Efectuar el estudio histológico con los órganos extirpados al final del experimento.

Nota Importante: Es de suma importancia que el experimento se apegue en lo más posible al experimento del cual se parte, a fin de no tener muchas variables que modifiquen considerablemente los resultados obtenidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sánchez Quintana, María de Jesús (1992). Estudio del efecto hipoglucemiante de *Parmentiera edulis* en humanos (Tesis de Licenciatura). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México D.F.
- 2.-E.R.B. Shanmugasundaram., K. Leela Gopinath., K. Radha Shanmugasundaram and V.M. Rajendran (1990). Possible regeneration of the Islets of Langerhans in streptozotocin-diabetic rats given *Gymnema sylvestre* leaf extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 30, 265-269.
- 3.-Del amo R. S. (1979). Plantas Medicinales del Estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigación sobre Recursos Bióticos. Jalapa Veracruz, p. 19.
- 4.- A. Gallego., J. Tamart y J. Vázquez Sánchez (1974). Ensayos farmacológicos Preliminares en plantas del "Herbario L' Amagatall". *Ciencia*, 2, 151-180 .
- 5.- B.P.S. Alvarez., M.B.M. Berdeja., C.M.E. Meléndez y V.M.E. Ordórika (1993). Estudio Fitoquímico y Farmacológico del látex de *Asclepias glaucescens* (oreja de liebre). *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 23, 21-25.
- 6.- Bello Solís, Verónica (1990). Estudio Químico y Farmacológico de los Glicósidos Cardíacos de la raíz de *Asclepias glaucescens* (Tesis de Licenciatura). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México D.F.
- 7.- Mrs. M. Cheve, (1982). A Modern Herbal. Vol. 1 (A-H). Dover Publications, INC. New York.
- 8.- D.M. Harrison., (1979). Esteroidal Alkaloids of the Asclepladaceae. *Alkaloids* (London) 96, 238-250.
- 9a.- F.Khuong-Huu and R. Goutard, (1974). Steroidal Alkaloids of the Apocynaceae, Buxaceae and Asclepladaceae and of the Salamandra-Phyllobates Group. *Alkaloids* (London) 4, 346-382.
- 9b.- F.Khuong-Huu and R. Goutard, (1975). Steroidal Alkaloids of the Apocynaceae, Buxaceae and Asclepladaceae and of the Salamandra-Phyllobates Group. *Alkaloids* (London) 5, 242-255.
- 10.- Zhuang-Xin Zhang, Jun Zhou, Koji Hayashi and Hiroshi Mitsuhashi, (1985). Studies on the constituents of Asclepladaceae Plants. LVIII. The structures of Five Glycosides, Cynaratoside-A,-B,-C,-D and -E, from the Chinese Drug "Pal-wel", *Cynanchum atratum* BUNGE. *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 33, 1507-1514.
- 11.- Janet Van Emon and James N. Selber (1985). Chemical Constituents and Energy content of Two Milkweeds, *Asclepias speciosa* and *Asclepias curassavica*. *Economic Botany*, 39, 47-55.

- 12.-S. Sankara Sobramanian and A.G.R. Nair (1968). Flavonoids of some Asclepiadaceous Plants. *Phytochemistry*, 7, 1703-1704.
- 13.- James N. Selber, Carolyn J. Nelson and S. Mark Lee (1982). Cardenolides in the Latex and Leaves of seven Asclepias species and *Calotropis procera*. *Phytochemistry*, 21, 2343-2348.
- 14.-Xorge A. Domínguez, Jorge Marroquí, Luz Ma. Olgún, Francisco Morales and Victoria (1974). β -Amyrin Juarezate a novel ester from *Marsdenia pringlei* and Triterpenes from *Asclepias linaria*. *Phytochemistry*, 13, 2617-2618.
- 15.-G. Fonseca, L. Rodríguez-Hahn, M. Tablero, A. Rodríguez and B. Arreguín (1991). Labriformin, A cardiac glucoside from *Asclepias glaucescens*. *Journal of Natural Products* 54, 860-862.
- 16.- Blanca E. Barragán Huerta (1981). Aislamiento y Caracterización de una Nueva Enzima Proteolítica a Partir de *Asclepias glaucescens* (Tesis de Licenciatura). Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional. México D.F.
- 17.- Blanca E. Barragán, María Teresa Cruz, Luz María del Castillo and M. Castañeda Agullo (1985). Proteinases of Mexican Plants XI. Asclepain G from The Latex of *Asclepias glaucescens*. *Revista Latinoamericana de Química*, 16/2, 117-119.
- 18.- M. Tablero, R. Arreguín, S. Arreguín Barbarín, M. Sánchez, Rosa I., A. Rodríguez Romero, A. Hernández Arana (1991). Purificación y Caracterización de Formas Múltiples de Asclepaina G a partir de *Asclepias glaucescens* without H.B.K. *Plant Science* 74, 7-15.
- 19.- Stanley L. Robbins, M.D., Ramzis Cotran, M.D. and Vinay Komar, M.D. *Patología Estructural y Funcional* (3ra Edición, 1987). Nueva Editorial Interamericana.
- 20.- Daniel Figuerola. *Diabetes*. (2da. Edición, 1990). Salvat editores S.A.
- 21.- M. Jimenez Casado (Fundación Jimenez Díaz). *Patología Médica*, edición 1986, Tomo II. Salvat Editores S.A.
- 22.- Arturo Zárate Treviño. *Diabetes Mellitus. Bases para su Tratamiento*. Edt. Trillas 1ra. edición, 1986.
- 23.- Borisklotz. *La Diabetes en el Adulto y su Tratamiento*. El Ateneo, 1ra. edición, 1971.
- 24.- Susanne LoebI, George Spratt, Ph.D., Estelle Heckhelmer, M.A., R.N. *Manual de Farmacología*. Limusa, 1ra. edición, 1986.
- 25.- Robert C. Bohinski. *Bioquímica*. 2da. edición, 1978, Edt. Iberoamericana.
- 26.- Dr. Arthur C. Guyton. *Tratado de Fisiología Médica*. Interamericana- McGraw-Hill, 8va. edición.

- 27.- Irma Martínez Ortiz (1980). Etnobotánica Mexicana de Plantas usadas Popularmente para el Tratamiento de la Diabetes (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias, Departamento de Biología, UNAM, México D.F.
- 28.- Dr. Xorge Alejandro Domínguez. Métodos de Investigación Fitoquímica. 1988, Edit. Limusa.
- 29.- Trease G.E. and Evans W.C. Tratado de Farmacognosia. 3ra. edición, 1984. SECSA, México D.F.
- 30.- Diagnostica Merck, Merk de México, S.A. 740393.
- 31.- Dr. Matthew J. Lynch, Dr. Stanley S. Raphael, Dr. Leslie D. Mallor, Dr. Peter D. Spare and Dr. Martin J.H. Inwood. Métodos de Laboratorio. 2da. edición. Edit. Interamericana (1099-1167).
- 32.- Q.B.P. Julleta Herrera Martínez, Q.B.P. Margarita Becerril Mendoza, Q.B.P. Beatriz Arta Tapla, Q.B.P. Maribel Castañeda Herrera, Q.B.P. María de los Angeles Pérez Guerrero. Manual de Anatomía Teórico-Práctico. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México D.F., 1994.
- 33.- Luna L.G. Manual of Htologic Staining Methods. The Armed Forces. Institute of Pathology (105-108). American Registry of Pathology. McGraw-Hill Book. New York, 1960.
- 34.- M.D. Ivorra, M. Paya and A. Villar (1989). A review of Natural Products and Plants as potential antidiabetic drugs. *Journal of Ethnopharmacology*, **27**, 243-275.
- 35.- Atta-Vr-Rahman and Khurshid Zaman (1989). Medicinal Plants with hypoglycemic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **26**, 1-55.
- 36.- Martín G. Goldner y George Gomori (1944). Mechanism of The Diabetogenic Action of Alloxan. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **55**, 73-75.
- 37.- Di Pietro, Arturo (1945). Acción del Alozano sobre los Islotes de Langerhans de la rata. *Revista de la Sociedad Argentina de Biología*, **21**, 259-272.
- 38.- G. Gomori and M.G. Goldner (1943). Production of Diabetes Mellitus in rats with Alloxan. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **54**, 287-290.
- 39.- J. Shaw Dunn and M.D. Glasg (1943). Necrosis of Islets of Langerhans Produced Experimentally. *Lancet* **1**, 484-487.
- 40.- Dr. Stanley L. Robbins. Tratado de patología. 3ra. ed. Edit. Interamericana.
- 41.- L. Robbins, Stanley M.D.; S. Cetran, Ramal M.D., and Vinay Kumar M.D. Manual de Robbins. Patología Estructural y Funcional. Ed. Interamericana McGraw-Hill.

42.- Raúl Contreras Rodríguez. Anatomía patológica General. Ed. Interamericana McGraw-Hill.

43.- Alain Junod, André E. Lambert, Werner Stauffer, and Albert E. Renold (1969). Diabetogenic Action of Streptozotocin: Relationship of dose to Metabolic Response. *The Journal of Clinical Investigation*, 48, 2129-2139.

44.- A. Junod, A.E. Lambert, L. Orsi, R. Pictet, A.E. Gonet, and A.E. Renold (1967). Studies of the diabetogenic action of streptozotocin. *Prog. Soc. Exp. Biol. Med.*, 126, 201-205.

45.- K. R. L. Mansford and Lionel Opie (1968). Comparison of metabolic abnormalities in diabetes mellitus induced by streptozotocin or by alloxan. *Lancet* 1, 670-671.

46.- R.N. Arison, Ph. D.; E.I. Clacchio, Ph. D.; M.S. Giltzer, Ph. D., J.A. Cassaro, A.B.; and M.P. Pruss, B.S., Rahway, New Jersey (1967). Light and electron microscopy of lesion in rats rendered diabetic with streptozotocin. *Diabetes*, 16, 51-56.

47.- Hernández Bronchud, Miguel. La industria del DNA, Principios básicos y potencial futura. Edic. MCR, S.A. Barcelona, 1992, pp. 73-123 y 157-175.