



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**



**FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA**

**“Evaluación del efecto hipolipemiante y antioxidante del extracto metanólico de  
Damiana (*Turnera diffusa*) en suero y riñón de ratas diabéticas”**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

PRESENTA:

**MALINALI AMBRIZ ORTIZ**

DIRECTOR DE TESIS:

**DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS ALFREDO SAAVEDRA MOLINA**

COASESOR:

**D.C RAFAEL SALGADO GARCIGLIA**

**MORELIA, MICHOACÁN, JUNIO DEL 2015**

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Javier y María del Pilar, por su gran apoyo, su gran compromiso, sus consejos, por darme vida y abrirme las puertas del conocimiento.

A mi novio, Brian, por brindarme una serie de momentos maravillosos e interminables, por su gran ternura y el amor que me hace seguir adelante, sus enseñanzas, por caminar juntos hacia está pendiente especialmente a ti porque tienes todo de mí.

A mi hermano Inti, siempre fuiste mi confidente mi mejor amigo que nunca volverá sé que algún día volveremos a encontrarnos y estarás orgulloso por mis logros siempre tendrás un lugar en mi corazón te extraño. Por ese largo adiós.

A mi hermano Guyen, siempre estás ahí para molestarme te quiero mucho hermano sé que estas orgulloso de mí.

Al Dr. Saavedra y a Mónica, por su apoyo y aceptación por brindarme su amistad sincera y agradable, sus consejos, sus palabras de aliento, por darme un lugar en su laboratorio de bioquímica es un orgullo formar parte de su equipo.

## AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Alfredo Saavedra Molina**, por su amistad, su asesoría y su apoyo recibido durante la realización de mi trabajo de tesis y por haberme recibido en su laboratorio, siempre se lo agradeceré por ayudarme en mi titulación.

Al **Dr. Rafael Salgado Garciglia**, por su amistad, su asesoría y su apoyo recibidos durante la realización de este trabajo y por haberme recibido en su laboratorio para la obtención de los extractos de *Turnera diffusa*.

A la **Dra. Lilia Alcaraz Meléndez**, del CIBNOR, La Paz, Baja California Sur por la donación de las plantas de damiana.

Al **M.C. Rafael Torres Martínez**, por su amistad, sus consejos y su apoyo prestado en la obtención del extracto metanólico de *Turnera diffusa*.

A la **Q.F.B. Mónica Clemente Guerrero**, por su amistad, sus consejos y apoyo prestado para la realización del trabajo experimental.

Al **Dr. Salvador Manzo Avalos**, por su amistad, sus consejos y su apoyo prestado al revisar mi trabajo.

Al **M.C. Raúl Chávez Garibay**, por su amistad, sus consejos y su apoyo prestado al revisar mi trabajo.

A la **M.C. Flora María Cabrera Matías**, por su amistad de hace ya tiempo, sus consejos y su apoyo prestado al revisar mi trabajo.

A la **Dra. Ruth Noriega Cisneros**, por su ayuda en la revisión de esta Tesis y su asesoría en el trabajo experimental realizado.

# ÍNDICE

	<b>Páginas</b>
ÍNDICE DE CUADROS .....	vii
ÍNDICE DE GRÁFICAS .....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	viii
GLOSARIO .....	ix
ABREVIATURAS.....	xii
RESUMEN .....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 Diabetes mellitus .....	3
1.2 Estrés oxidativo .....	4
1.3 Diabetes mellitus y estrés oxidativo .....	5
1.4 Lípidos.....	6
1.5 Colesterol total.....	8
1.6 Triacilglicéridos.....	8
1.6.1 Biosíntesis de los triacilglicéridos .....	9
1.7 Lipoproteínas .....	12
1.7.1 Transporte y utilización de las lipoproteínas .....	13
1.8 Metabolismo de los lípidos.....	17

1.8.1	Alteración de los lípidos en el organismo .....	18
1.9	Lipoperoxidación.....	19
1.10	Plantas medicinales con efecto antioxidante .....	20
1.11	Damiana ( <i>Turnera diffusa</i> Willd.).....	25
2.	JUSTIFICACIÓN.....	30
3.	HIPÓTESIS .....	31
4.	OBJETIVO .....	32
4.1	Objetivo general .....	32
4.2	Objetivos particulares.....	32
5	MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5.1	Material vegetal .....	33
5.2	Preparación del extracto .....	33
5.3	Animales.....	33
5.4	Inducción de la diabetes .....	34
5.5	Protocolo experimental.....	34
5.6	Efectos de <i>Turnera diffusa</i> sobre la glucemia y el peso corporal.....	34
5.7	Obtención de las muestras para las determinaciones bioquímicas.....	34
5.8	Determinación de los niveles de glucosa y el perfil de lípidos en suero.....	35
5.9	Medición de la lipoperoxidación en suero.....	36
5.10	Recolección de muestras de riñón para la obtención de mitocondrias .....	37

5.11	Aislamiento de mitocondrias de riñón.....	37
5.12	Determinación de los niveles de lipoperoxidación en mitocondrias de riñón.....	37
5.13	Análisis e identificación de compuestos por cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM).....	38
5.14	Análisis estadístico .....	39
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
6.1	Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la ganancia de peso y los niveles de glucosa durante el tratamiento. ....	40
6.2	Registro del consumo de agua y alimento durante el tratamiento.....	42
6.3	Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la glucemia y el perfil de lípidos .....	44
6.4	Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la lipoperoxidación en suero.	48
6.5	Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la lipoperoxidación en mitocondrias de riñón. ....	50
6.6	Análisis de los compuestos presentes en el extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> .....	51
7	CONCLUSIÓN .....	52
8	LITERATURA CITADA.....	53
9	ANEXOS .....	61

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Páginas</b>
Cuadro 1. Clasificación de lípidos y ejemplos más comunes.....	8
Cuadro 2. Registro de la ganancia de peso durante el tratamiento.....	41
Cuadro 4. Registro del consumo de alimento y agua durante el tratamiento .....	43
Cuadro 5. Análisis e identificación de compuestos del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.....	51

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

	<b>Páginas</b>
Grafica 1. Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre los niveles de glucosa.....	45
Grafica 2. Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre los niveles de colesterol total. .....	46
Grafica 3. Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre los niveles de triacilglicéridos. .....	48
Grafica 4. Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la lipoperoxidación en suero. .....	49
Grafica 5. Efecto del extracto metanólico de <i>T. diffusa</i> sobre la lipoperoxidación en las mitocondrias de riñón. ....	50



## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Páginas</b>
Figura 1. Estructura de la molécula de Colesterol.....	8
Figura 2. Estructura de la molécula de triacilglicérido.....	9
Figura 3. Relación de la deficiencia de insulina y las alteraciones en el metabolismo de los triglicéridos en la diabetes mellitus .....	10
Figura 4. Metabolismo de las VLDL en pacientes diabéticos.....	11
Figura 5. La vía exógena .....	13
Figura 6. La vía endógena .....	15
Figura 7. Molécula de LDL, HDL y Quilomicrón .....	17
Figura 8. Mecanismo de inicio y propagación de la lipoperoxidación.....	20
Figura 9. Fármacos más comunes utilizados en el tratamiento de la Diabetes Mellitus .....	25
Figura 10. <i>Turnera diffusa</i> .....	26

## **GLOSARIO**

**Abaxial:** Es un término botánico que se refiere a aquella parte de la planta que se encuentra más alejada de un eje dado (envés).

**Adaxial:** Órgano o parte de un órgano más próximo con respecto a un eje, en las hojas la cara adaxial corresponde al (haz); se opone a abaxial.

**Antioxidante:** Sustancia que evita la oxidación de otras sustancias, a través de su propia oxidación. Se consideran sustancias antioxidantes las vitaminas A, C y E, el zinc, el selenio, etc.

**Célula beta:** Célula constituyente de los islotes de Langerhans, sintetizan y segregan la insulina, una hormona que controla los niveles de glucosa en la sangre.

**Disbetalipoproteinemia familiar:** Es un trastorno transmitido de padres a hijos que provoca altas cantidades de colesterol y triglicéridos en la sangre.

**Enzima:** Molécula orgánica de naturaleza proteica que interviene en todas las reacciones del metabolismo acelerando su velocidad y favoreciendo las transformaciones bioquímicas.

**Especies reactivas de oxígeno:** Son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada.

**Estrés oxidativo:** Pérdida del equilibrio entre la producción de radicales libres o de especies reactivas de oxígeno y los sistemas de defensa antioxidante, y que tiene efectos deletéreos sobre los carbohidratos, los lípidos y las proteínas.

**Fitoterapia:** Uso de los principios activos contenidos en las plantas con fines terapéuticos.

**Glicemia:** Cantidad de glucosa contenida en la sangre (g/L).

**Glicosilación:** Proceso bioquímico en el que se adiciona un glúcido a otra molécula.

**Hipercolesterolemia:** Aumento del nivel de colesterol en sangre por encima de 2,5 g/L.

**Hiperglicemia:** Exceso de glucosa en la sangre por encima de 110 mg/dL.

**Hipoglucemiante:** Fármaco o sustancia que disminuye la concentración de glucosa en el organismo.

**Hiperlipemia:** Aumento de los niveles de lípidos en sangre.

**Hiperquilomicronemia:** Aumento de la concentración plasmática de quilomicrones. Tiene lugar en la hiperlipoproteinemia tipo 1, por una deficiencia de la enzima lipoproteinlipasa y en la tipo 5, donde se asocia con la elevación de partículas VLDL.

**Hipolipemiante:** Sustancia o fármaco que reduce la concentración de lípidos en la sangre.

**Hipertrigliceridemia:** Elevación anormal del nivel de triglicéridos en sangre.

**Hormona:** Molécula de naturaleza proteica, lipídica, etc. segregada por glándulas y transportadas por la sangre hasta los órganos en los que ejerce su acción (activando o inhibiendo su actividad).

**Insulina:** Hormona proteica segregada por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans del páncreas cuya acción es antagónica a la del glucagón y la adrenalina. La insulina disminuye la concentración de glucosa en la sangre y favorece su transformación a glucógeno. También actúa sobre el metabolismo de los lípidos y las proteínas.

**Metabolismo:** Conjunto de reacciones químicas y de procesos fisiológicos que se desarrollan en el organismo a fin de proporcionar la energía y las sustancias básicas para

formar, nutrir, reparar los tejidos y órganos y para producir sustancias esenciales (hormonas, enzimas y anticuerpos).

**Mitocondria:** Orgánulo presente en todas las células eucariotas. Consta de una doble membrana, una exterior lisa, muy permeable y rica en complejos enzimáticos, y una interior fuertemente replegada. En las mitocondrias se lleva a cabo el ciclo de Krebs y la beta-oxidación de los ácidos grasos, lo que permite obtener energía en forma de ATP.

**Polidipsia:** Sed excesiva.

**Polifagia:** Hambre voraz excesiva.

**Poliuria:** Secreción y emisión abundantes de orina.

**Radical libre o prooxidante:** Átomos o conjuntos de ellos que disponen de un electrón sin aparear, una condición que les confiere inestabilidad y reactividad.

**Tejido:** Conjunto de células diferenciadas y especializadas en realizar una determinada función. Las células que conforman un tejido pueden ser semejantes o pertenecer a modelos distintos.

(Definiciones basadas en el: Diccionario Técnico científico online, 2015).

## **ABREVIATURAS**

**AGE:** (Advanced glyccation end products) Productos finales avanzados de glicación.

**ATP:** Adenosintrifosfato.

**Col:** Colesterol.

**cHDL:** Colesterol HDL

**cLDL:** Colesterol LDL

**DM:** Diabetes mellitus.

**DM1:** Diabetes mellitus tipo 1.

**DM2:** Diabetes mellitus tipo 2.

**ER:** Especies reactivas.

**ERO:** Especies reactivas oxígeno.

**EOx:** Estrés oxidativo.

**FABP:** (Fatty Acid Binding Protein). Proteína de unión a ácidos grasos.

**HDL:** Lipoproteínas de alta densidad.

**HTGL:** Hipertrigliceridemia.

**H2O2:** Peróxido de hidrógeno.

**IDL:** Lipoproteínas de densidad intermedia

**LDL:** Lipoproteínas de baja densidad

**LDL:** Lipoproteínas de baja densidad.

**O<sub>2</sub><sup>-</sup>**: Radical superóxido.

**RCS**: Especies reactivas de cobre.

**RIS**: Especies reactivas de hierro.

**RNS**: Especies reactivas de nitrógeno.

**RL**: Radical libre.

**ROS**: (Reactive oxygen species). Especies reactivas de oxígeno.

**TAG**: Triacilglicéridos.

**TBARS**: Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico.

**VLDL**: Lipoproteínas de muy baja densidad.

## RESUMEN

La Diabetes mellitus (DM) al presentarse se es incapaz de metabolizar completamente los carbohidratos y los lípidos, debido a la insuficiencia en la producción de insulina por parte de las células beta ( $\beta$ ) del páncreas, lo cual lleva a un aumento en el estrés oxidativo y otras complicaciones, que en su conjunto ocasionan la muerte. Damiana (*Turnera diffusa*) es una planta recientemente estudiada por sus propiedades antioxidantes. Se determinó la actividad hipolipemiante, antioxidante en suero y en mitocondrias de riñón del extracto metanólico de *T. diffusa*, además, se realizó una cromatografía de gases para la identificación de los compuestos presentes. Se utilizaron ratas Wistar macho, las cuales fueron divididas aleatoriamente en 4 grupos de 5-6 ratas. Grupo I, control (C) (vehículo, etanol 50%); Grupo II, control + *Turnera diffusa* (C+Td) (30 mg / kg de peso); Grupo III, diabético (D) (vehículo, etanol 50%); Grupo IV, diabético + *Turnera diffusa* (D+Td) (30 mg / kg de peso). Los resultados demostraron que al comparar el grupo D + Td vs. el grupo D, el primero presentó una tendencia al reducir los niveles de colesterol (52.4 mg/dL vs. 60 mg/dL, respectivamente) y triacilglicéridos (76 mg/dL vs. 96.8 mg/dL respectivamente), además, tiene capacidad de reducir la lipoperoxidación en suero (5 nmolas/mL vs 7.4 nmolas/mL respectivamente) y en las mitocondrias de riñón no presentó un efecto antioxidante (0.154 nmolas/mL vs 0.147 nmolas/mL, respectivamente). "El análisis cromatográfico de gases-espectrometría de masas del extracto metanólico de *T. diffusa* demostró la presencia de los siguientes compuestos": eudesmol, guaiol, maltol, fitol y limoneno con mayor importancia bioquímica. El extracto metanólico de *T. diffusa* presenta actividad hipolipidémica y antioxidante en suero.

Palabras clave

Diabetes, Metabolismo, compuestos antioxidantes, radicales libres estres oxidativo.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) arising is unable to fully metabolize carbohydrates and lipids, due to insufficient production of insulin by cells beta ( $\beta$ ) of the pancreas, which leads to an increase in oxidative stress and other complications, which together cause the death. Damiana (*Turnera diffusa*) is a plant recently studied by its antioxidant properties. Hypolipidemic and antioxidant activities were measured in serum and in kidney mitochondria with the methanol extract of *T. diffusa*, also held a gas chromatography to the identification of the compounds present. Male Wistar rats were randomly divided into 4 groups of 5-6 rats which were used. Group I, control (C) (vehicle, 50% ethanol); Group II, control + *Turnera diffusa* (C+Td) (30 mg / kg of weight); Group III, diabetic (D) (vehicle, 50% ethanol); Group IV, diabetic + *Turnera diffusa* (D+Td) (30 mg / kg of weight). Results showed by comparing Group D + Td vs. Group D first presented a hypolipidemic activity by reducing cholesterol levels (52.4 mg/dL vs. 60 mg/dL respectively) and triacilglycerides (76 mg/dL vs. 96.8 mg/dL respectively), also has the ability to reduce the lipoperoxidación in serum (5 nmolas/mL vs. 7.4 nmolas/mL respectively) and kidney mitochondria do not present an antioxidant effect (0.154 nmolas/mL vs. 0.147 nmolas/mL respectively). "The chromatographic mass spectrometry analysis of methanolic extract of *T. diffusa* showed the presence of the following compounds": eudesmol, guailol, maltol, phytol and limonene as of biochemistry importance. Methanol extract of *T. diffusa* presents hypolipidemic and antioxidant activity in serum.

### Keywords

Diabetes, Metabolism, antioxidant compounds, free radicals, oxidative stress.



# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad sistémica crónico-degenerativa de carácter heterogéneo con grados variables de predisposición hereditaria y con la participación de diversos factores ambientales (Rosado *et al.*, 2007)

En la DM existe un aumento del estrés oxidativo y una disminución de los sistemas de defensa antioxidante, que se han implicado en la etiopatogenia de la enfermedad y en la aparición de complicaciones crónicas. La DM se caracteriza por hiperglucemia crónica debido a la deficiencia en la producción o acción de la insulina, con efectos sobre el metabolismo intermedio de carbohidratos, lípidos y proteínas. Suelen distinguirse dos formas principales de DM, la tipo 1 (DM1) y la tipo 2 (DM2). La DM1 es debida principalmente a una reacción de tipo autoinmune, donde se da una destrucción selectiva de las células  $\beta$  del páncreas, productoras de insulina, cuya ausencia en el organismo conduce a la hiperglucemia crónica, la cual sólo se corrige con la administración de insulina, de ahí que se le denomine también DM dependiente de insulina. Por otro lado, la DM2 mantiene una capacidad residual de secreción de insulina acompañada de resistencia en los tejidos, la cual no es superada por la cantidad de insulina producida y por lo tanto, lleva también a la hiperglucemia crónica. La DM2 se presenta mayormente en los sujetos adultos y cursa con resistencia periférica a la insulina, por lo que la terapia está encaminada a reforzar la sensibilidad a la hormona (Rosado *et al.*, 2007).

El tratamiento de la DM2 es apoyado por medio de la medicina tradicional y específicamente, a través de la fitoterapia empírica, que poco a poco ha tomado bases científicas más sólidas. Esta última opción puede ser de beneficio considerable,

especialmente, durante las primeras etapas de la enfermedad, porque existe evidencia acerca de la eficacia en el empleo de fitomedicamentos o suplementos alimenticios sobre la base de vegetales, con menos efectos secundarios, que son usados como parte de la medicina alternativa (Castro *et al.*, 2014).

## **1.2 Estrés oxidativo**

El estrés oxidativo es un estado que se caracteriza por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad antioxidante de las células. En el paso a la vida oxigenada, las células se dotaron de sistemas antioxidantes que pueden ser enzimáticos y no enzimáticos, en los que participan biomoléculas que generalmente poseen menor peso molecular que las enzimas. Las especies reactivas del oxígeno se producen constantemente en la mitocondria entre 2 a 5 % del oxígeno que entra en la cadena respiratoria, se reduce de forma univalente para generar el radical superóxido. Las sustancias que participan en las reacciones de los sistemas de defensa antioxidante, se inactivan o deterioran en determinadas situaciones. Este deterioro puede ser causado por alguna enfermedad crónica o transitoria que provoca incrementos sustanciales en la producción de oxidantes y prooxidantes (Clapés *et al.*, 2000).

El estrés oxidativo (EOx) se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL), que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa. Este daño se relaciona con el envejecimiento y con más de 100 padecimientos. El daño celular que producen las ER y los RL ocurre en los enlaces de proteínas, los fosfolípidos poliinsaturados de las membranas celulares, hidratos de carbono y ácidos nucleicos, lo que provoca gran variedad de cambios bioquímicos y fisiológicos en

la célula, ocasionados por la activación de una reacción en cadena (Ramos *et al.*, 2006). Las proteínas sufren el daño oxidativo por el ataque de radicales libres, la interacción de las especies reactivas de oxígeno (ERO) con las proteínas, da lugar a una oxidación de los restos laterales de aminoácidos, lo cual puede traducirse en una pérdida o modificación de la función biológica que desempeñan (González, 2001). Los RL contienen un electrón (e-) no apareado; esta característica los hace sumamente reactivos y capaces de dañar a otras moléculas, lo que, a su vez, las convierte en moléculas muy reactivas, capaces de provocar una reacción en cadena que causa daño oxidativo, a nivel tejido y celular. Las ER incluyen a las especies de oxígeno (ERO), hierro (RIS), cobre (RCS), así como a las de nitrógeno (RNS). Estas especies se forman como productos del metabolismo de los RL y, aunque no todas son de esta clase, son moléculas oxidantes que se transforman fácilmente en RL, lo que les confiere la característica de ser compuestos muy dañinos para las células (Ramos *et al.*, 2006).

### **1.3 Diabetes mellitus y estrés oxidativo**

En el estudio de las causas implicadas en la aparición de esta patología, se ha demostrado que altos valores de glicemia conducen a un estrés oxidativo. Esto se debe a que la glucosa se autooxida y da lugar a la formación de alfacetoaldehídos, peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y radical superóxido (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), entre otras ERO. También, se plantea que el descontrol de la glicemia conduce al incremento de la velocidad de los procesos de glicosilación y oxidación de lípidos y proteínas de membrana, lo que provoca cambios conformacionales de estas macromoléculas y por lo tanto, el deterioro de sus funciones. Los productos que se forman se conocen como AGE (productos finales de la glicosilación avanzada del inglés Advanced glyccation end products). Un número de estas sustancias que se forman de modo

irreversible son capaces de hacer enlaces covalentes con otras proteínas para potenciar así el daño (Clapes *et al.*, 2011).

En los pacientes que padecen de DM, se producen cambios en indicadores bioquímicos que evidencian una situación de estrés oxidativo: disminuyen las concentraciones plasmáticas de vitaminas antioxidantes como la A y la E, se incrementa la concentración sanguínea de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (del inglés las siglas TBARS), se incrementa la susceptibilidad de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) a la oxidación, menor capacidad antioxidante total del plasma y se daña el material genético (Clapés *et al.*, 2000).

#### **1.4 Lípidos**

Los lípidos son un grupo heterogéneo de moléculas de carbono de cadena larga que comparten ciertas propiedades de insolubilidad en agua, pero que presentan muchas otras diferencias y características individuales (Cuadro 1). Son moléculas hidrófobas que pueden originarse completamente o en parte a través de condensaciones de tioésteres o unidades de isopreno. Estos compuestos tienen funciones como: fuentes de energía, esqueleto de la membrana celular, protectores de órganos, mediadores hormonales, entre otros (Fierro *et al.*, 2011).

Su importancia viene marcada por 4 características fundamentales:

- Como reserva energética. Las largas cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos poseen una gran capacidad para liberar una cantidad máxima de energía con la oxidación; por contener una importante cantidad de carbono en forma totalmente reducida. Los convierte en la forma más eficaz de almacenar energía. De hecho, constituyen reservas de energía

mucho más eficaces que los hidratos de carbono. Este papel lo desempeñan fundamentalmente los triacilgliceroles, triacilglicéridos o grasas neutras.

- Como componentes de las membranas biológicas, participando activamente en múltiples procesos celulares, como transporte, regulación y comunicación celular. Esta función la realizan fundamentalmente los fosfolípidos, los esfingolípidos y el colesterol, que comparten la propiedad de ser anfipáticos; es decir, poseen un extremo hidrofílico, lo que tiene gran importancia en la configuración de la arquitectura típica de las membranas celulares.

- Como emulsionantes de otros compuestos para facilitar la digestión. Esto lo realizan los ácidos biliares.

- Por último, participan en la regulación metabólica, formando parte a nivel molecular de hormonas, vitaminas, prostaglandinas, entre otras. Algunos, actúan como señales entre células (eicosanoides y hormonas esteroideas) o como mensajeros intracelulares (fosfatidilinositoles). Otros desempeñan funciones como co-factores enzimáticos de oxidoreducción (ubiquinonas), transportadores (dolicoles) y ancladores de proteínas de membrana (Fierro *et al.*, 2011).

**Cuadro 1. Clasificación de lípidos y ejemplos más comunes (Fierro *et al.*, 2011).**

<b>Categoría</b>	<b>Ejemplo</b>
Ácidos grasos	Ácido oleico
Glicerolípidos	Triglicéridos
Glicerofosfolípidos	Fotidilcolina
Esfingolípidos	Esfingosina
Esteroles	Colesterol
Isoprenoides	Farnesol
Glucolípidos	UDP-3-0-(3 hidroxitetradecanol)-N-acetilglucosamina
Policétidos	Aflatoxina

### **1.5 Colesterol total**

El colesterol es un alcohol de tipo esteroideo, blanco y que no puede disolverse en agua (figura 1). Se trata de un esteroles apreciable en los tejidos corporales y en la sangre, sobretodo en el hígado, el páncreas, la médula espinal y el cerebro. Se forma en el hígado a partir de alimentos grasos y es necesario para el funcionamiento normal del organismo. Está presente en la membrana plasmática (capa exterior) de todas las células del organismo se desplaza por la sangre mediante unas moléculas denominadas lipoproteínas.

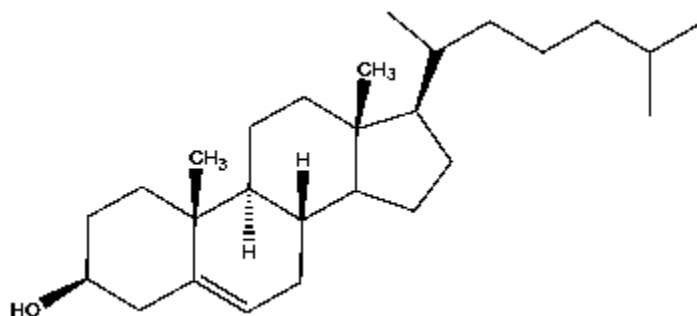


Figura 1. Estructura de la molécula de Colesterol (Fierro *et al.*, 2011).

### **1.6 Triacilglicéridos**

Son compuestos formados por tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol, de modo que por hidrólisis, se obtiene glicerol y ácidos grasos (Figura 2). Son triésteres de

ácidos grasos con glicerol. La esterificación reduce de forma significativa el carácter hidrófilo de los grupos de cabeza de los ácidos grasos, lo que los hace insolubles en agua.

El almacenamiento de la grasa en forma de triacilglicéridos tiene lugar fundamentalmente en los adipocitos, con la función fundamental de producir energía, mediante la oxidación de los ácidos grasos para generar ATP (Fierro *et al.*, 2011).

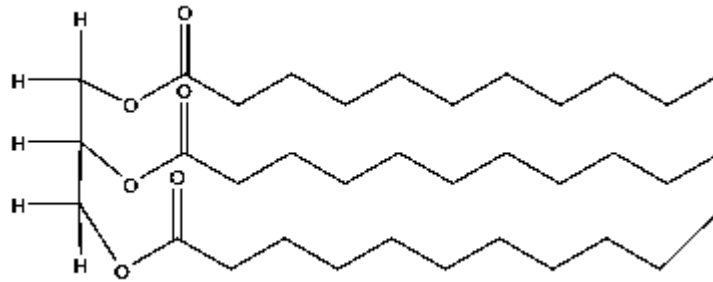


Figura 2. Estructura de la molécula de triacilglicérido (Fierro *et al.*, 2011).

### 1.6.1 Biosíntesis de los triacilglicéridos

Los triacilglicéridos son activamente sintetizados, tanto en las células hepáticas como en las adiposas. Para ello, se requieren dos precursores principales: glicerol-3-fosfato y acil-CoA. El primero, se produce durante la glucólisis por la acción de la glicerilfosfato-deshidrogenasa o a través de la fosforilación del glicerol y tras sufrir dos esterificaciones sucesivas con acil-CoA, se convierte en diacilglicerol-3-fosfato o ácido fosfatídico; precursor tanto de los fosfolípidos como de los TAG. La ruta hacia los TAG exigirá la eliminación hidrofílica del fosfato, seguida de una nueva transferencia de otro grupo acilo procedente de un acil-CoA (Fierro *et al.*, 2011).

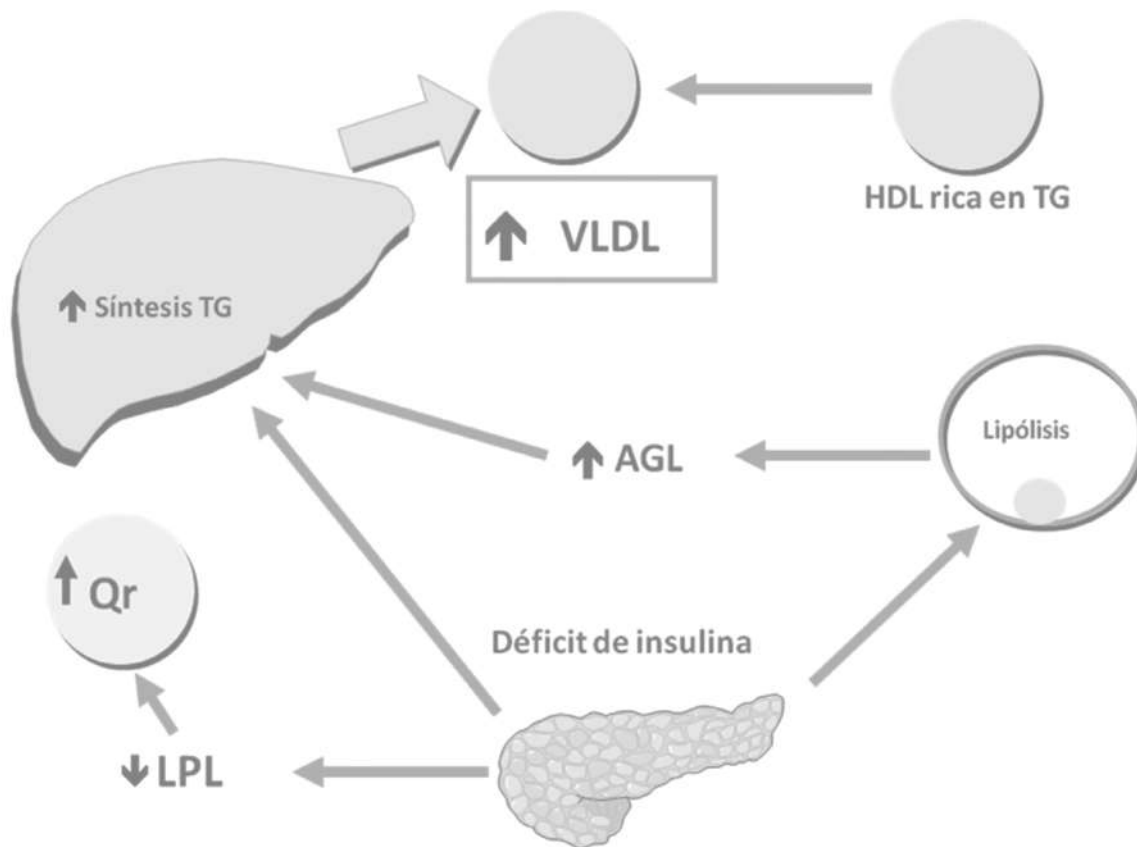


Figura 3. Relación de la deficiencia de insulina y las alteraciones en el metabolismo de los triglicéridos en la diabetes mellitus (Fierro *et al.*, 2011).

La hipertrigliceridemia (HTGL) es la dislipemia más común en la diabetes, ya sea originada por deficiencia de insulina (tipo 1) o por resistencia a la insulina (tipo 2). La HTGL puede empeorar cuando subyacen patologías primarias como la hipertrigliceridemia familiar, la hiperlipemia familiar combinada o la disbetalipoproteinemia familiar, conduciendo a elevaciones graves de TAG, con hiperquilomicronemia. La deficiente acción de la insulina actúa a varios niveles: a) favorece la lipólisis del tejido adiposo, liberando ácidos grasos libres a la circulación; y b) disminuye la actividad de la lipoproteína lipasa (LPL), realizando un catabolismo defectuoso de VLDL y quilomicrones (QM) (Figura 3). El aumento de ácidos grasos estimula la secreción hepática de VLDL y Apo B. De nuevo, el



exceso de partículas de VLDL acarrea consigo una disminución de las concentraciones de colesterol-HDL (cHDL) y un aumento de las concentraciones de colesterol-LDL (cLDL) derivadas del catabolismo de VLDL y densidad intermedia de lipoproteínas (IDL). Como la composición de esas lipoproteínas está más enriquecida en TAG, las partículas de IDL y LDL pequeñas y densas, no son adecuadamente reconocidas por los receptores B y E hepáticos, derivando hacia otros tejidos y promoviendo, por tanto, la aterosclerosis (Fierro *et al.*, 2011).

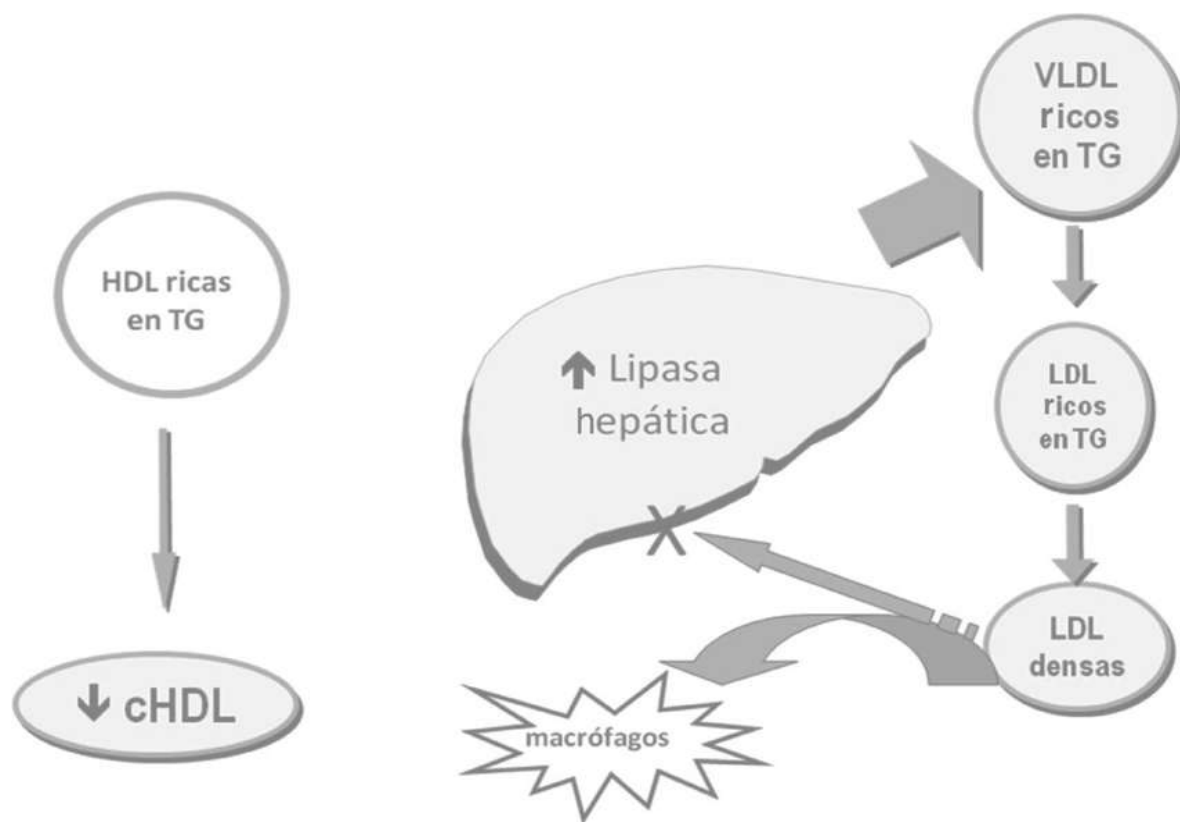


Figura 4. Metabolismo de las VLDL en pacientes diabéticos (Fierro *et al.*, 2011).

## 1.7 Lipoproteínas

Son moléculas formadas como resultado de la asociación de un lípido y una proteína, con la peculiaridad de que conservan las características fisicoquímicas de los dos compuestos. Contienen de forma habitual lípidos polares o neutros, colesterol y sus ésteres. Se encuentran como componente principal de las membranas celulares y de algunas hormonas. Actúan como unidades de transporte de lípidos en la sangre y cuentan con distintas densidades; entre ellas se distinguen: los quilomicrones, las VLDL (Very Low Density Lipoproteins), las LDL (Low Density Lipoproteins) y las HDL (High Density Lipoproteins). Las células las reconocen mediante receptores específicos de membrana, gracias a su contenido de apoproteínas (Apo), de las cuales se han caracterizado varios tipos: Apo-A: I, II y III, Apo-B: B-48 y B-100, Apo-C: I, II, III, Apo-D, Apo-E, Apo-F y Apo-G (Singleton *et al.*, 1965; Guo *et al.*, 2006).

Los quilomicrones transportan a los lípidos exógenos desde el intestino hasta los tejidos periféricos. Las VLDL transportan a los lípidos endógenos sintetizados en el hígado hacia los tejidos periféricos. Ambas lipoproteínas tienen en su estructura un elevado contenido de TAG, los cuales se hidrolizan a glicerol y ácidos grasos en la superficie interna de los capilares en los tejidos periféricos, por acción de la lipoproteína lipasa (LPL). De las VLDL, se obtienen las IDL y los quilomicrones se transforman en quilomicrones remanentes. La Apo B100 se utiliza para la síntesis de LDL a partir de la IDL, siendo estas lipoproteínas las que transportan el colesterol a los tejidos periféricos. Las HDL eliminan el exceso de colesterol de los tejidos periféricos y lo devuelven al hígado para su metabolismo o excreción (Singleton *et al.*, 1965; Guo *et al.*, 2006).

### 1.7.1 Transporte y utilización de las lipoproteínas

- La vía exógena (Figura 4).

Por esta vía, se absorben, metabolizan y almacenan las grasas ingeridas a través de la dieta, cuya principal lipoproteína son los quilomicrones.

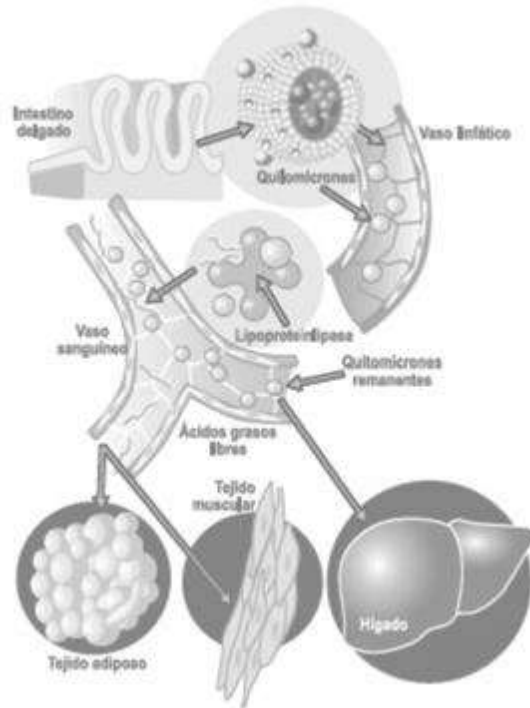


Figura 5. La vía exógena (Fierro *et al.*, 2011).

- La vía endógena

Por esta vía se sintetizan y metabolizan lipoproteínas, sobretodo de origen hepático o derivadas de otras lipoproteínas. El hígado sintetiza VLDL, que luego se transformará en IDL y estas a su vez en LDL (Figura 5). Mediante el transporte reverso del colesterol, las HDL son capaces de captar el colesterol de los tejidos periféricos y devolverlo al hígado, proceso crucial para evitar la arteriosclerosis (Martínez *et al.*, 2012).

A través de la dieta, proporcionamos al organismo diversas partículas lipídicas (TAG, colesterol y fosfolípidos). La acción de diferentes enzimas digestivas junto a las sales biliares, las fuerzas mecánicas intestinales (peristaltismo) y el efecto ionizante del pH, completan el proceso de digestión de la mayoría de los lípidos, transformándolos en micelas capaces de atravesar la membrana del enterocito. Una vez absorbidos, se produce un proceso de reesterificación de las distintas partículas lipídicas, al mismo tiempo que se sintetizan una serie de proteínas (apoproteínas) que se incorporan a los lípidos constituyendo las lipoproteínas las cuales son partículas esféricas cuyo núcleo está constituido por lípidos hidrófobos (colesterol esterificado, TAG), rodeado de lípidos polares (fosfolípidos, colesterol libre), que es la forma de transporte de la mayoría de los lípidos en la sangre. En la corteza, se sitúan apoproteínas que facilitan la solubilidad en plasma, a la vez que actúan como señales de reconocimiento para el transporte de lípidos a los distintos tejidos, activando o inhibiendo enzimas clave que regulan el metabolismo lipoproteico (Llor *et al.*, 1993).

Las VLDL el hígado las sintetiza directamente o a partir de las lipoproteínas circulantes (remanentes de QM). La apoproteína que las caracteriza es la B100. Estas lipoproteínas son rápidamente degradadas por lipasas similares a las de los QM perdiendo gran cantidad de TAG y apoproteínas superficiales, transformándose en lipoproteínas de densidad intermedia IDL (30% de colesterol, 40% de TG). (Figura 7).

Las IDL pueden ser captadas por el hígado, el cual extraerá su colesterol para elaborar más VLDL y para otras necesidades de la célula hepática, o pueden permanecer en circulación más tiempo hasta que pierden la Apo E y se convierten en LDL. (Llor *et al.*, 1993).

Las LDL tienen Apo B 100 como único componente proteico. Proceden del metabolismo de las VLDL. Son las principales portadoras del colesterol (50-70 %) en el plasma humano normal, estas partículas se unen a un receptor específico de la membrana plasmática presente en la mayoría de los tejidos. El complejo LDL-R se invagina y se desprende de la membrana plasmática para formar una vesícula revestida. Estas vesículas se fusionan con los lisosomas degradando la apo B 100 hasta aminoácidos e hidrolizando los ésteres del colesterol hasta colesterol libre. Este es capaz de inhibir la síntesis intracelular de colesterol y regular negativamente la síntesis de receptores para las LDL disminuyendo la entrada de más colesterol (Llor *et al.*, 1993).

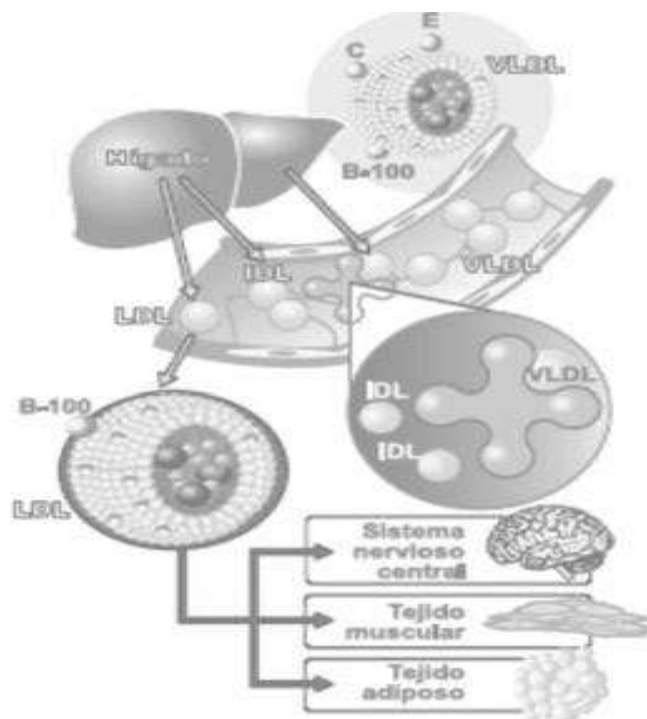


Figura 6. La vía endógena (Fierro *et al.*, 2011).

- El Transporte inverso de las lipoproteínas.

Las HDL (Figura 6) se sintetizan en hígado e intestino inicialmente con forma discoidal, conteniendo colesterol no esterificado, fosfolípidos y apoproteínas, fundamentalmente Apo A (A1 y A2). Estas HDL nacientes toman de los tejidos el colesterol libre (intercambiable por ser más superficial) transformándose en partículas esféricas. Existen dos subtipos de HDL (HDL1 y HDL2). Parece ser que las HDL2 son las responsables de la correlación inversa entre los niveles de HDL y el riesgo de enfermedad coronaria (Llor *et al.*, 1993).

Se reconoce como la fracción de colesterol protectora porque existe una relación inversa entre la concentración de colesterol HDL y la frecuencia de complicaciones cardiovasculares. Las lipoproteínas de tipo HDL intervienen en el filtrado o purificación del colesterol, también llamadas “colesterol bueno” este término hace referencia al colesterol contenido en las HDL, y su valor elevado en sangre se relaciona con la prevención de enfermedades arteriales, al llevarse el colesterol de las células y lo devolverlo al hígado donde se descompone y se elimina como residuo corporal (Llor *et al.*, 1993).

Las LDL (Figura 6) también denominadas “colesterol malo”; se cree que causan enfermedades arteriales al transportar el colesterol desde el hígado a las células y pueden causar una acumulación nociva si hay más de lo que las células pueden usar (Llor *et al.*, 1993).

Por otro lado los quilomicrones son las lipoproteínas de menor densidad transportan fundamentalmente TAG (principal reserva de energía) (Figura 6). Se sintetizan en la mucosa intestinal por reesterificación de los lípidos procedentes de la digestión. Circulan por la vía linfática, desembocando por el canal torácico hasta el torrente circulatorio. Una

vez allí, ceden los TAG a los tejidos adiposo y muscular por acción de las LPL localizadas en el endotelio de los capilares, convirtiéndose en QM remanentes, que son partículas enriquecidas en colesterol y pobres en triglicérido (Llor *et al.*, 1993).

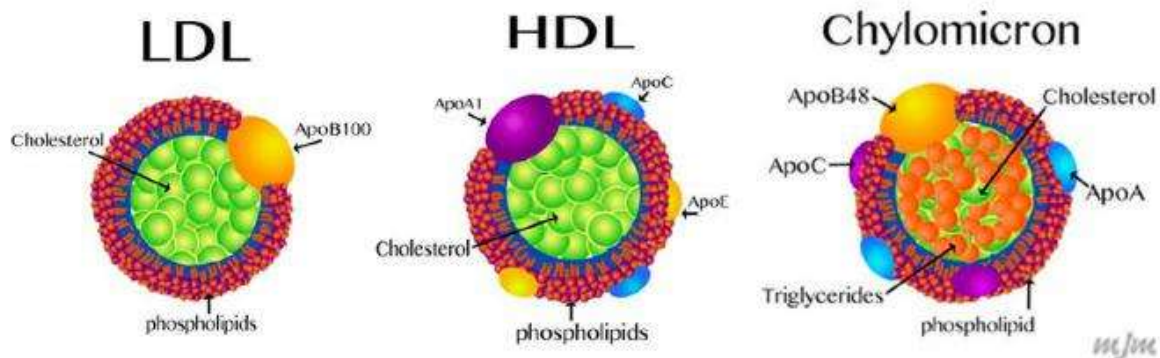


Figura 7. Molécula de LDL, HDL y Quilomicrón (Llor *et al.*, 1993).

### 1.8 Metabolismo de los lípidos

Después de ser absorbidos los lípidos por el intestino delgado, se pueden producir tanto los procesos catabólicos o anabólicos:

- a) En células absorbentes intestinales: en el interior de estas células, los ácidos grasos se unen a un proteína de bajo peso molecular que es la FABP (Fatty Acid Binding Protein) o proteína Z, que los transporta al retículo endoplasmático liso, donde por la vías del monoglicerol y el glicerol 3-fosfato esterifican de nuevo, formando triacilgliceroles, fosfolípidos y ésteres de colesterol.
- b)  $\beta$ -oxidación: los ácidos grasos que no han sido metabolizados dentro de las células intestinales pasan a la circulación portal y se dirigen a la mitocondria del hepatocito, donde se degradan hasta formar ATP. Se considera que este proceso no es muy eficiente en cuanto velocidad porque requiere del transporte a las mitocondria mediante la carnitina, sin

embargo, en cuanto a rendimiento energético la beta-oxidación es un proceso que produce gran aporte energético.

c) Lipogénesis: es el proceso que ocurre durante periodos de exceso calórico en el que la ingesta calórica sobrepasa el consumo energético y los ácidos grasos sintetizados por el hígado (o los procedentes de la dieta) son esterificados y almacenados como triacilgliceroles en el tejido adiposo como reserva cuando haya carencia de ellos.

d) Lipólisis: es el proceso contrario al anterior, que sucede cuando el consumo energético sobrepasa la ingesta calórica y los adipocitos liberan su contenido para compensar la deficiencia y proporcionar el combustible metabólico necesario.

e) Formación de eicosanoides y docosanoides: formados en casi todas las células del organismo, a este grupo se incluyen las prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos, leucotrienos, ácidos hidroperixotetraenoides, ácidos hidroxieicosatetraenoides y lipoxinas, que se forman a partir de dos rutas: la ciclooxigenasa transforma los ácidos grasos de 20 carbonos en prostanoides y lipooxigenasa los transforma en hidroperixotetraenoides, los cuales se transforman rápidamente en leucotrienos, hidroxieicosatetraenoides y lipoxinas (Hoyos *et al.*, 2014).

### **1.8.1 Alteración de los lípidos en el organismo**

El metabolismo de los lípidos se ve afectado por la deficiencia de insulina que causa una disminución de la LPL, por lo que disminuye la hidrólisis de TAG de los quilomicrones y de las VLDL y por lo tanto, no hay liberación de éstos hacia el tejido muscular y adiposo. Se aumenta la lipólisis en adipocitos. El aumento de TAG disminuye los niveles de colesterol HDL (C-HDL). (Guarneros, 2009).



Si bien los lípidos son de suma importancia para la preservación de la vida, una alteración de los niveles lipídicos en sangre puede ocasionar serios problemas a la salud; esta patología se conoce como hiperlipemia la cual se clasifica en:

**Hipercolesterolemia:** En donde el colesterol plasmático se eleva por encima de 200 mg/dL, mientras que los TAG están por debajo de los 200 mg/dL.

**Hipertrigliceridemia:** Los TAG aparecen en concentraciones superiores a los 200 mg/dL, mientras que el colesterol se encuentra en concentraciones por debajo de los 200 mg/dL.

**Hiperlipemia Combinada:** las concentraciones de colesterol y de TAG permanecen por arriba de los 200 mg/dL. (Guarneros, 2009).

### **1.9 Lipoperoxidación**

La lipoperoxidación involucra reacciones de iniciación, propagación y término (Yokozawa *et al.*, 2008). El estrés oxidativo es responsable de esta y se inicia cuando una especie reactiva generalmente el radical hidroxilo toma un hidrógeno de un ácido graso poliinsaturado de los fosfolípidos de las membranas o de las lipoproteínas, lo que forma un lípido radical después ocurre la propagación cuando reacciona con un anión superóxido formando un lípido peroxil radical, el cual reacciona con otro lípido radical dando como resultado a otro lípido radical o lípido peroxil radical y se repite hasta que no hayan suficientes radicales hidroxilo, esto es una reacción en cadena (Figura 8) (Sánchez *et al.*, 2000).

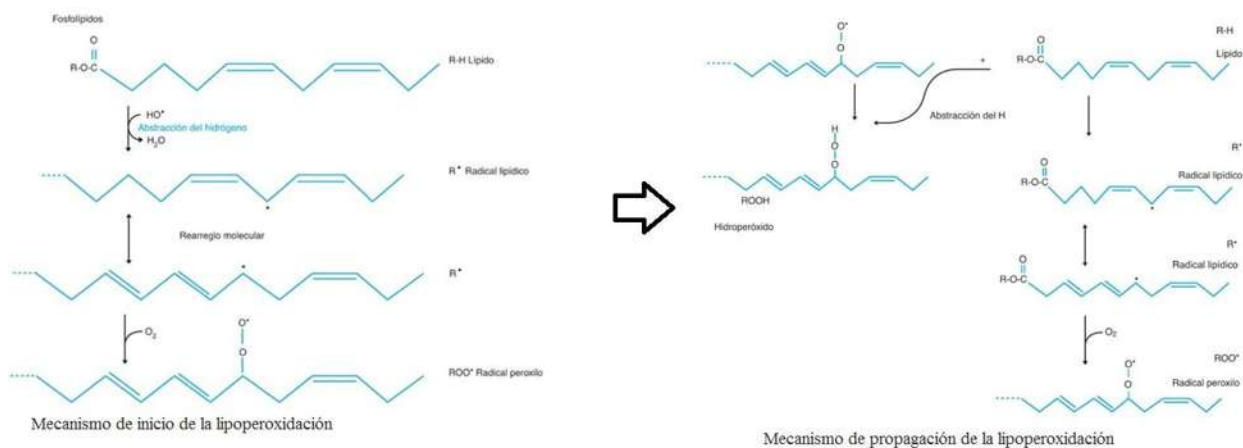


Figura 8. Mecanismo de inicio y propagación de la lipoperoxidación (Manual moderno online, 2015)

Las ERO inician una cascada de reacciones que se conocen con el nombre de lipoperoxidación, pueden producir alteraciones en las membranas biológicas. La interacción de las ERO con las proteínas da lugar a una oxidación de los restos laterales de aminoácidos, lo cual puede traducirse en una pérdida o modificación de la función biológica que desempeñan. También, pueden reaccionar con los ácidos nucleicos, concretamente pueden producir oxidaciones de las bases nitrogenadas, dando lugar a mutaciones (González, 2001).

### 1.10 Plantas medicinales con efecto antioxidante

Castañeda *et al.* (2008) evaluó la capacidad antioxidante de veintinueve extractos de las siguientes plantas medicinales: *Cinnamomum zeylanicum* “canela”, *Calophyllum brasiliense* “lagarto caspi”, *Myrciaria dubia* “camu camu”, *Minthostachys mollis* “muña”, *Alchornea castaneifolia* “hiporuro”, *Smilax sonchifolius* “yacón”, *Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii* “maca”. En este estudio se probó el método de la decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) como medición de ka

capacidad antioxidante obteniendo los resultados como porcentaje de la capacidad antioxidante, encontrando que a las concentraciones de 1 µg/mL, 50 µg/mL, 100 µg/mL y 200 µg/mL del extracto etanólico de corteza de canela se obtuvo un 97.59%; a una concentración de 1 µg/mL del extracto metanólico de hojas de Lagarto caspi, un 99.76%; a 50 µg/mL del extracto metanólico del fruto camu camu, un 98.09%; a 50 µg/mL del extracto acuoso de hojas de muña, un 92.41%; a 50 µg/mL de extracto metanólico de hojas de hiporuro, un 100.57%; a 100 µg/mL de extracto acuoso de hojas de Lagarto caspi, un 110.56%; a 100 µg/mL y 200 µg/mL del extracto acuoso de hipocótilo de *Lepidium peruvianum*, un 95.55% y 88.21%, respectivamente; en comparación con el ácido ascórbico (Vitamina C) que presentó una actividad antioxidante en promedio de 92.82%.

En diversos estudios se habla del uso de plantas con potencial antioxidante, como recientemente se realizó por Rodrigo *et al.* (2011), quienes probaron que la maca (*Lepidium meyenii* Walp) tiene efecto antioxidante al proteger a los animales diabéticos contra el daño celular. Al administrar harina de maca amarilla a las ratas distribuidas en 4 grupos: [grupo I control (solo dieta); II, harina de maca 4 g/día; III, harina de maca 6 g/día; y IV, dieta + glibenclamida 10 mg/kg de peso; el experimento duró 46 días] se evaluaron diariamente la glicemia y el peso, determinando al final del experimento en sangre los niveles de insulina, parámetros de daño oxidativo (vitamina C) y se midió la peroxidación lipídica (TBARS), como indicador del proceso oxidativo, elevando la concentración de vitamina C circulante y disminuyendo el marcador de lipoperoxidación sérica, el parámetro oxidativo de MDA-TBARS en suero.

Recientemente Naima *et al.* (2012) demostraron que *Torilis leptophylla* (TLM) tiene una potente actividad antioxidante *in vitro* e *in vivo*, fenólico total y el contenido de

flavonoides, realizaron las mediciones de la actividad antioxidante del extracto de metanol de toda la planta de (TLM) y sus fracciones derivadas de n-hexano (TLH), cloroformo (TLC), acetato de etilo (TLE) n-butanol (TLB) y la fracción acuosa residual (TLA). El tetracloruro de carbono (CCl<sub>4</sub>) mostró lesiones hepáticas inducidas (peroxidación lipídica y contenido de glutatión) en ratas macho Sprague-Dawley. El estudio químico reveló la presencia de alcaloides, antraquinonas, glucósidos cardíacos, cumarinas, flavonoides, saponinas, florataninos, taninos y terpenos, mostrando potenciales propiedades antioxidantes. El experimento *in vivo* reveló que la administración de CCl<sub>4</sub> causó un aumento significativo en la peroxidación lipídica (TBARS) mientras que la disminución en el contenido de GSH de hígado.

Alcaráz et al. (2007) investigó diversas características micromorfológicas y los niveles de aceites esenciales en dos fenotipos de *Turnera diffusa* (Damiana), los aceites fueron extraídos de las hojas frescas vía hidrodestilación y se analizaron mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. Los análisis morfológicos se llevaron a cabo bajo un microscopio estereoscópico y con un microscopio electrónico de barrido. En total, se identificaron 56 compuestos, lo que nos permite distinguir distintos fenotipos. En las hojas de damiana fenotipo 1 (DL1) se encontró que contenían principalmente: 1,8-cineol, 10-epi y eudesmol y guaiol; mientras que en las hojas de damiana fenotipo 2 (DL2) estaba constituida por los siguientes compuestos:  $\beta$ -pineno, óxido de  $\beta$ -cariofileno, cadineno y  $\alpha$ -cadinol. Estos dos fenotipos también difirieron en sus morfologías. Con DL1, se muestra que las concentraciones de aceites esenciales son elevadas, pero que carecen de tricomas. En contraste, las plantas DL2 tenían un menor contenido de aceites esenciales pero poseían tricomas en sus superficies de las hojas abaxial y adaxial.

Es importante destacar que Pazos, (2009) observó un efecto directo con una relación dosis-efecto al administrar el extracto damiana (D), Ddclorometánico ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ), obteniendo con este extracto la mayor reducción de glucosa sérica reportada, en el extracto Dagua también se observa un efecto al disminuir los niveles de glucosa, mostrando un comportamiento como molécula bioefectora, mostrando que el efecto depende de la dosis administrada. Este comportamiento es aún más notorio en el extracto Dmetanol en donde el efecto obtenido es inverso a la dosis administrada, pues a dosis baja (150 mg/kg/día) produce hiperglucemia mientras que en dosis altas (600 mg/kg/día), el efecto es totalmente opuesto.

Así mismo en el extracto diclorometánico de damiana se observó una relación directa dosis-efecto ya que al incrementar la misma se observa una disminución de colesterol, TAG, c-HDL y c-VLDL, en el caso de los otros dos extractos acuoso y metanólico no fue tan marcada tal relación, sin embargo a las dosis de 300 y 600 mg/kg/día, si se observa que a mayor dosis se disminuyeron los valores de los parámetros determinados, de igual manera fue notorio que la dosis más baja del extracto acuoso ocasiona un incremento en los valores de colesterol, TAG, c-HDL y c-VLDL con respecto al testigo, por otro lado el efecto mostrado por los extractos metanólicos en todas las dosis, igual que Ddicloro 300 y Ddicloro 600, en donde se observó un descenso en los niveles de TAG, por lo que estos extractos son potenciales hipolipemiantes específicamente en el tratamiento de las hipertrigliceridemias, este posible efecto se corrobora al observar una positiva relación de los valores de c-VLDL con los TAG, pues el c-VLDL es el encargado de la movilización de los TAG (Pazos,2009).

Por otro lado, Soriano (2013), mencionó que el resultado del perfil lipídico mostrado en ratones hiperlipémicos después de ser administrados con extractos obtenidos a partir de

damiana, concluyó que presenta un potencial efecto hipolipemiante en el tratamiento de hipercolesterolemias e hipertrigliceridemias sin reflejar efectos nocivos sobre los niveles de glucosa, por lo que resulta importante aislar y caracterizar a la o las moléculas responsables de esta actividad. También mostró los fármacos más utilizados en la Diabetes Mellitus (Figura 10), compuestos que forman parte de la terapia que sigue un alto porcentaje de los pacientes diabéticos, sin embargo, se ha demostrado que la utilización prolongada de estos medicamentos ocasiona efectos secundarios indeseables como: incremento de los adipocitos, estimulación del apetito, problemas cardiovasculares, hipoglucemias, problemas estomacales, entre otros. Al analizarse el perfil de lípidos y glucosa demostró cambios en los niveles séricos de glucosa, colesterol total, col-HDL, IA, TAG y col-VLDL, así como una importante disminución del porcentaje del peso relativo de grasa (PRG) cuantificado; proponiendo estudios biológicos que avalen el empleo de damiana como auxiliar en tratamientos de obesidad y DM.

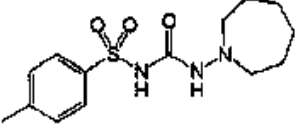
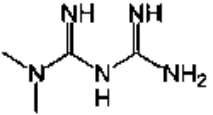
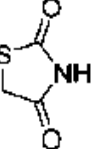
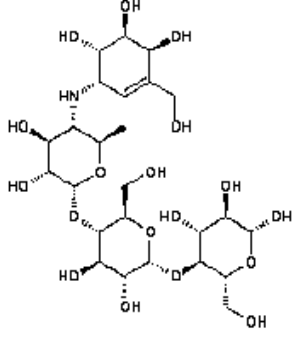
Nombre	Mecanismo de acción	Estructura química
<b>Sulfonilureas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Estimulan la liberación de insulina por las células <math>\beta</math> pancreáticas y aumentan la sensibilidad de los tejidos periféricos a esta hormona.</li> <li>- Receptor citoplasmático en las células <math>\beta</math> e inducen una reducción en la conductancia del canal de <math>K^+</math> sensible a ATP, de forma que imitan el efecto de los secretagogos fisiológicos.</li> </ul>	
<b>Biguanidas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Son fármacos que disminuyen la glucemia produciendo efectos tipo insulina en diversos tejidos, aunque no se conoce bien su mecanismo de acción.</li> </ul>	
<b>Tiazolidinedionas</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Nuevo grupo farmacológico que actúa sensibilizando a los tejidos a la acción a la insulina.</li> <li>- Buena absorción oral</li> </ul>	
<b>Inhibidores de la <math>\alpha</math>-glucosidasa</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Inhiben la absorción intestinal de azúcares</li> </ul>	

Figura 9. Fármacos más comunes utilizados en el tratamiento de la Diabetes Mellitus (Soriano, 2013).

### 1.11 Damiana (*Turnera diffusa* Willd.)

Sinonimia popular

Damiana amarilla, damiana americana, damiana de California, garañona, hierba de la mora, hierba de la pastora, hierba del venado, itamo real, jícamo real, mezquitillo, oreja de venado, paraleña, pastorcita, San Nicolás; Yucatán:ajkits, misibkook, xmisibkok (Hirose *et al.*, 2009).





Figura 10. *Turnera diffusa* (Popovkin, 2008)

#### Sinonimia botánica.

*Turnera humifusa* Endl; *Turnera aphrodisiaca* Ward; *Turnera pringlei* Rose. (Hirose *et al.*, 2009).

#### Botánica y ecología.

La damiana pertenece a la familia Turneraceae, la cual crece en terrenos áridos de Baja California Sur, es un arbusto de hasta 1.5m de altura que está muy ramificado y cuyos tallos son ligeramente rojizos con hojas pequeñas, arrugadas y en el borde tienen dientes, despiden un fuerte aroma cuando se estrujan sus flores son amarillas y parecen como estrellitas escondidas entre las ramas y sus frutos son unas cápsulas. (Hirose *et al.*, 2009). Cabe mencionar que Alvarado *et al.*, (2011) describe en su publicación las hojas de



damiana como: aromáticas, rugosas, alternas, estipuladas, de peciolo reducido y oval, también describe que las flores presentan una pigmentación amarilla y su tamaño varía de 8 a 12 mm de longitud, axilares, sésiles o con un pedúnculo muy corto; la corola presenta 5 pétalos, 5 estambres y 5 estilos y que por lo general florece de julio a noviembre.

Se supone que es originaria de Brasil y habita en climas semisecos y templados, entre los 1000 y los 2100 msnm, es una planta silvestre presente en terrenos de cultivo abandonados o cultivada en huertos familiares; está asociada a bosque tropical caducifolio, matorral xerófilo y bosque de encino (Hirose *et al.*, 2009). La damiana es nativa de América y se distribuye desde Texas hasta Sudamérica es importante señalar que en México crece silvestre en la mayor parte del país, al encontrarse en hábitats de selva baja caducifolia, matorrales xerófilos y laderas áridas (Alvarado *et al.*, 2011).

#### Etnobotánica y antropología.

Son frecuentes los usos de la damiana en la medicina tradicional para atender variados problemas de tipo ginecológico y sexual, tales como la debilidad e impotencia sexual, en dolores de postparto, espermatorea, para promover la fertilidad, en la fortificación del útero y en caso de orquitis; así como afrodisíaca y conceptiva. Cuando se presentan irregularidades en el sangrado de la mujer popularmente se recomienda tomar la infusión hecha con las ramas con hojas o toda la planta pero sin raíz en ocasiones se administra dos veces al día por 15 días, después del último periodo menstrual. Sin embargo, es la tos el padecimiento en el que más se emplea en Guanajuato por ejemplo, se bebe el vino vegetal hecho con la planta o en Baja California Sur de las ramas con hojas se elabora una infusión se ingiere caliente varias veces al día, otros usos medicinales que se le confieren son contra el dolor de estómago, para el catarro y el pulmón contaminado por tabaquismo, en la

debilidad muscular y general. También se aprovecha en picadura de escorpión, reumas, diabetes, inflamación de la vejiga y en nefritis; así como para estimular el apetito y reforzar la sangre (Hirose *et al.*, 2009).

La damiana cuenta con una fiable actividad diurética; su contenido en arbutina (0.7%) es una buena cobertura antiséptica en casos de infecciones urinarias, sobre todo en las cistitis. Se utiliza también como coadyuvante en litiasis renales y pielonefritis, proporcionando excelentes resultados en las prostatitis (Alvarado *et al.*, 2011).

#### Historia.

La damiana fue descubierta por los antiguos nahuas quienes utilizaban la infusión de esta planta dos horas antes de la relación sexual, ya que según ellos ayudaba a disfrutar aún más el encuentro sexual (Alvarado *et al.*, 2011).

Aunque en el siglo XX Alfonso Herrera indicó que la damiana parecía ser solo un tónico muy débil y que no es afrodisíaca, posteriormente, Maximino Martínez la refiere como afrodisíaca, antidiabética, diurética, eupéptica, expectorante y para la impotencia sexual, así como para nefritis orquitis y la vejiga. Dijo, que además actúa sobre el sistema nervioso y sirve como tónico cerebral. Por su parte, Luis Cabrera, señaló los usos siguientes; dispepsia por tuberculosis, eupéptico, impotencia sexual, jaqueca, estimula el metabolismo y es tónico. Finalmente la Sociedad Farmacéutica de México la reporta como catártica y estimulante (Hirose *et al.*, 2009).

#### Química.

Las hojas de *T. diffusa* contienen un aceite esencial en el que se han identificado los monoterpenos 1-8-cineol, para-cimeno, alfa y beta-pineno. Además, se han encontrado en las hojas, el componente fenólico arbutín, el compuesto alicíclico tetrafilín B y el alcaloide cafeína, éste último, también presente en las ramas, donde se han identificado además, el flavonoide gonzalistosín, el esteroide beta-sitosterol y los alcanos hexacosanol, n-triacontano y tricosan-2-ona, las hojas contienen un aceite esencial, resina y taninos (Hirose *et al.*, 2009).

#### Farmacología.

El extracto etanólico obtenido de las ramas de esta planta sólo presentó actividad antibiótica contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. Por otro lado se describe en la literatura un gran número de casos, los cuales permiten establecer que la damiana es diurética y aumenta el poder sexual (Hirose *et al.*, 2009).

#### Toxicidad.

Algunos autores reportan que esta planta es tóxica, especialmente bajo ciertas condiciones como ocurrió con un individuo alcohólico al ingerir el extracto fluido de damiana y en menos de media hora fue atacado por convulsiones tetaniformes, que aumentaron hasta producir un estado similar al de la rabia y con síntomas parecidos a los que se producen con envenenamiento por estricnina, *T. diffusa* es una planta medicinal de origen americano de la cual no se detectaron antecedentes históricos de uso en siglos anteriores. En estudios farmacológicos, solamente se han comprobado las acciones hipoglicémica y antitumoral *in vitro*, las que no tienen relación con los usos populares (Hirose *et al.*, 2009).

## 2. JUSTIFICACIÓN

La hiperglucemia provocada por la DM desencadena procesos bioquímicos dañinos para el organismo, como son el estrés oxidativo y las dislipidemias. Las dislipidemias están relacionadas con las enfermedades cardiovasculares, como es la elevación de los niveles de triglicéridos y colesterol en la sangre. Por otra parte el estrés oxidativo ocasiona un desequilibrio en el estado normal de óxido-reducción al causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres los cuales dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN. Con una buena utilización de los recursos naturales en México y el conocimiento herbolario tradicional, en esta investigación científica se incluye la utilización de *Turnera diffusa* en el tratamiento de este padecimiento metabólico y sus complicaciones, a través de la dosificación en animales de laboratorio y su posterior investigación de sus compuestos.

### **3. HIPÓTESIS**

El extracto metanólico de *Turnera diffusa* reduce los niveles de colesterol, triacilglicéridos y el estrés oxidativo en ratas diabéticas, debido a la presencia de compuestos químicos antioxidantes.

## **4. OBJETIVO**

### **4.1 Objetivo general**

Determinar la actividad hipolipidémica y antioxidante en el suero y en las mitocondrias de riñón de ratas diabéticas del extracto metanólico de *T. diffusa* y analizar su composición química.

### **4.2 Objetivos particulares**

- Cuantificar en el suero de las ratas los niveles de colesterol total y triacilglicéridos en ratas diabéticas administradas con el extracto metanólico de *T. diffusa*.
- Evaluar los niveles de lipoperoxidación en suero y en las mitocondrias de riñón de ratas diabéticas administradas con el extracto metanólico de *T. diffusa*.
- Analizar la composición química del extracto metanólico de *T. diffusa* e identificar los compuestos presentes mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas.

## **5 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 Material vegetal**

Para la obtención de los extractos, se utilizó parte aérea (hojas y tallos) de damiana (*Turnera diffusa*), donadas por la Dra. Lilia Alcaraz Meléndez, cultivadas en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en La Paz, Baja California Sur. Previa la extracción, las muestras fueron secadas a temperatura ambiente en la sombra.

### **5.2 Preparación del extracto**

Se pulverizaron 50 g de la parte aérea de damiana y se agregaron 250 mL de metanol, se maceró una semana y el extracto se filtró, se colocó en un envase de vidrio hermético cubierto con papel aluminio para evitar fotooxidación de sus compuestos vegetales. A la materia de extracción, se le colocaron de nuevo 250 mL de metanol, obteniendo 500mL del extracto el que se concentró en un rotavapor a sequedad para posteriormente desecar por 48 horas, para obtener el peso seco del extracto metanólico y su rendimiento en gramos.

### **5.3 Animales**

Se emplearon ratas Wistar macho con un peso entre 250-320 g. Se mantuvieron a temperatura ambiente, con ciclos de 12 h día /noche. Se alimentaron con dieta estándar para roedores y agua *ad libitum*. Se siguieron las recomendaciones de la norma regulatoria para el uso de animales, emitidas por la Secretaría de Agricultura en el párrafo de las Normas Federales para el Uso y Cuidado de Animales (NOM-062-ZOO-1999). Esta investigación también fue aprobada por el Comité Institucional para el Uso de Animales de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

#### **5.4 Inducción de la diabetes**

La diabetes fue inducida mediante una inyección intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) (55 mg/kg de peso) disuelto en buffer de citratos (pH 4.5). Cinco días después de la administración de STZ, se determinaron los niveles de glucosa para confirmar la diabetes. Las ratas que mostraron los niveles de glucosa en sangre con valores mayores a 300 mg/dL se consideraron para el estudio.

#### **5.5 Protocolo experimental**

Las ratas fueron divididas aleatoriamente en 4 grupos de 5 y 6 ratas. Grupo I, control (vehículo, etanol 50%); Grupo II, control + *Turnera diffusa* (30 mg / kg de peso); Grupo III, diabético (vehículo, etanol 50%) Grupo IV, diabético + *Turnera diffusa* (30 mg / kg de peso). Se administraron oralmente con una cánula, diariamente durante 30 días.

#### **5.6 Efectos de *Turnera diffusa* sobre la glucemia y el peso corporal**

Se realizaron mediciones de los niveles de glucosa de los animales al inicio y cada 10 días durante la administración del extracto usando un glucómetro comercial (Accu-Check Sensor III glucómetro) a través de una punción en la punta de la cola. El peso se registró cada 5 días durante los 30 días. Se registró y midió el consumo diario de agua y alimento por 30 días.

#### **5.7 Obtención de las muestras para las determinaciones bioquímicas**

Al terminar los 30 días de tratamiento, los animales se mantuvieron en ayunas durante un período de 12-14 horas, más tarde se sacrificaron por decapitación y posteriormente se recolectó sangre, en tubos sin anticoagulante y se centrifugó separando el suero para las estimaciones bioquímicas.

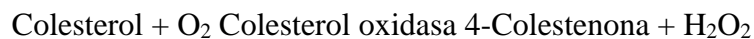


### 5.8 Determinación de los niveles de glucosa y el perfil de lípidos en suero

Los niveles de glucosa y TAG se midieron espectrofotométricamente usando un kit de ensayo comercial (Vitros DT60, Johnson & Johnson). Los niveles de colesterol se midieron espectrofotométricamente usando un kit de ensayo comercial (SPINREACT). El método para la determinación de glucosa (Anexo I) se basa en la oxidación enzimática catalizada a través de la reacción de Trinder, donde la glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico, el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) producido, se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol, 4-aminofenazona (4-AF), en presencia de peroxidasa (POD), se muestra el proceso en la siguiente reacción:



La determinación de colesterol total (Anexo II) se basa en la hidrólisis enzimática y la oxidación con la reacción de Trinder, donde el colesterol presente en la muestra origina un compuesto coloreado según la reacción siguiente:



La cuantificación de los TAG se basa en un método colorimétrico enzimático utilizando glicerol-3-fosfato oxidasa, donde la presencia de TAG en la muestra origina un compuesto rojo según la reacción siguiente:



Glicerol + ATP Glicerol quinasa (GK) Glicerol-3-fosfato (G3P) + ADP

G3P + O<sub>2</sub> Glicerolfosfato deshidrogenasa (GPO) Dihidroxiacetona fosfato (DAP) + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + 4-AF + p-Clorofenol POD Quinona + H<sub>2</sub>O

### **5.9 Medición de la lipoperoxidación en suero**

Se midió la lipoperoxidación en el suero con el ensayo de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) usando el Kit comercial (Fluorometric Microplate Assay for 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances TBARS). Los TBARS están naturalmente presentes en muestras biológicas que incluyen a los hidroperóxidos lipídicos y aldehídos que aumentan su concentración como una respuesta al estrés oxidativo (Lovell, *et.al*, 1995). Se obtuvieron las muestras de sangre con un ayuno de 12-14 horas sin anticoagulante. Posteriormente, se centrifugaron a 2500 rpm a temperatura ambiente y se separó el suero. Se colocaron 100 µL de suero en tubos tipo Falcón. Posteriormente, se les adicionó 1.5 ml de solución amortiguadora (Anexo III) y después se agregó 1.5 ml de reactivo cromógeno (Anexo III). Posteriormente, se incubó por 60 minutos en baño de hielo en oscuridad. Posteriormente, se taparon los tubos y se llevaron a ebullición en baño maría durante 60 minutos. Posteriormente, se agregaron 3 ml de mezcla de extracción (Anexo III), los tubos se mezclaron y centrifugaron por 10 minutos, al finalizar la centrifugación se recolectó el sobrenadante y se midió la absorbancia a una longitud de onda 532 nanómetros. El resultado fue expresado en nmolas de TBARS/ml de proteína empleando el coeficiente de extinción molar del malondialdehído de  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Estepa, *et. al* 2001).

### **5.10 Recolección de muestras de riñón para la obtención de mitocondrias**

Concluidos los 30 días de tratamiento, las ratas fueron sacrificadas por decapitación, previo ayuno desde la noche anterior. Rápidamente, se extrajeron los riñones, se pesaron y se colocaron en medio 1 (Saavedra-Molina *et.al*, 1997) (Manitol 220 mM, Sacarosa 70 mM, MOPS 2 mM, EGTA 1 mM, pH 7.4) a 4 °C, para la obtención de mitocondrias.

### **5.11 Aislamiento de mitocondrias de riñón**

Las mitocondrias de riñón fueron aisladas empleando la técnica descrita por Saavedra-Molina, *et.al*, (2002) con modificaciones para adecuar a nuestras condiciones. Una vez obtenidos los riñones y colocados en medio 1 a 4°C, fueron homogeneizados empleando un homogeneizador de vidrio con vástago de teflón impulsado con un motor. El homogeneizado fue centrifugado a 2,000 rpm (centrífuga Beckman J2-MC) por 10 min, el sobrenadante fue centrifugado a 7,500 rpm por 10 min. El precipitado (fracción mitocondrial) fue resuspendido en medio 2 (Saavedra-Molina *et.al*, 1997) (Sacarosa 100 mM, KCl 50 mM, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 40 mM y EDTA 30 mM; pH 7.2), se le agregó albúmina de suero de bovino al 0.02% y fue centrifugado a 9,000 rpm por 10 min. La pastilla fue resuspendida en 1 ml de medio 2 y la cantidad de proteína fue determinada por el método de Biuret (Gornal *et.al*, 1949).

### **5.12 Determinación de los niveles de lipoperoxidación en mitocondrias de riñón**

1. Se midió la lipoperoxidación de las mitocondrias de riñón con el ensayo de las sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS). Se colocaron 100 µL de solución de mitocondrias de riñón en tubos tipo Falcón. Posteriormente, se les adicionó 1.5 ml de solución amortiguadora (Anexo III) y después se agregó 1.5 ml

de reactivo cromógeno (Anexo III). Posteriormente, se incubó por 60 minutos en baño de hielo en oscuridad. Posteriormente, se taparon los tubos y se llevaron a ebullición en baño María durante 60 minutos. Posteriormente, se agregaron 3 ml de mezcla de extracción (Anexo III), los tubos se mezclaron y centrifugaron por 10 minutos, al finalizar, la centrifugación se recolectó el sobrenadante y se midió la absorbancia a una longitud de onda 532 nanómetros. El resultado fue expresado en nmolas de TBARS/mg de proteína empleando el coeficiente de extinción molar del malondialdehído de  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  (Estepa, *et. al* 2001).

### **5.13 Análisis e identificación de compuestos por cromatografía de gases – espectrometría de masas (CG-EM)**

El análisis de los compuestos presentes en el extracto se realizó siguiendo la metodología reportada por Torres-Martínez *et al.* (2014); donde 1  $\mu\text{L}$  de muestra se inyectó en un cromatógrafo de gases Agilent (6890) equipado con un detector de masas (5973N) (Laboratorio de Ecología Química, CIEco Campus Morelia, UNAM). El cromatógrafo se operó usando helio como gas acarreador con un flujo de 1 mL/min, con inyección tipo split (50:1) a una temperatura de 250°C, en una columna capilar no polar HP 5MS (5% fenil metilsiloxano, 30m x 0.25mm I.D. x 0.25 $\mu\text{m}$  Film), usando el siguiente programa de temperatura en el horno: una temperatura inicial de 50°C, seguida de una rampa de 5°C/min para llegar a una temperatura de 280°C por un tiempo 1 min, otra rampa de 25°C/min para llegar a una temperatura final de 380°C, durante 3 min. El tiempo de corrida fue de 50 minutos.

El espectrómetro de masas se operó a una velocidad de flujo de 1 mL/min, con un voltaje de ionización a 70 eV, a una temperatura de la interfase de 250°C, en modo SCAN y en un

rango de masas de 50-500m/z. Los datos fueron colectados e integrados usando el software Environmental Chemstation de Agilent Technologies.

Se revisó la pureza de cada una de las señales (picos) de los cromatogramas; así como su tiempo de retención y la identificación de los compuestos se realizó por comparación de espectros de masas con los de la biblioteca National Institute of Standards and Technology (NIST11). Solo se aceptó las señales con pureza de uno y la identificación de espectros con concordancia por arriba del 90%.

#### **5.14 Análisis estadístico**

Los resultados se expresaron como la media  $\pm$  Error Estándar (EE). La significancia estadística ( $p < 0.5$ ) fue determinada con una prueba  $t$  de Student empleando el software GraphPad Prism 5.

## 6 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la ganancia de peso y los niveles de glucosa durante el tratamiento.

En el cuadro 2 se presentan los cambios en el peso corporal de las ratas de los grupos controles y diabéticos durante el tratamiento. En los grupos controles se observó la ganancia de peso de acuerdo del crecimiento de los animales. El grupo control que recibió el extracto de *T. diffusa* tuvo ganancia del 25.3%; el grupo que recibió el vehículo presentó una ganancia de peso del 28.3%. El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo una ganancia de peso del 17.2%, mientras que el grupo sin tratamiento presentó una ganancia del 1.3%. La baja ganancia de peso observada en el grupo diabético, es a consecuencia de la incapacidad de metabolizar los hidratos de carbono comentado anteriormente por (Fierro *et al.*, 2011), repercutiendo en la lipólisis de tejido adiposo y proteólisis se presenta una pérdida de peso, provocando un aumento de los niveles de TAG en suero. El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* presentó una ganancia de peso por la presencia de ácido hexadecanóico (ácido palmítico) al ser una grasa saturada ayuda a mantener un peso estable cuando sustituye en la dieta a los hidratos de carbono u otro tipo de grasas (UNED, 2015).

**Cuadro 2. Registro de la ganancia de peso durante el tratamiento**

<b>Grupo</b>	<b>Peso inicial</b>	<b>Peso final</b>	<b>Incremento de peso (%)</b>
<b>Control</b>	296.6±12.0	380.6±7.5	28.3
<b>Control + Td</b>	299.8±12.7	375.8±10.3	25.3
<b>Diabético</b>	284.8±19.6	288.4±10.7	1.3
<b>Diabético + Td</b>	264.3±9.1	310.5±9.4	17.2

Los valores representan la media  $\pm$  EE. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). n= 5-6.

En el cuadro 3, se muestran los niveles de glucosa de los diferentes grupos durante el tratamiento. Los grupos controles no mostraron variaciones significativas en los niveles de glucosa durante el tratamiento, a pesar de la administración del extracto de *T. diffusa* no alteró estos niveles. El grupo diabético, tuvo valores de glucosa elevados significativamente ( $p<0.05$ ) durante el tratamiento de 30 días comparado con el grupo control. En los grupos diabéticos, no se observó una disminución en los niveles de glucosa durante el tratamiento, incluso con la administración del extracto de *T. diffusa* no se logró disminuirlos. La administración de extracto de *T. diffusa* no presentó una actividad hipoglucemiante, al no observarse una reducción de los niveles de glucosa durante el tratamiento, concuerda con lo ya reportado por Pazos, (2009) donde a dosis bajas (150 mg/kg/día) del extracto metanólico no reduce la hiperglucemia, no obstante a dosis elevadas (600 mg/kg/día) reduce la hiperglucemia. En definitiva reporto que el extracto de diclorometano ( $\text{CH}_2\text{CL}_2$ ) y de agua de *T. diffusa* presentan un efecto hipoglucemiante, presentando un mayor efecto el usado con  $\text{CH}_2\text{CL}_2$ .

Cuadro 3. Registro de los niveles de glucosa durante el tratamiento con el extracto metanólico de *Turnera diffusa*.

Nivel de glucosa (mg/dL) por día				
Grupo	Día 0	Día 10	Día 20	Día 30
Control	77.8±4.9	67.2±3.7	66.8±5.1	68.2±5.1
Control + Td	92.6±3.6	81.8±4.9	71.8±3.7	64.4±3.0
Diabético	538.8±40.4*	504.4±37.5*	367.6±69.6*	493±65.5*
Diabético + Td	518.6±50.2	600±0.0	538±25.8	578.2±11.1

Los valores representan la media ± EE. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). \*=  $p < 0.0001$  Control vs. Diabético. n= 5-6.

### 6.2 Registro del consumo de agua y alimento durante el tratamiento

El cuadro 4 muestra el consumo de agua de todos los grupos de animales durante el tratamiento. Al comparar el grupo control tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el consumo de agua, al compararlo con el grupo control. En los grupos diabéticos, se obtuvo un aumento significativo ( $p < 0.001$ ) en el consumo de agua al compararlos con los grupos controles. El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo un aumento significativo ( $p < 0.05$ ) en el consumo de agua al compararlo con el grupo diabético. El aumento en el consumo de agua reflejado por los grupos diabéticos se debe a que presentaron polidipsia, un síntoma característico de la DM (American Diabetes Association, 2008). La administración del extracto de *T. diffusa* aumentó significativamente el consumo de agua, esto se debe a que *T. diffusa* aumenta la polidipsia al contar con una fiable actividad diurética debido a su contenido en arbutina eliminando constantemente agua y electrolitos mencionado anteriormente por Alvarado *et al* en (2011).



**Cuadro 4. Registro del consumo de alimento y agua durante el tratamiento**

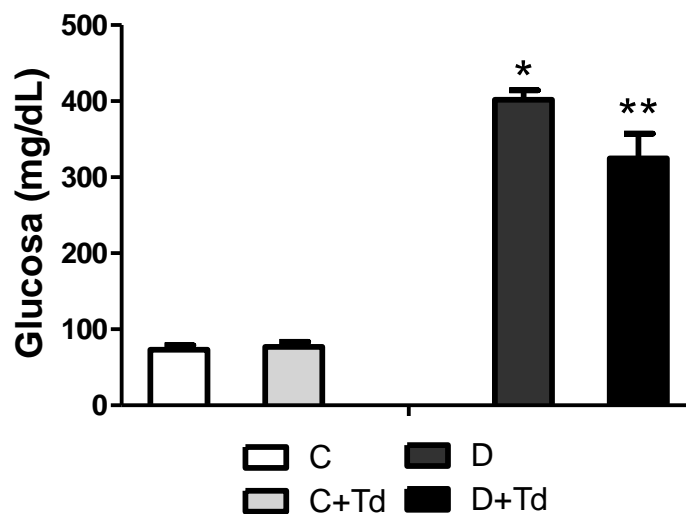
<b>Grupo</b>	<b>Consumo de agua (ml/rata/día)</b>	<b>Consumo de alimento (g/rata/día)</b>
<b>Control</b>	42.9±1.6	28.5±2.2
<b>Control + Td</b>	51.4±2.4+	35.3±1.4 *
<b>Diabético</b>	179.8±4.3++	41.9±1.6**
<b>Diabético + Td</b>	216.5±2.8+++	46.5±1.1***

Los valores representan la media ± EE. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). \* $p<0.05$  Control vs. Control + Td. \*\* $p<0.001$  Control vs. Diabético. \*\*\*  $p<0.05$  Diabético vs. Diabético + Td. + $p<0.05$  Control vs. Control + Td. ++ $p<0.0001$  Control vs. Diabético. +++ $p<0.0001$  Diabético vs. Diabético + Td.

El cuadro 4 muestra el consumo de alimento de todos los grupos de animales durante el tratamiento. El grupo control tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo un aumento significativo ( $p<0.05$ ) en el consumo de alimento al compararlo con el grupo control. Los grupos diabéticos tuvieron un aumento significativo ( $p<0.001$ ) en el consumo alimento en comparación de los grupos controles. El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo un aumento significativo ( $p<0.05$ ) en el consumo de alimento al compararlo con el grupo diabético. Es también relevante el aumento en el consumo de alimento que se observó en los grupos diabéticos considerándose que están afectados por la polifagia un síntoma característico de la DM, esto les producía un aumento anormal a la necesidad de comer (American Diabetes Association, 2008). En torno a la administración del extracto de *T. diffusa* se aumentó significativamente el consumo de alimento a consecuencia del maltol una sustancia presente en el extracto metanólico el cual funciona como potencializador del sabor en alimentos de acuerdo a lo descrito por (Arsenault *et al.*, 1997).

### **6.3 Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la glucemia y el perfil de lípidos**

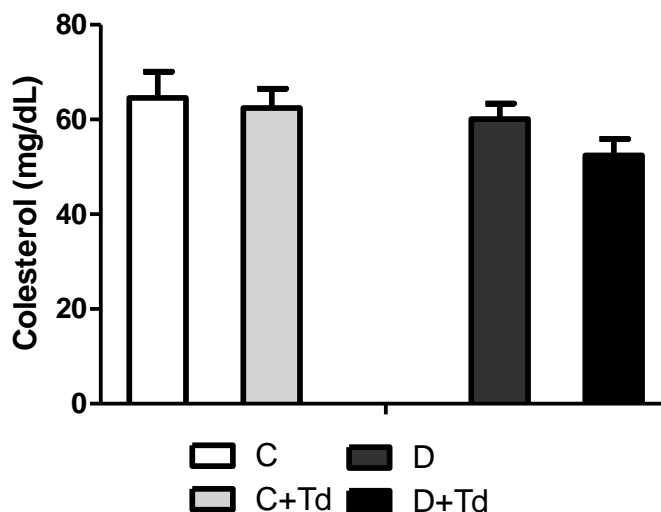
En la gráfica 1, se presentan los niveles de glucosa de los diferentes grupos al finalizar los treinta días de administración. Los grupos control mantuvieron sus niveles de glucosa alrededor de 100 mg/dL. Con lo anterior se observó que el consumo del extracto de *T. diffusa* no modificó significativamente los niveles de glucosa. El grupo diabético tuvo valores elevados significativamente ( $p < 0.0001$ ) de glucosa, al compararlos con el grupo control (401 mg/dL vs. 73 mg/dL, respectivamente). El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo valores bajos significativamente ( $p < 0.05$ ) de glucosa, al compararlos con el grupo diabético (324 mg/dL vs 401 mg/dL, respectivamente). El extracto de *T. diffusa* mostró una tendencia al disminuir los niveles de glucosa en el grupo diabético a consecuencia del ayuno prolongado al que fueron impuestas, ya que en un estudio realizado por Pazos, (2009) donde a dosis bajas (150 mg/kg/día) del extracto metanólico *T. diffusa* no presenta un efecto hipoglucemiante, por lo contrario a dosis elevadas (600 mg/kg/día) concluyó que reduce la hiperglucemia presente en la DM.



**Grafica 1. Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre los niveles de glucosa.** Los valores representan la media  $\pm$  EE. C= sin tratamiento. D=diabético Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). \* $p < 0.0001$  Control vs. Diabético. \*\* $p < 0.05$  Diabético vs. Diabético +Td. Los niveles de glucosa se midieron espectrofotométricamente usando un kit de ensayo comercial (Vitros DT60, Jhonson & Jhonson). n= 5-6.

En la gráfica 2 se presenta el efecto de *T. diffusa* sobre los niveles colesterol total. El grupo control tratado con el extracto de *T. diffusa* se observó que presento valores similares de colesterol al compararlo con el grupo control (62.4 mg/dL vs. 64.6 mg/dL). Al comparar el grupo diabético tuvo valores elevados de colesterol total al compararlos con el grupo control (60 mg/dL vs. 64.4 mg/dL, respectivamente). El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo una tendencia a disminuir los valores de colesterol al compararlo con el grupo diabético (52.4 mg/dL vs. 60 mg/dL, respectivamente), pero no fue significativa. El extracto de *T. diffusa* en la presente investigación reveló una tendencia a disminuir los valores de colesterol total, como resultado de la presencia de limoneno, el cual en una investigación realizada en ratas se concluyó que presenta un efecto hipolipemiente mediante la reducción de la actividad de la HMG-CoA reductasa, por lo

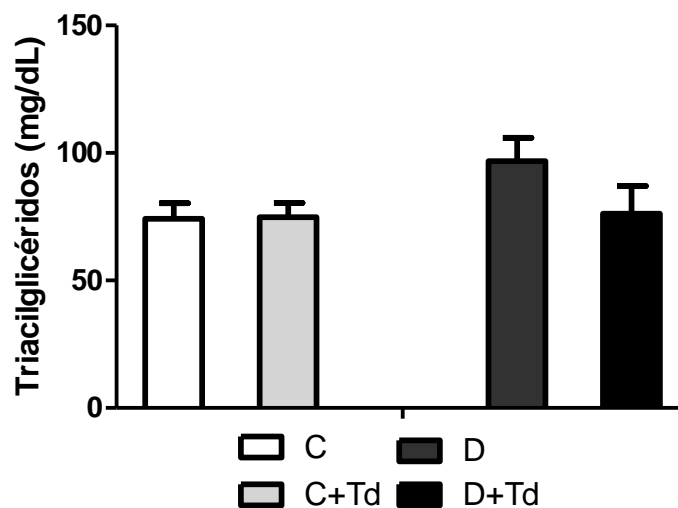
tanto, reduce la síntesis de colesterol en hígado repercutiendo en una disminución de los niveles del colesterol en suero (Shafeeque *et al.*, 2013). Con lo anterior el efecto observado también coincide con lo ya reportado por Pazos (2009) en el caso de los extractos acuoso y metanólico define que no es tan marcada tal relación pero resalta que a mayor dosis se disminuyen los valores de col, TAG, c-HDL y c- VLDL, a las dosis de 300 y 600 mg/kg/día se logró el descenso de los valores de los parámetros determinados, también analiza que en el extracto diclorometánico de damiana se observó una relación directa a dosis-efecto al incrementar la misma se observó una disminución de col, TAG, c-HDL y c-VLDL.



**Grafica 2. Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre los niveles de colesterol total.** Los valores representan la media  $\pm$  EE. C= sin tratamiento. D=diabético. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). Los niveles colesterol se midieron espectrofotométricamente usando un kit de ensayo comercial (SPINREACT). n= 5-6.

En la gráfica 3 se presenta el efecto de *T. diffusa* sobre los niveles de TAG. Los grupos control y control tratado con el extracto de *T. diffusa*, no mostraron variaciones significativas en los valores de TAG (74.5 mg/dL vs 74.8 mg/dL). El grupo diabético tuvo

valores elevados de TAG al compararlos con el grupo control (96.8 mg/dL vs. 74.5 mg/dL, respectivamente). El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa*, tuvo una tendencia al disminuir los valores de TAG al compararlo con el grupo diabético (76 mg/dL vs. 96.8 mg/dL, respectivamente), pero no fue significativa. La elevación de los niveles de TAG en los grupos diabéticos es atribuida a la deficiencia de la acción de la insulina repercutiendo en el aumento de la lipólisis del tejido adiposo produciendo la liberación de ácidos grasos libres a la circulación entre ellos los TAG además se disminuye la actividad de la LPL (Fierro *et al.*, 2011). El extracto de *T. diffusa* mostró una tendencia a disminuir los valores de TAG, de igual manera con lo reportado por Soriano (2013) lo cual es significativo debido a que concluyó que *T. diffusa Wild* presenta una actividad para reducir los niveles de TAG. También Pazos (2009) destacó el efecto mostrado por los extractos metanólicos en las dosis (150, 300 y 600 mg/ kg), en donde se observó un descenso en los niveles de TAG, por lo que estos extractos son potenciales hipolipemiantes específicamente en el tratamiento de las hipertrigliceridemias, este posible efecto se corrobora al observar una positiva relación de los valores de c-VLDL con los TAG, pues el c-VLDL es el encargado de la movilización de los TAG.

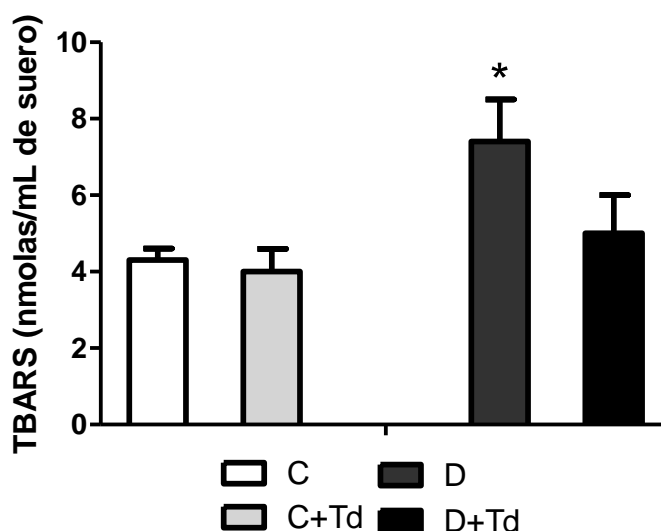


**Grafica 3. Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre los niveles de triacilglicéridos.** Los valores representan la media  $\pm$  EE. C= sin tratamiento. D=diabético. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). Los niveles de triacilglicéridos se midieron usando un kit de ensayo comercial (Vitros DT60, Jhonson & Jhonson). n= 5-6.

#### 6.4 Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en suero

En la gráfica 4 se presenta el efecto antioxidante de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en suero. En este ensayo de TBARS, se midió la concentración de malondialdehído (MDA), que es un subproducto de la oxidación de lípidos en etapa tardía, al ser una molécula volátil que reacciona a través de la formación de base de Schiff con los grupos amino libres de proteínas, lípidos y ADN, al acumularse se afecta la organización de las membranas celulares mediante el aumento de la fosfatidilserina (PS) (Niedowicz *et al.*, 2005). El grupo control tratado con el extracto *T. diffusa* tuvo una tendencia al disminuir los valores de TBARS al compararlo con el grupo control (4 nmolas/mL vs. 4.3 nmolas/mL, respectivamente), pero no fue significativa. El grupo diabético tuvo valores elevados significativamente ( $p < 0.05$ ) de TBARS al compararlo con el grupo control (7.4 nmolas/mL vs. 4.3 nmolas/mL, respectivamente). El grupo diabético tratado con *T. diffusa* tuvo una

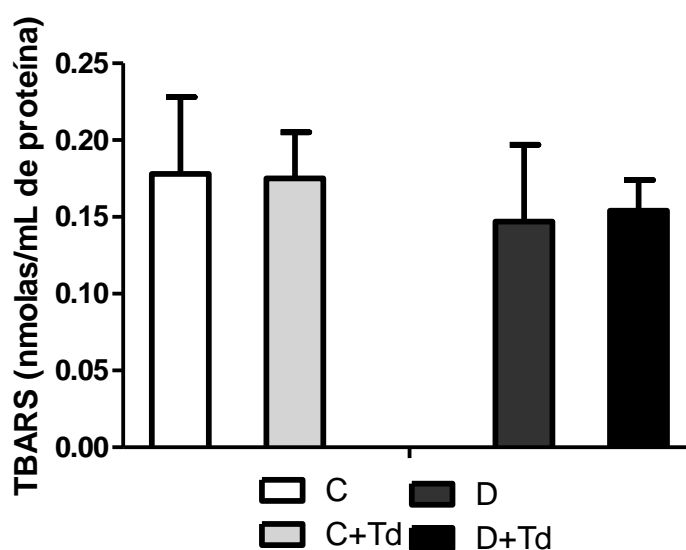
tendencia a disminuir los valores de TBARS al compararlo con el grupo diabético (5 nmolas/mL vs. 7.4 nmolas/mL, respectivamente), pero no fue significativa. El extracto de *T. diffusa* mostró una tendencia para disminuir los niveles de TBARS en suero, por la presencia de compuestos químicos fenólicos y terpénicos (eudesmol (27.87 %), guaiol (8.02 %), maltol (3.70 %) y fitol (3.16 %)). Simionatto *et al* en el 2007 en una investigación realizada al aceite esencial de *Croton urucurana* expresaron con referencia a su actividad antioxidante que se debía a la presencia de eudesmol, guaiol y fitol atribuyendo la capacidad de captar los radicales libres. Expresan por otra parte Liming *et al* en 1990 en una investigación donde midieron la actividad del maltol para reducir la oxidación en eritrocitos que estos estudios revelan que presenta una actividad para evitar la auto-oxidación en estos.



**Grafica 4. Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en suero.** Los valores representan la media  $\pm$  EE. C= sin tratamiento. D=diabético. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). \* $p < 0.0282$  Control vs. Diabético. Para los cálculos se empleó el coeficiente de extinción molar del malondialdehído de  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . n= 5-6.

### 6.5 Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en mitocondrias de riñón.

En la gráfica 5 se presenta el efecto antioxidante de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en las mitocondrias de riñón. El grupo control tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo valores de TBARS más bajos, pero no fueron estadísticamente significativos al compararlos con el grupo control (0.175 nmolas/mL vs. 0.178 nmolas/mL, respectivamente). El grupo diabético tuvo valores de TBARS más bajos, pero no fueron estadísticamente significativos al compararlos con el grupo control (0.147 nmolas/mL vs. 0.178 nmolas/mL, respectivamente). El grupo diabético tratado con el extracto de *T. diffusa* tuvo valores de TBARS elevados, pero no fueron estadísticamente significativos al compararlo con el grupo diabético (0.154 nmolas/mL vs. 0.147 nmolas/mL, respectivamente). El extracto de *T. diffusa* no mostró un efecto para reducir los niveles de TBARS en mitocondrias de riñón.



**Grafica 5. Efecto del extracto metanólico de *T. diffusa* sobre la lipoperoxidación en las mitocondrias de riñón.** Los valores representan la media  $\pm$  EE. C= sin tratamiento. D= diabético. Td= extracto metanólico de *T. diffusa* (30mg/kg peso). Para los cálculos se empleó el coeficiente de extinción molar del malondialdehído de  $1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . n= 5-6.



## 6.6 Análisis de los compuestos presentes en el extracto metanólico de *T. diffusa*.

Del extracto metanólico *T. diffusa* se inyectó por triplicado la muestra, los compuestos identificados se muestran en el Cuadro 5 Las fracciones de compuestos antioxidantes con capacidad para captar radicales libres presentes en el extracto metanólico de *T. diffusa* son las siguientes: Eudesmol (27.87 %), guaiol (8.02 %) y fitol (3.16 %) (Simionatto *et al.*, 2007). Además, se encontraron otros compuestos, como el aristoleno (8.12 %), un terpeno con actividad antifúngica (Fundazuri *et al.*, 2012), hidroquinona (6.56 %), con efecto para despigmentar la piel en pacientes con melasma epidérmico (Baliña *et al.*, 1991), el limoneno (1.17 %), que presenta actividad hipolipemiente mediante la reducción de la actividad de la HMG -CoA reductasa (Shafeeque *et al.*, 2013), el maltol (3.70 %), un heterocíclico aromático que presenta una actividad para evitar la auto-oxidación de eritrocitos (Liming *et al.*, 1990) y que además, se utiliza como un potencializador de los alimentos con sabor y olor a caramelo (Arsenault *et al.*, 1997).

**Cuadro 5. Análisis e identificación de compuestos del extracto metanólico de *T. diffusa* mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.**

COMPUESTO	TIEMPO DE RETENCIÓN (min)	ABUNDANCIA (%)
Limoneno	9.46	1.17
Eucaliptol	9.55	0.77
Maltol	11.89	3.70
Hidroquinona	16.61	6.56
2,5,6-trimetil-1,3,6-Heptatrieno	23.04	9.84
Aristoleno	26.69	8.12
Guaiol	26.88	8.02
(1,5,5,8-Tetrametil-biciclo[4.2.1]non-9-il)-ácido acético	28.87	26.01
Beta-Eudesmol	30.23	27.87
Ácido Hexadecanóico	33.42	4.72
Fitol	36.46	3.16

## 7 CONCLUSIÓN

El presente estudio reveló que el extracto metanólico de *T. diffusa* presentó efectos hipolipémicos en ratas diabéticas, al reducir los niveles del colesterol total y los niveles de TAG séricos, sin demostrar el efecto hipoglucemiante buscado. En relación con la actividad antioxidante del extracto metanólico se determinó su capacidad para reducir los niveles de TBARS en suero, sin embargo no se observó una actividad antioxidante a nivel mitocondrial en riñón. Lo anterior, demuestra que *T. diffusa* es benéfica al ser usada como tratamiento de la DM.

## 8 LITERATURA CITADA

- Abajo S., Ascaso J.F., Cardona F., Civeira F., Díaz Á., Fierro D., García-Norro F. J., Hernández A., López I., Núñez-Cortés J. M., Botet J., Pintó X., Rubio M. A., Serrano A., Tinahones F. J., Valdivielso P. y Verdes-Montenegro J. C. 2011. Atención conjunta al paciente con hipertrigliceridemia. Edicomplet, Grupo Saned. Documento de consenso sobre hipertrigliceridemias. Capitán Haya, 60. 28020 Madrid. Tel.: 91 749 95 02 Anton Fortuny, 14-16 Edif. B, 2º 2ª. 08950 Espluges de Llobregat (Barcelona). I.S.B.N.: 978-84-87450-56-3
- Alcaraz, M., Real C., Václav S., Švajdlenka E., 2007. Differences in essential oil production and leaf structure in pheno-types of damiana (*Turnera diffusa* willd). *Journal of Plant Biology*. **50**(3):378-382.
- Alvarado M., Salcedo S., Vargas V. 2011. *Planta*. Universidad Autónoma de Nuevo León. 11: 10-11. ISSN: 2007-1167
- American Diabetes Association. 2008. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* **31**(1):555-560.
- Arsenault, R., Trottier, M., Chornet, E. y Jollez, P. 1996. Process of aqueous extraction of maltol. Disponible en: <http://www.google.com/patents/US5646312>
- Baliña, L. M., Woscoff, A., Váldez, R. P., Herrera, M., Sanguinetti, G., Costa, H. y Dioguardi, Y.1991. Eficacia del ácido azelaico vs. hidroquinona en melasma: resultados de un estudio doble ciego multicéntrico/ Efficacy of azelaic acid vs. hidroquinone gor melasma: results of double-blind multicentric study. *Arch. Argent.Dermatol* **41**(4):193-7.

- Castañeda C., Ramos LL., Ibáñez V., 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Integrantes del Centro de Investigación de Medicina Tradicional. *Revista Horizonte Médico*. **8**(1):56-71.
- Hirose J., et al. 2009. Atlas de las plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. *Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana*. México D.F. UNAM. Disponible en : <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=damiaa&id=7387>
- Buege J., Aust S. 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* **52**:302-310.
- Clapés H. 2000. Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. *Rev Cubana Invest Bioméd*. **19**(3):191-195.
- Clapés S. 2011. Peroxidación lipídica y otros indicadores de estrés oxidativo en pacientes diabéticos. *Rev Cubana Invest Bioméd* **20**(2):93-98.
- Castro J., Nemesio V., Ramírez G., Mosso G. 2014. Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño. *Rev Cubana Plant Med*, **19**(1):101-120.
- Estepa V., Ródenas S. y Martín M.C. 2001. Optimización de un método para la determinación de la peroxidación lipídica en suero humano. *Anal. Real Acad. Farm.* **67**(3):1-17.
- Espondaburu O. 2006. Hipertriglyceridemia: influence on testing parameters which estimate the reverse cholesterol transport. *Acta Bioquímica clínica latinoamericana* **40**(2):165-172.

- Fundazuri, Z. O., Rodriguez U. A. B. y Ugalde U. O. 2012. Composición fungicida y bactericida que comprende compuestos orgánicos volátiles de origen natural. Disponible en: <http://www.google.com/patents/WO2012123605A1?cl=es>.
- García B., García G., Rojo D., Sánchez G., 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista Cubana Investigación Biomédica. Instituto Superior de Ciencias básicas y preclínicas "Victoria de Girón"*. **20**(3): 231-15.
- Green, C., Brand, M. D., Murphy, M. P. 2004. Prevention of mitochondrial damage as a therapeutic strategy in diabetes. *Diabetes* **53**:110–118.
- González, B. 2001. “Progresión de la insuficiencia renal crónica y estrés oxidativo”. “2do Congreso Internacional de Nefrología por Internet”. <<http://www.uninet.edu/cin2001/html/conf/basilica.html>>
- Gornal, A. G., Bardavill, C. J. y David, M. M. 1949. Determinación de proteína (Biuret). *J. Biol. Chem.* **177**: 751-760.
- Guarneros D. 2009 “Evaluación del efecto hipolipemiante e hipoglucemiante de extractos de *Turnera diffusa*, *Ibervillea sonora* y *Morinda citrifolia*”, Tesis para obtener el grado de Maestra en Biotecnología aplicada, Instituto Politécnico Nacional Centro de Investigación en Biotecnología aplicada, Tepetitla de Lardizábal Tlaxcala. Disponible en: <http://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/6936/TESIS%20DIANA%20DEL%20CARMEN%20PAZOS%20GUARNEROS.pdf?sequence=1>.
- Guo. L., Hu, W. R., Lian, J. H., Ji, W., Deng, T. y Quian, M. 2006. Antihyperlipidemic properties of CM 108 (a flavone derivative) *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Pharmacol* **551**:80:86.

- Hoyos M, Rosales V., (2014) Lípidos: Características principales y su metabolismo. *Rev. Act. Clin. Med [online]*. 2014, vol.41 Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2304-37682014000200004&lng=es](http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2304-37682014000200004&lng=es).
- Liu, M., Xing, Q. L., Weber, C., Yong, L. Ch., Brown, J. y Liu, R. H. 2002. Antioxidant and antiproliferative activities of raspberries. *J Agric Food Chem* **50**:2926-2930.
- Llor B., Hernández M, Gómez M. 1993. Los inhibidores de la HMGCoA reductasa en el tratamiento de la hipercolesterolemia. *Revista de Enfermería* 3(3):159-161.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. y Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* **193**:265–275.
- Liming, F., Huazhen, P. y Zhinan, Z. 1990. The Antioxidative Action of Maltol on Auto-oxidation of Erythrocytes. *Chinese Pharmacological Bulletin*. Disponible en: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTOTAL-YAOL199001010.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTOTAL-YAOL199001010.htm)
- Maldonado, O., et al. 2012. Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* **43**(2):7-22. Disponible en: <http://asociacionfarmaceuticamexicana.org.mx/revistas/2012/RMCF%20V43-2/ARTICULOS%20PDF/COLESTEROLFUNCIÓN%20BIOLÓGICA%20E%20MPLICACIONES%20MÉDICAS.pdf>
- Martínez T., Veses M., Garzón Pr., Hernández M. 2012. Alteraciones del metabolismo de las lipoproteínas. *Medicine. Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. **11**(19):1125-1129.

- Naima S., Muhammad R., Shabbir M., 2012. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. *Complementary and Alternative Medicine*. **12**:221.
- Niedowicz D. M., Daleke, D. L. 2005. The Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications. *Cell Biochemistry and Biophysics* **43**:289-330.
- Noriega-Cisneros, R., Ortiz-Ávila, O., Esquivel-Gutiérrez, E., Clemente-Guerrero, M., Manzo-Avalos, S., Salgado-Garciglia, R., Cortés-Rojo, C., Boldogh, I. y Saavedra-Molina, A. 2012. Hypolipidemic activity of *Eryngium carlinae* on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochem Res Int* 2012:603501.
- Pazos, D .2009. Evaluación del efecto hipolipemiante e hipoglucemiante de extractos de *Turnera diffusa*, *Ibervillea sonora* y *Morinda citrifolia*". Instituto politécnico nacional centro de investigación en biotecnología aplicada. Tesis para obtener el grado de maestría en biotecnología aplicada. **119**:1-113.
- Popovkin A. 2008. *Turnera diffusa*. University of California, Berkeley. Disponible en: [http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img\\_query?enlarge=0000+0000+1208+0506](http://calphotos.berkeley.edu/cgi/img_query?enlarge=0000+0000+1208+0506)
- Oxford Biomedical Research Inc. 2012. Fluorometric Microplate Assay for 2-Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS). Disponible en: <http://www.funakoshi.co.jp/data/datasheet/OBR/FR45.pdf>
- Radicales libres y estrés oxidante. (s.f).Manual moderno online. 4: 5-6 [Consultado el 18 marzo 2015].
- Ramos, M.; Batista, C.; Gómez, B. y Zamora, A. 2006. "Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes". *Medigraphic Artemisa en línea*, **3**(1):7-15.

- Rodrigo M., Valdivieso R., Suárez S., Oriondo R., Oré R. 2011. Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemiante de la maca (*Lepidium meyenii* Walp) en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. *An. Fac. med., Lima*, **72**(1):24-32
- Rosado J., Mendoza V. 2007. Inflamación crónica y estrés oxidativo en la diabetes mellitus. *Artículo de revisión Química clínica, Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México, Distrito Federal*. **32**(2):58-69.
- Saavedra-Molina, A. y Devlin, T. M. 1997. Aislamiento de mitocondrias de Hígado. *Amino Acids*. **12**:293-298.
- Saavedra-Molina, A. y Devlin, T. M. 1997. Effect of extra- and intra-mitochondrial calcium on citrulline synthesis. *Amino Acids* **12**:293-298.
- Saldaña-Balmori, Y., Ramírez-González, y Delgadillo-Gutiérrez, H. 2003. Acción de algunos antiinflamatorios no esteroideos sobre la lipoperoxidación hepática inducida por etanol. *Revista cubana Invest Biomed* **22**(1):16-24.
- Shafeeque, A. y Zafarul, H. B. 2013. Hypolipidemic and antioxidant activities of thymoquinone and limonene in atherogenic suspension fed rats. *Food Chemistry* **138**(2-3):1116-1124
- Sánchez S., Abregú A., Aybar M., Sánchez R. 2000. Changes in liver gangliosides in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biol Int* **24**(12):897-904.
- Singleton V., Rossi J., A Jr., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents *Am. J. Enol. Vitic* **16**:144-158.
- Simionatto E., Vanderléa F. L., Bonani V. F.L., Farias A., Poppi N. R., Raposo J.L., Stuker C. Z., Peruzzo G. M., Peres M. y Hess S. C. 2007. Chemical composition and



evaluation of antibacterial and antioxidant activities of the essential oil of *Croton urucurana* Baillon (Euphorbiaceae) stem bark. *J. Braz. Chem.* **18**(5)

- Soriano LI. 2013. Contenido antioxidante en Damiana (*Turnera diffusa Willd*) y factores que lo modifican: condiciones ambientales, de cultivo y manejo poscosecha. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias, Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C, Programa de estudios de posgrado, La paz Baja California Sur.
- Spanish-English Dictionary (Diccionario técnico científico). 2015. Online WordReference.com. Disponible en: <http://www.wordreference.com/es/en/translation.asp?spen=diccionario+técnico+científico>
- Teijón, J., Ramírez, J., Villaverde, C., Garrido, A., Mendoza, C., Blanco, D. 2005. Fundamentos de Bioquímica Metabólica. Editorial Alfaomega, 1° edición.
- Torres-Martínez, R., Bello-González, M. A., Molina-Torres, J., Ramírez-Chávez, E., García-Rodríguez, Y., Fulgencio-Negrete, R., Hernández-García, A., López-Gómez, R., Martínez-Pacheco, M. M., Lara-Chavéz, B. N. y Salgado-Garciglia, R. 2014. Efecto de la fertilización sobre el crecimiento y contenido de compuestos volátiles en *Satureja macrostema* ‘Benth.’ Briq. *Rev. Mex. Cien. For.* **5**(21): 122-134.
- Universidad nacional de educación a distancia (UNED). 2015. Alimentación en las enfermedades: Cardiovasculares. *Guía de Alimentación y Salud*. Disponible en: <http://www.uned.es/pea-nutricion-y-dietetica>.

- Yokozawa, T., Yamabe, N., Kim, H. Y., Kang, K. S., Hur, J. M., Park, Ch. H. y Tanaka, T. 2008. Protective effects of morroniside isolated from *Corni fructus* against renal damage in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bul.* **31**(7):1422-1428.
- Yu, L., Haley, S., Perret, J., Harris, M., Wilson, J. y Qian, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J Agric Food Chem* **50**(6):1619-24.

## 9 ANEXOS

### Anexo I

#### Determinación cuantitativa de glucosa IVD

#### Glucosa GOD-POD. Líquido

#### Reactivos

R	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
	Fenol	0,3 mmol/L
	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2,6 mmol/L
GLUCOSA CA	Patrón primario acuoso de Glucosa	100 mg/dL

#### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 505 nm (490-550)

Cubeta: .....1 cm paso de luz

Temperatura. .... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón <sup>(Nota1,2)</sup> (µL)	----	10	----
Muestra (µL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 10 minutos a 37°C ó 30 min a temperatura ambiente (15-25°C).

5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

### CALCULOS

(A) Muestra/ (A) Patrón x 100 (Conc. Patrón) = mg/dL de glucosa en la muestra  
Factor de conversión: mg/dL x 0,0555= mmol/L.

Valores de referencia

Suero o plasma:

60 – 110 mg/dL  $\cong$  3,33 – 6,10 mmol/L

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Anexo II

### Determinación cuantitativa de colesterol IVD

#### Colesterol CHOD-POD. Líquido

Reactivos

R	PIPES pH 6.9	90 mmol/L
---	--------------	-----------

	Fenol	26 mmol/L
	Colesterol esterasa (CHE)	1000 U/L
	Colesterol oxidasa (CHOD)	300 U/L
	Peroxidasa (POD)	650 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	0,4 mmol/L
COLESTEROL CAL	Patrón primario acuoso de Colesterol	

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 505 nm (500-550).

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura. .... 37°C /15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
R (mL)	1.0	1.0	1.0
Patrón <sup>(Nota1,2)</sup> (µL)	----	10	----
Muestra (µL)	----	----	10

4. Mezclar e incubar 5 min a 37°C ó 10 min a 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A) del patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 60 minutos

Cálculos

$(A) \text{ Patrón} / (A) \text{ Muestra} \times \text{Conc. Patrón} = \text{mg/dL de colesterol en la muestra}$  Factor de conversión:  $\text{mg/dL} \times 0,0258 = \text{mmol/L}$ .

Valores de referencia

Menos de 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Moderado
240 o más	Alto

Estos valores son orientativos. Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

Anexo III

Determinación cuantitativa de TAG

IVD

### **Lipoperoxidación**

Preparación de reactivos

Disolución tampón: Solución salina 0.9 % (Suero fisiológico).

Reactivo cromógeno: Disolver 5 g/L de ácido tiobarbitúrico (4,6-dihidroxi pirimida-2 tior) en dodecilsulfato de sodio (SDS) al 0.3% (V/V) en agua destilada.

Mezcla de extracción: Mezclar 0.5 ml de agua destilada más 2.5 ml de n-butanol-piridina 15:1 (V/V).