

Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Alozano

ASSESSMENT OF HYPOGLYCEMIC ACTIVITY OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *ABUTA GRANDIFOLIA* (MART.) IN DIABETIC RATS INDUCED BY ALLOXAN

Carlos Justil G.^{1,3}, Pedro Angulo H.^{1,4}, Hugo Justil G.², Jorge Arroyo A.²

RESUMEN

Abuta grandifolia es una planta natural de la región amazónica, utilizada popularmente en el control de la diabetes mellitus. El objetivo de la presente investigación fue evaluar la eficacia reductora del nivel de glicemia del extracto acuoso (EA) de *A. grandifolia* (Mart.), administrado vía oral en ratas diabéticas inducidas por alozano. Se usaron 30 ratas machos de tres meses de edad, cepa Sprague Dawley con peso de 240 ± 10 g. Los animales fueron distribuidos en seis grupos (control negativo, control positivo, tratados con tres dosis del EA [100, 250 y 500 mg/kg] y tratados con glibenclamida [10 mg/kg]). La diabetes fue inducida por inyección intraperitoneal de alozano (100 mg/kg). Los niveles de glucosa en sangre fueron determinados usando un glucómetro electrónico (Accu-Chek Active). La glibenclamida y los EA de *A. grandifolia* en dosis de 100 y 250 mg/kg tuvieron efecto hipoglicemiante; sin embargo, la dosis de 250 mg/kg tuvo mejor efecto a partir de las 6 horas y hasta las 72 horas de su administración. Se concluye que el EA de *A. grandifolia* (Mart.) en dosis oral de 250 mg/kg disminuye la glicemia ($p < 0.05$) en ratas con diabetes inducida por alozano.

Palabras clave: *Abuta grandifolia* (Mart.), diabetes, alozano, extracto

ABSTRACT

Abuta grandifolia is a native plant from the Amazon region, traditionally used in the control of diabetes mellitus. The aim of the present study was to evaluate the effectiveness of reducing the glucose level when the aqueous extract (AE) of *A. grandifolia* (Mart.) is orally administered in diabetic rats induced by alloxan. Thirty Sprague Dawley male rats, 3-month-old, body weight of 240 ± 10 g were used. The animals were distributed in six

¹ Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina Veterinaria, ² Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú

³ E-mail: cj.justil@gmail.com

⁴ E-mail: pedro_qf@hotmail.com

Recibido: 10 de mayo de 2014

Aceptado para publicación: 18 de noviembre de 2014

groups (negative control, positive control, treated with three doses of the AE [100, 250 and 500 mg/kg] and treated with glibenclamide [10 mg/kg]). Diabetes was induced by intraperitoneal injection of alloxan (100 mg/kg). Blood glucose levels were measured by an electronic glucometer (Accu-ChekActive). The glibenclamide and the AE of *A. grandifolia* in doses of 100 and 250 mg/kg showed a hypoglycemic effect; however, the 250 mg/kg dose had the best effect between 6 and 72 hour post administration. It is concluded that AE of *A. grandifolia* (Mart.) (oral dose of 250 mg/kg) decreased blood glucose ($p < 0.05$) in diabetic rats induced by alloxan.

Key words: *Abutagrandidifolia* (Mart.), diabetes, alloxan, extract

INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es una de las cuatro enfermedades no transmisibles prioritarias identificadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS). Esta enfermedad se manifiesta con un trastorno metabólico de hiperglicemia (McCune y Johns, 2002), causada por la secreción anormal de insulina (DM tipo 1) por parte de las células B pancreáticas, incremento de la producción de glucosa hepática y la resistencia a la insulina (DM tipo 2).

Según la OMS, la DM tipo 2 representa al 90% de los casos mundiales y se debe en gran medida al excesivo peso corporal y a la inactividad física. La Federación Internacional de Diabetes cita que los casos diagnosticados de DM hasta 2011 fueron de 316 millones y que llegará hasta los 552 millones en 2030. Sin embargo, esta patología no es propia de los seres humanos, toda vez que las mascotas también la presentan. Para citar como ejemplo, hace 30 años se diagnosticaba diabetes a 19 de cada 10 000 perros que visitaban las clínicas veterinarias (Marmor *et al.*, 1982). En 1999, la prevalencia se había multiplicado por tres: la diabetes afectaba a 58 de cada 10 000 perros que acudían a las clínicas veterinarias (Guptill *et al.*, 2003).

La DM tipo 1 es controlada mediante la administración de insulina y una alimentación restringida en azúcares (Tiedge *et al.*, 2000; Aguilar, 2008), en tanto que la DM tipo 2 se

controla con una alimentación balanceada en azúcares y el uso de medicamentos hipoglicemiantes como la glibenclamida; sin embargo, el consumo de esta puede provocar efectos secundarios como visión borrosa, temblores, náuseas, diarreas e inclusive está relacionada con ictericia colestásica (Lisson Abanto, 1999). Teniendo en cuenta lo anterior, una alternativa válida con el fin de mejorar la calidad de vida de las personas o mascotas que padecen esta enfermedad podría ser el uso de plantas medicinales (Arroyo *et al.*, 2007).

En el Perú, el uso y la comercialización de fitofármacos y productos naturales con fines medicinales muestran un crecimiento acelerado (García *et al.*, 2004). El estudio del efecto hipoglicemiante de *Abuta grandifolia* se fundamenta en la observación de su empleo en la etnofarmacología peruana. El objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia reductora de la glicemia plasmática del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* en ratas con diabetes inducida por aloxano.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Se emplearon 30 ratas machos de tres meses de edad de la cepa Sprague Dawley, con pesos de 240 ± 10 g, procedentes del

bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima, Perú. Los animales tuvieron un periodo de adaptación de cinco días en el bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, donde recibieron una dieta sólida en pellets y agua *ad libitum*.

Medicamento

El extracto acuoso (EA) se obtuvo a partir de la infusión de la corteza deshidratada y pulverizada de *A. grandifolia* (Mart.), procedente de la región Loreto, y que fuera adquirida en una empresa comercial (AAA Abril Natura SAC).

Se colocaron 250 g de corteza deshidratada y pulverizada de *A. grandifolia* con 1 L de agua en un recipiente. La mezcla se hirvió hasta que el agua tomó un color marrón oscuro. La solución se vertió en un beaker y se colocó en una estufa a un máximo de 40 °C, hasta la eliminación del solvente y obtención del EA. Este fue pesado y almacenado en refrigeración en un frasco de vidrio ámbar.

Concentración de Glucosa

Los niveles de glucosa en las ratas fueron determinados usando un glucómetro digital y tiras reactivas Accu-Chek Active. Las muestras de sangre se recolectaron por punción en el ápice de las colas, desechando la primera gota y recibiendo la siguiente sobre la tira reactiva. Los valores obtenidos del glucómetro fueron expresados en mg/dL.

Se tomaron las muestras de sangre por las mañanas, durante los cuatro días de tratamiento, antes de la medicación. Asimismo, el primer día se tomaron muestras a 1, 2, 4 y 6 horas de iniciado el tratamiento.

Inducción de Diabetes Mellitus

Se administró aloxano vía intraperitoneal a 25 ratas normoglicémicas en dosis de 100 mg/kg p.v. disuelto en agua destilada. Los

niveles de glucosa se midieron a las 24 horas y se consideraron hiperglicémicas si el valor de glicemia era mayor de 250 mg/dL. Las ratas tuvieron un periodo de ayuno de 12 horas previo a la inducción de DM.

Diseño Experimental

Se formaron seis grupos de cinco ratas cada uno, las cuales fueron seleccionadas al azar y colocadas en jaulas plásticas. Las dosis de tratamiento por grupo se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamiento de ratas¹ con diabetes mellitus con extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.)

Grupos	Tratamiento
Normoglicémicas	SSF ² vía oral
Diabéticas	SSF vía oral
Diabéticas	Glibenclamida 10 mg/kg p.v. vía oral
Diabéticas	AG ³ 100 mg/kg p.v. vía oral
Diabéticas	AG 250 mg/kg p.v. vía oral
Diabéticas	AG 500 mg/kg p.v. vía oral

¹ Cinco ratas por grupo

² Solución salina fisiológica

³ Extracto acuoso de *Abuta grandifolia*

Análisis Estadístico

Para interpretar los resultados de la investigación, se compararon las medias obtenidas de un mismo grupo a las diferentes horas de evaluación por la prueba «t» Student con un nivel de confianza de 95%. Para comparar la diferencia entre medias de tratamiento, se utilizó el análisis de varianza y la prueba de Fisher con un nivel de confianza de 95%, mediante el software MINITAB v. 16.0. Se consideró un valor de $p < 0.05$ para establecer la significancia estadística.

Cuadro 2. Concentraciones de glucosa sanguínea (promedio \pm error estándar, en mg/dL) en ratas diabéticas (RD) durante las primeras seis horas de la administración de extracto acuoso (EA) de *Abuta grandifolia* (Mart.)

Grupo	Horas posmedicación				
	0	1	2	4	6
Normoglicémicas	102 \pm 4 ^a	100 \pm 2 ^{a1}	99 \pm 5 ^{a1}	97 \pm 4 ^{a1}	101 \pm 3 ^{a1}
RD	322 \pm 13 ^a	338 \pm 9 ^{a2,3}	315 \pm 10 ^{a2,3}	335 \pm 11 ^{a2}	324 \pm 10 ^{a2}
RD + 10mg/kg GBC ¹	344 \pm 9 ^a	309 \pm 5 ^{b3}	221 \pm 3 ^{b5}	231 \pm 10 ^{b3}	251 \pm 14 ^{b3}
RD + 100 mg/kg EA	304 \pm 15 ^a	291 \pm 17 ^{b3}	237 \pm 21 ^{b4,5}	201 \pm 15 ^{b3}	215 \pm 14 ^{b3}
RD + 250 mg/kg EA	338 \pm 16 ^a	332 \pm 23 ^{a2,3}	288 \pm 21 ^{b3,4}	254 \pm 21 ^{b3}	239 \pm 18 ^{b3}
RD + 500 mg/kg EA	353 \pm 15 ^a	359 \pm 21 ^{a2}	353 \pm 33 ^{a2}	338 \pm 36 ^{a2}	322 \pm 31 ^{a2}

^{a,b}Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las medias del mismo grupo en los tiempos de medición

^{1,2,3,4,5}Números diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las medias de grupos dentro de cada tiempo de medición

¹ Glibenclamida

RESULTADOS

Todas las ratas que recibieron aloxano desarrollaron hiperglicemia ($p < 0.05$) a las 24 horas, en tanto que las ratas asignadas como controles negativos permanecieron normoglicémicas.

Los niveles de glucosa en sangre disminuyeron luego de la administración del EA de *A. grandifolia* (Cuadro 2). Los grupos que recibieron glibenclamida y 100 mg/kg de EA mostraron una reducción significativa de la glicemia ($p < 0.05$) a partir de la primera hora del tratamiento, en tanto que el grupo que recibió 250 mg/kg de EA lo hizo a partir de la segunda hora ($p < 0.05$). Por otro lado, no se observaron diferencias en los niveles de glucosa durante las primeras seis horas del es-

tudio en las ratas que recibieron 500 mg/kg de EA (Cuadro 2).

Al comparar los resultados obtenidos durante las seis horas de la administración del EA, se pudo observar que si bien ningún grupo que recibió tratamiento fue estadísticamente diferente al grupo diabético en la primera hora del tratamiento, las diferencias pudieron ser observadas a partir de las dos horas en los grupos que recibieron glibenclamida y 100 mg/kg de EA ($p < 0.05$) (Cuadro 2).

Al comparar las medias dentro de cada grupo (Cuadro 3), todos los grupos medicados, con excepción del grupo que recibió 100 mg/kg de EA, mostraron una reducción significativa de la glicemia ($p < 0.05$) a las 24 horas del tratamiento, en tanto que solo el grupo que

Cuadro 3. Concentraciones de glucosa sanguínea (promedio \pm error estándar, en mg/dL) en ratas diabéticas (RD), dentro de las 72 horas de administración del extracto acuoso (EA) de *Abuta grandifolia* (Mart.)

Grupo	Horas posmedicación			
	0	24	48	72
Normoglicémicas	102.2 \pm 4.2 ^a	97.4 \pm 6.1 ^{a1}	100.2 \pm 2.1 ^{a1}	101.8 \pm 2.6 ^{a1}
RD	322.0 \pm 12.7 ^a	355.2 \pm 16.6 ^{a2}	342.4 \pm 19.4 ^{a2}	374.0 \pm 18.7 ^{b2}
RD + 10 mg/kg GBC ¹	343.6 \pm 8.6 ^a	253.0 \pm 7.0 ^{b3}	309.4 \pm 7.5 ^{a2,3}	332.4 \pm 7.89 ^{a2,3}
RD + 100 mg/kg EA	304.4 \pm 14.6 ^a	287.4 \pm 8.0 ^{a2,3}	298.6 \pm 24.2 ^{a2,3}	290.0 \pm 18.6 ^{a3}
RD + 250 mg/kg EA	337.8 \pm 15.5 ^a	247.0 \pm 19.8 ^{b3}	260.2 \pm 19.8 ^{b3}	236.8 \pm 12.5 ^{b4}
RD + 500 mg/kg EA	352.8 \pm 15.3 ^a	262.2 \pm 31.5 ^{b3}	299.4 \pm 33.8 ^{a2,3}	316.6 \pm 32.4 ^{a3}

^{a,b} Letras diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las medias del mismo grupo en los tiempos de medición

^{1,2,3,4} Números diferentes indican diferencia estadística ($p < 0.05$) entre las medias de grupos dentro de cada tiempo de medición

¹Glibenclamida

recibió 250 mg/kg de EA mostró una reducción significativa de la glucemia a las 48 y 72 horas del tratamiento ($p < 0.05$). Por otro lado, al comparar los resultados entre grupos, los tres grupos que recibieron el EA mostraron una reducción significativa de la glucemia a las 72 horas, en comparación con las ratas diabéticas del control positivo ($p < 0.05$) (Cuadro 3).

DISCUSIÓN

Los niveles elevados de glucosa sanguínea observados a las 24 horas de la administración de aloxano son indicativos de un cuadro de hiperglicemia por daño selectivo de las células beta pancreáticas causado por el aloxano (Murillo *et al.*, 2006), provocando una diabetes mellitus insulino-dependiente (DMID) progresiva (Cubillos *et al.*, 2008). El aloxano posee una similitud molecular con la estructura de la glucosa (Elsner *et al.*, 2000) y es captado por la célula B vía transportador de

glucosa GLUT-2, generando radicales hidroxilos, facilitando de esta forma la acción tóxica y diabetogénica (Ojewole, 2002).

Los resultados mostraron una pronta y más rápida disminución de la concentración de glucosa sanguínea, por efecto de la glibenclamida, en comparación con el EA de *A. grandifolia*. Esto es debido a la buena absorción vía oral de la glibenclamida, la cual tiene una vida media de 10 horas y una acción de 24 horas, presentando una respuesta de secreción de insulina desde las 2 horas de su administración (Katzung, 2005). Por otro lado, la demora del efecto hipoglicemiante del EA se debe, probablemente, a una lenta absorción, por la presencia de ciertos componentes o metabolitos secundarios.

Duke y Vázquez (1994) detectaron la presencia de alcaloides y aislaron derivados de berberina (BBR) en *A. grandifolia*. Se ha demostrado, tanto *in vitro* como en modelos animales, que esta sustancia incrementa la expresión de los receptores de la insulina

(InsR) y mejora la utilidad de la glucosa (Li-Zhong *et al.*, 2010). Los InsR son glicoproteínas que atraviesan la membrana y son esenciales para la acción de la insulina. La unión de la insulina al receptor en el hígado, músculos y tejido adiposo activa múltiples vías de la síntesis para el glucógeno intracelular, aumentando la captación de la glucosa, así como causando una reducción de la salida de la glucosa en el hígado y músculos (Fridlyand y Philipson, 2004). Por lo tanto, el nivel de glucosa en sangre disminuye, siendo este uno de los principales mecanismos que el organismo utiliza para mantener la homeostasis de la glucosa.

En otros estudios que evaluaron el efecto hipoglicemiante de otras plantas en ratas Holtzman sometidas al aloxano, se pudo observar que la *Annona muricata* (guanábana) tiene una actividad similar a la obtenida en el presente estudio (Palomino, 2007). Es así que una dosis de 200 mg/kg produjo el 44% de disminución de glucosa sanguínea a las 72 horas, en tanto que una dosis mayor (600 mg/kg) no tuvo efecto, resultado similar a la dosis de 500 mg/kg del EA del presente trabajo.

No se dispone de información sobre las propiedades antioxidantes de *A. grandifolia*; sin embargo, existe un estudio que demuestra un efecto antitumoral por parte de sus alcaloides hidrosolubles (Rojas *et al.*, 2004), lo cual permitiría deducir que su EA puede tener un efecto protector del páncreas, reduciendo el efecto citotóxico del aloxano hacia las células B pancreáticas (Sabu y Kuttan, 2002; Kameswara Rao *et al.*, 2003).

El presente estudio demostró que el extracto acuoso de *A. grandifolia* (Mart.) posee actividad hipoglicemiante en condiciones experimentales y podría ser considerado como un producto alternativo natural en el tratamiento de pacientes que presentan intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus.

CONCLUSIONES

El extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.), en dosis oral de 250 mg/kg, disminuye la glicemia ($p < 0.05$) en ratas con diabetes inducida por aloxano.

LITERATURA CITADA

1. **Aguilar S. 2008.** Sistema de actualización médica en diabetes. México: Intersistemas. 90 p.
2. **Arroyo J, Bonilla P, Valencia J, Justil H, Palomino C, Marin M. 2006.** Estudio fitoquímico y antidiabético de las hojas del extracto acuoso de *Baccharis genistelloides* Pers «carqueja» en ratas diabéticas. An Fac Med Lima 67 (Suppl 1): S27.
3. **Cubillos V, López C, Alberdi A. 2008.** Estudio histopatológico e inmunohistoquímico de páncreas en perros diabéticos inducidos con aloxano. Arch Med Vet 40: 169-177. doi: 10.4067/S0301-732X2008000200009
4. **Duke J, Vasquez R. 1994.** Amazonian ethnobotanical dictionary. Boca ratón, USA: CRC Press. 202 p.
5. **Elsner M, Tiedge M, Guldbakke B, Munday R, Lenzen S. 2002.** Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan. Diabetologia 45: 1542-1549. doi: 10.1007/s00125-002-0955-x
6. **Fridlyand L, Philipson L. 2004.** Does the glucose-dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic beta-cells? Diabetes 53: 1942-1948. doi: 10.2337/diabetes.53.8.1942
7. **Guptill L, Glickman L, Glickman N. 2003.** Time trends and risk factors for diabetes mellitus in dogs: analysis of veterinary medical data base records (1970-1999). Vet J 165: 240-247. doi: 10.1016/S1090-0233(02)00242-3

8. **Kameswara Rao B, Giri R, Kesavulu M, Apparao C. 2003.** Herbal medicines: in the treatment of diabetes mellitus. *Manphar Vaidya Patrika* 1(4): 33-35.
9. **Katzung B. 2005.** Farmacología básica y clínica. 9ª ed. México: Manual Moderno. 1152 p.
10. **Lisson Abanto R. 1999.** Glibenclamida en diabetes mellitus. *Rev Farmacol Terap* 6(1-2): 19.
11. **Li-Zhong L, Cheung S, Lan L, Ho L, Chan J. 2010.** Berberine modulates insulin signaling transduction in insulin-resistant cells. *Endocrinol Cell Mol* 317: 148-153. doi: 10.1016/j.mce.2009.12.027
12. **Marmor M, Willeberg P, Glickman L, Priester W, Cypess R, Hurvitz A. 1982.** Epizootiologic patterns of diabetes mellitus in dogs. *Am J Vet Res* 43: 465-470.
13. **McCune L, Johns T. 2002.** Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by the indigenous peoples of the North American boreal forest. *J Ethnopharmacol* 82: 197-205. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00180-0
14. **Murillo E, Tique M, Ospina L, Lombo O. 2006.** Evaluación preliminar de la actividad hipoglicémica en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in vitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri*. *Rev Col Cienc Quím Farm* 35(1): 64-80.
15. **Ojewole J. 2002.** Hypoglycaemic effect of *Clausena anisata* (Willd) Hook methanolic root extract in rats. *J Ethnopharmacology* 81: 231-237.
16. **Palomino F. 2007.** Efecto del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* («guanábana») sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. Tesis de Químico Farmacéutico. Lima: Univ Nacional Mayor de San Marcos. 44 p.
17. **Rojas Y, Soto R, Retuerto F, Fuerte C. 2004.** Efecto antitumoral de los alcaloides hidrosolubles de *Abuta grandifolia* (Mart.) *Sandwith*, en línea celular HEP-2. *Cienc Invest* 7(1): 22-27.
18. **Sabu M, Kuttan R. 2002.** Anti-diabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *J Ethnopharmacol* 81: 155-160. doi: 10.1016/S0378-8741(02)00034-X
19. **Tiedge M, Elsner M, McClenaghan N, Hedrich H, Grube D, Klempnauer J, Lenzen S. 2000.** Engineering of a glucose responsive surrogate cell for insulin replacement therapy of experimental insulin-dependent diabetes. *Hum Gene Ther* 11: 403-414.