



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS

Evaluación del efecto hipoglucemiante y nefroprotector de un extracto de cultivos celulares de *Buddleja cordata* en modelo murino de diabetes inducida

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA

PRESENTA:

DALIA PICHARDO PERALTA

ASESOR:

DRA. MARIA ELENA ESTRADA ZUÑIGA

CO-ASESOR:

DR. RIGOBERTO OROS PANTOJA

TOLUCA, EDO. DE MÉXICO, A 28 DE MAYO DEL 2018

ÍNDICE

1. RESUMEN	9
2. INTRODUCCIÓN	10
2.1. Absorción y transporte de glucosa	11
2.1.1. Función del páncreas en la absorción y transporte de glucosa	12
2.1.1.1. Páncreas Exocrino	12
2.1.1.2. Páncreas Endocrino	13
2.1.1.3. Hormonas pancreáticas y funciones	14
2.1.1.3.1. Síntesis de insulina	15
2.1.1.3.2. Transporte de glucosa en sangre hacia otras células	16
2.1.1.3.3. Disfuncionalidad en el transporte de glucosa contenida en sangre: diabetes mellitus (DM)	20
2.1.1.3.3.1. Tipos de DM	20
2.1.1.3.3.2. Síntomas de DM	21
2.1.1.3.3.2.1. Hiperglucemia, síntoma principal de la DM	22
2.1.1.3.3.2.1.1. Modelo biológico experimental CD-1 para inducción de diabetes	23
2.1.1.3.3.2.1.1.1. Características principales	23
2.1.1.3.3.2.1.1.2. Modelo hiperglucémico	23
2.1.1.3.3.2.1.1.3. Manipulación quirúrgica	24
2.1.1.3.3.2.1.1.4. Inducción química de diabetes experimental	24
2.1.1.3.3.2.1.1.4.1. Alloxan	24
2.1.1.3.3.2.1.1.4.2. Mecanismo de acción del alloxan	25
2.1.1.3.3.2.1.1.4.2. Nefropatía	26
2.1.1.3.3.2.1.1.4.2.3. Riñón	26
2.1.1.3.3.2.1.1.4.2.3.1. Estructura	27
2.1.1.3.3.3. Tratamiento de la DM	31
2.1.1.3.3.3.1. Compuestos hipoglucemiantes orales y sus efectos	31
2.1.1.3.3.3.1.1. Sulfonilureas	31
2.1.1.3.3.3.1.2. Biguadinas	31
2.1.1.3.3.3.1.3. Metformina	32
2.1.1.3.3.3.1.4. Tiazolidinedionas	32
2.1.1.3.3.3.1.5. Inhibidores de enzimas α -glucosidasa y α -amilasa	32
2.1.1.3.3.3.2. Fitoquímicos asociados al tratamiento de DM	33
2.1.1.3.3.3.2.1. Flavonoides	33

2.1.1.3.3.3.2.2. Flavanonas	33
2.1.1.3.3.3.2.3. Flavonoles	34
2.1.1.3.3.3.2.4. Flavonas	34
2.1.1.3.3.3.2.5. Antocianidinas	34
2.1.1.3.3.3.2.6. Acción biológica de los flavonoides asociada a DM	35
2.1.1.3.3.3.2.7. Otros tipos de fitoquímicos presentes en plantas empleadas como tratamiento contra DM	35
2.1.1.3.3.3.2.8. Especies vegetales empleadas en México para el control de la DM	36
3. ANTECEDENTES	40
3.1. <i>Buddleja cordata</i>	40
3.1.1. Clasificación botánica de <i>Buddleja cordata</i>	40
3.1.2. Descripción botánica de <i>B. cordata</i>	40
3.1.3. Clima y suelo	41
3.1.4. Distribución	41
3.1.5. Etnobotánica	41
3.1.6. Fitoquímicos reportados en <i>B. cordata</i>	42
3.1.7. Cultivos <i>in vitro</i> de <i>B. cordata</i>	43
4. JUSTIFICACIÓN	44
5. HIPÓTESIS	45
6. OBJETIVOS	46
6.1. Objetivo general	46
6.2. Objetivo específico	46
7. METODOLOGÍA	47
7.1. Obtención de extracto de células <i>B. cordata</i> por ultrasonificador	47
7.2. Modelo experimental	48
7.2.1. Distribución de grupos experimentales	48
7.2.2. Tratamiento del modelo experimental con extracto de células de <i>B. cordata</i> por vía oral	50
7.2.3. Prueba curva de tolerancia a la glucosa en modelos experimentales	50
7.2.4. Recolección de orina de modelos experimentales durante 24 hrs	51
7.2.5. Eutanasia a modelos experimentales y obtención de órganos	52
7.2.5.1. Bioimpedancia	52
7.2.5.2. Análisis histológico de riñón y páncreas	53
7.2.5.3. Obtención de cortes con micrótomo	54

7.2.5.3.1. Técnica de tinción hematoxilina-eosina	55
7.2.5.4. Análisis Estadístico	57
8. RESULTADOS	58
8.1. Efecto del extracto, a través del tiempo, sobre el contenido de glucosa en sangre en modelos experimentales	58
8.2. Efecto del extracto, a través del tiempo, sobre el consumo de agua y alimento por modelos experimentales	59
8.3. Efecto del extracto, a través del tiempo, sobre el peso ganado en los modelos experimentales	61
8.4. Efecto del extracto a la tolerancia de glucosa en sangre	61
8.5. Efecto del extracto sobre agua corporal, masa grasa, índice de masa corporal, masa libre de grasa y volumen sanguíneo	62
8.6. Análisis de orina	64
8.6.1. Efecto del extracto en volumen de orina producido por modelos experimentales	64
8.7. Efecto del extracto sobre órganos	65
8.7.1. Efecto protector del extracto sobre los islotes pancreáticos.	65
8.7.2. Efecto protector del extracto sobre los corpúsculos renales de riñón	66
9. DISCUSIÓN	67
10. CONCLUSIONES	71
11. BIBLIOGRAFÍA	72

ÍNDICE DE FIGURAS

No. Figura	CONTENIDO	No. Página
1	Diagrama de la estructura de páncreas	12
2	Células acinares exocrinas y el sistema de conductos excretores	13
3	Islotes de Langerhans del páncreas de un ratón, con tinción de hematoxilina-eosina	13
4	Hormonas secretadas por los Islotes Pancreáticos	15
5	Biosíntesis de la insulina	16
6	Transporte de glucosa a través de SGLT y GLUT	19
7	Modelo experimental CD-1	23
8	Estructura interna del riñón	27
9	Estructura del corpúsculo renal	28
10	Corteza y médula constituyen la parte interna del riñón	29
11	Microestructura de la Nefrona y clasificación	30
12	Clasificación química de los flavonoides	33
13	Estructura química de algunos tipos de flavonoides	34
14	Estructura química de la cafeína	36
15	Estructuras químicas sobre terpenos.	36
16	Morfología de <i>Buddleja cordata</i> ssp. <i>cordata</i> .	40
17	Diagrama del procedimiento de obtención del extracto metanólico de células <i>B. cordata</i> por ultrasonicador.	47
18	Diagrama del procedimiento de obtención del concentrado de <i>B. cordata</i> mediante el rotavapor	48
19	Diagrama de la organización de grupos experimentales	49

20	Diagrama del proceso de inducción de diabetes al modelo experimental	49
21	Diagrama de la administración de tratamientos a modelos experimentales por vía oral	50
22	Diagrama de la prueba curva de tolerancia a la glucosa modelos experimentales	51
23	Diagrama del procedimiento de recolección de orina durante 24 hrs	51
24	Diagrama de la eutanasia aplicada a los modelos experimentales y la obtención de riñón y páncreas	52
25	Diagrama de Bioimpedancia	53
26	Diagrama del proceso de análisis histológico del riñón y páncreas	54
27	Diagrama del proceso de obtención de cortes con micrótopo	55
28	Diagrama de técnica de tinción hematoxilina-eosina	56
29	Efecto de la administración del extracto de células de <i>B. cordata</i> sobre el contenido de glucosa en sangre de ratones no diabéticos (CTRL, SUP) y diabéticos (DM, DM+SUP) a 7, 14, 26 y 33 días de tratamiento	58
30	Efecto del extracto de células <i>B. cordata</i> sobre el consumo de agua y alimento durante los 38 días experimentales en los grupos experimentales	60
31	Cinética de tolerancia a la glucosa, a los 0, 15, 30, 60, 120 min posteriores a una inyección intraperitoneal de glucosa en ratones no diabéticos (CTRL, SUP) y diabéticos (DM, DM+SUP)	62
32	Efecto del extracto sobre los parámetros obtenidos en la Bioimpedancia.	64
33	Efecto del extracto sobre el volumen de orina producido durante 24 hrs por modelos experimentales no diabéticos (CTRL, SUP) y diabéticos (DM, DM+SUP).	65
34	Morfología de los islotes pancreáticos con tinción de hematoxilina-eosina de acuerdo con su tratamiento.	66
35	Morfología del corpúsculo renal con tinción de hematoxilina-eosina en muestras de riñón de ratones tratados con extracto de células de <i>B. cordata</i> .	67

ÍNDICE DE TABLA

No. Tabla	CONTENIDO	No. Página
1	Principales características de los transportadores SGLT	17
2	Principales características de los transportadores GLUT	17, 18
3	Principales características de los hipoglucemiantes orales	31
4	Algunas plantas, y sus fitoquímicos, empleadas como tratamiento contra DM	38, 39
5	Macro y micronutrientes contenidos en las hojas de <i>B. cordata</i>	43
6	Efecto del extracto de células de <i>B. cordata</i> sobre el peso ganado en los modelos experimentales.	61

ABREVIATURAS

%	porcentaje
°C	grados centígrados
µg	microgramos
ATP	Adenosín trifosfato
<i>B. cordata</i>	<i>Buddleja cordata</i>
C	Carbono
Ca ⁺⁺	Calcio sérico
Cm	centímetro
dL	decilitro
DM	diabetes mellitus
DMT1	diabetes mellitus tipo 1
DMT2	diabetes mellitus tipo 2
Dw	peso seco
Gr	gramo
GLUT	Transportadores de difusión facilitada a glucosa
Hrs	horas
K	Potasio
K ⁺	Ion Potasio
Kg	Kilogramo
MBG	Membrana Basal Glomerular
Mg	miligramo
Min	minuto
Mm	milímetro
OH	grupo hidroxilo
SGLT	Transportadores de glucosa acoplados a sodio y glucosa
SH	grupo sulfhídrico

1. RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica degenerativa caracterizada por el incremento de la glucosa sanguínea (hiperglucemia), la cual provoca daño cardiovascular, neuropatía, nefropatía, retinopatía, etc. Se manifiesta por factores de riesgo debido a un desorden alimenticio, aumento de peso por baja o nula actividad física y/o una producción disfuncional/nula de la insulina. El tratamiento de DM puede ser ineficiente y puede generar efectos secundarios como vómitos, problemas gastrointestinales, insuficiencia renal, etc. que resultan contraproducentes al paciente. En México, la DM, ha aumentado el número de defunciones y, al ser crónica, requiere de un gran gasto económico para el gobierno solventar el tratamiento de la población. En el presente trabajo se reportan resultados sobre el efecto hipoglucemiante y protector del riñón y páncreas de un extracto obtenido de cultivos de células de *Buddleja cordata* (tepozán), como una alternativa al tratamiento de la DM. El extracto, fue administrado diariamente vía oral a un grupo de ratones sanos (SUP) y de ratones inducidos a DM (DM+SUP), cada uno teniendo su grupo control (ratones sanos: CTRL y ratones diabéticos: DM; ambos no recibieron el extracto). En los primeros 18 días se administró una dosis del extracto de 100mg/Kg, y de los días 19 a 38 se administró 300mg/Kg. Durante el tratamiento se determinó el peso, consumo de agua y alimento, glucemia y bioimpedancia. Al final del tratamiento se extrajo riñón y páncreas, después fueron analizados histológicamente. Durante los 38 días del experimento, el nivel de glucosa en sangre tendió a ser constante para el grupo CTRL (107.33-125.83 mg/dL) y el grupo SUP (102.5-174.5 mg/dL); sin diferencias estadísticamente significativas. Mientras, los grupos de ratones diabéticos (DM: 382-522.66 mg/dL y DM+SUP: 480.33-591 mg/dL) presentaron niveles de glucosa significativamente mayores al grupo CTRL; respecto a estos dos últimos grupos, no se encontraron diferencias estadísticas entre ellos. Los resultados de la histomorfología mostraron: islotes pancreáticos normales y bien delimitados en el grupo CTRL, islotes pancreáticos con incremento de volumen en el grupo SUP, deterioro de los islotes para el grupo DM y mantenimiento de la estructura de los islotes pancreáticos en el grupo DM+SUP. Mientras, en la estructura del riñón en el grupo CTRL se observó definida la membrana basal glomerular (MBG), el grupo DM tuvo dañada la MBG, el grupo SUP presentó estructura de la MBG similar a la del CTRL, y en el grupo DM+SUP se pudo apreciar la MBG. En conclusión, la administración crónica del extracto de células de *B. cordata* en ratones diabéticos mostró efectos nefroprotectores, aunque no actuó como hipoglucemiante.