

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central shield with a figure on horseback, a castle, and a lion. Above the shield is a crown with a cross. The shield is flanked by two lions. The entire emblem is surrounded by a circular border containing the Latin text "UNIVERSITAS CAROLINA ACADÉMICA COACTEMALENSIS INTER CETERA FERREBIS CONSPICUA".

**DESCRIPCIÓN MICROANATÓMICA, CONTENIDO FITOQUÍMICO Y
DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCEMIANTE DE DOS
ESPECIES DEL GÉNERO *OPUNTIA* EN GUATEMALA**

**ANDREA MARIÁN STEPHANY CASTELLANOS MOREIRA
CARMEN LISETH CHOPOX TELEGUARIO**

QUÍMICAS BIOLÓGAS

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2017

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**DESCRIPCIÓN MICROANATÓMICA, CONTENIDO FITOQUÍMICO Y
DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIHIPERGLUCEMIANTE DE DOS
ESPECIES DEL GÉNERO *OPUNTIA* EN GUATEMALA**

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

**ANDREA MARIÁN STEPHANY CASTELLANOS MOREIRA
CARMEN LISETH CHOPOX TELEGUARIO**

**PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICAS BIÓLOGAS**

GUATEMALA, OCTUBRE DE 2017

JUNTA DIRECTIVA

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano

Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.

Secretaria

MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo

Vocal I

Dr. Juan Francisco Pérez Sabino

Vocal II

Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera

Vocal III

Br. Andreina Delia Irene López Hernández

Vocal IV

Br. Carol Andrea Betancourt Herrera

Vocal V

AGRADECIMIENTOS

No fue sencillo el camino recorrido, pero en este espacio queremos agradecer a todas aquellas personas que estuvieron involucradas en la realización de este trabajo: a nuestras Asesoras Licda. Ana Margarita Paz y Licda. María Eugenia Paredes por su orientación y correcciones realizadas y a quienes además tenemos un especial cariño y admiración; a nuestro Revisor Dr. Roberto Flores por su paciencia y entusiasmo; el apoyo del Bioterio Dra. Amarilis Saravia y el Herbario BIGU por permitirnos desarrollar la investigación en sus diferentes fases. Un agradecimiento especial al Lic. Ricardo Figueroa por su asesoría, apoyo incondicional y entusiasmo en todo el proceso.

Agradecemos a todas aquellas personas y profesionales de la facultad de Ciencias Químicas y Farmacia que aportaron conocimientos y dedicación a lo largo de las distintas fases de la realización de este trabajo.

A nuestras familias y amigos que siempre han sido parte de nuestra inspiración, apoyo y motivación, y fundamentalmente a Dios, que ha forjado nuestro camino siendo nuestra mayor fortaleza en cada etapa y culminación de este trabajo.

DEDICATORIA

A Dios: Por su infinito amor y misericordia en cada aspecto de nuestras vidas.

A nuestros padres: Por su profundo amor, cuidados, paciencia y ser nuestros ejemplos de vida, así como fomentarnos siempre excelentes principios y valores.

A nuestros hermanos: Por el cariño y vivencias compartidas desde la niñez que han sido y serán parte de nuestra felicidad.

A nuestros amigos: Por el brillo que dejan en nuestros corazones al compartir gratos y memorables momentos.

ÍNDICE

I.	ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN	1
II.	RESUMEN	2
III.	ANTECEDENTES	3
IV.	JUSTIFICACIÓN	18
V.	OBJETIVOS	19
VI.	HIPÓTESIS	20
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	21
VIII.	RESULTADOS	32
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	46
X.	CONCLUSIONES	53
XI.	RECOMENDACIONES	54
XII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
XIII.	ANEXO	62

I. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica que consiste en un trastorno metabólico caracterizado por altos niveles de glucosa en sangre que pueden dar paso a complicaciones graves y Guatemala es uno de los países de Latinoamérica que presenta mayor prevalencia de esta patología. Según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, el 8% de la población se ve afectada por esta enfermedad (Moreira, 2014).

El tratamiento farmacológico de la diabetes está dirigido a corregir una o más de las alteraciones metabólicas subyacentes, con el objetivo primordial de mantener los niveles de glucosa cercanos a los valores normales. Sin embargo, la mayoría de estos fármacos desarrolla efectos adversos en los pacientes, quienes muchas veces recurren a medicina alternativa, la cual puede resultar menos agresiva y más económica. El uso de plantas medicinales puede satisfacer necesidades de atención primaria de salud, incluyendo la tuna o nopal como medicina alternativa. Guatemala es conocido por ser un país rico en biodiversidad, cuenta con 44 especies de la familia Cactaceae, dentro de la cual se encuentra el género *Opuntia*, del que muchas especies son utilizadas empíricamente entre la población guatemalteca para tratar la diabetes.

Este estudio forma parte de la línea de investigación en bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, de la Universidad de San Carlos de Guatemala. En este caso se evaluará la actividad antihiperglucemiante de dos especies de nopal (*O. streptacantha* Lem y *O. ficus-indica* (L.) Mill.) recolectadas en Guatemala. La actividad antihiperglucemiante de estas especies ha sido estudiada en México, pero resulta conveniente analizar las propiedades de estas especies en Guatemala, por la diversidad de ambientes y suelos en que se encuentran.

II. RESUMEN

Los cactus del género *Opuntia* han sido utilizados hasta la fecha como medicamento natural con propiedades antidiabéticas en algunos países de Latinoamérica, incluyendo Guatemala. Varios estudios en animales sugieren y respaldan la actividad antihiper glucemiante para algunas especies de este género y se especula que las variaciones en la respuesta antihiper glucemiante dependen de varios factores como la especie y su hábitat, de los que pueden depender sus principios activos (Butterweek, Smlin, Feistel, Pischel, Bauer & Verspohl, 2011). Debido a que en Guatemala no existen estudios sobre la micromorfología, metabolitos secundarios y actividad antihiper glucemiante de las especies de cactus, se hizo un estudio descriptivo de tales aspectos en muestras de *Opuntia streptacantha* y *Opuntia ficus-indica* recolectadas en los departamentos de Huehuetenango y Chimaltenango.

La micromorfología vegetal fue analizada mediante técnica de diafanizado, cortes transversales de los cladodios, los cuales fueron observados en fresco y teñidos con diferentes colorantes, así también se realizaron impresiones de la epidermis y se estableció que ambas especies poseen epidermis con estomas ciclocíticos hundidos en la cutícula; colénquima laminar, clorénquima y parénquima de reserva con granos de almidón, cristales en forma de drusas en todos los estratos mencionados y en las cavidades estomáticas. La densidad estomática de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* fue de 21 estomas/mm² y 19 estomas/mm² respectivamente, lo que coincide con la descripción para estas especies en México.

Los metabolitos secundarios fueron determinados mediante fitotamizaje cualitativo en tubo a partir de cladodios triturados, se determinó que ambas especies poseen taninos, alcaloides, flavonoides y saponinas triterpenoides.

Finalmente, la evaluación de la actividad antihiper glucemiante se realizó mediante ensayo *in vivo* en ratas normoglucémicas, a las cuales se les administraron extractos acuosos y licuados de cladodios de las dos especies de *Opuntia*, los cuales mostraron efecto antihiper glucemiante estadísticamente significativo. Sin embargo, la preparación de licuado mostró mayor efecto en comparación con los extractos acuosos, en las ratas estudiadas.

III. ANTECEDENTES

A. Hidratos de carbono en el organismo

Los hidratos de carbono de los alimentos como los disacáridos y polisacáridos se convierten en glucosa por medio de los procesos de digestión y absorción. La glucosa tiene el papel fundamental de suministrar energía para organismos animales y fúngicos (Velásquez, 2006).

1. Absorción de la glucosa

Los disacáridos y los polisacáridos son la principal fuente de glucosa del ser humano. Después de ser ingeridos son sometidos a hidrólisis, por acción de enzimas digestivas en el lumen del intestino delgado, para ser convertidos en glucosa, galactosa y fructosa y ser absorbidos. Luego de ser absorbida la glucosa por medio del mecanismo de transporte activo de la bomba de sodio-potasio en las células de la membrana intestinal, ésta circula en el plasma. La glucosa que no se requiere como fuente de energía es captada por el hígado, donde es fosforilada (glucosa-1-fosfato) para su transformación en glucógeno y como sustancia de reserva en el hígado. El ingreso de la glucosa para ser utilizada como energía a las células está regulada por la insulina (Elia & Cummings, 2007).

La célula cuenta con un conjunto de 11 enzimas ubicadas en el citoplasma para llevar a cabo la utilización de la glucosa (glucólisis), este proceso es fuente importante de energía y consta de dos etapas fundamentales, la formación de dos triosas fosfatadas y la transformación de gliceraldehído-3-fosfato a ácido pirúvico (Espinosa, Pérez, Pérez y Barber, 2012).

2. Efecto de la fibra dietética en la absorción intestinal

El consumo de fibra viscosa retarda el vaciamiento gástrico y hace más lento el proceso de absorción, lo que causa a su vez sensación de saciedad. Por consiguiente, la velocidad de vaciamiento lenta retarda la digestión y absorción de los alimentos. Cabe mencionar que la glucosa posprandial es menor aún después del consumo de hidratos de carbono digeribles.

Las principales fuentes de fibra dietética se encuentran en los vegetales y pueden ser consumidos frescos, enlatados, congelados y cocidos. Según Marlett y Vollendorf (1993) la cocción no modifica el contenido total de fibra. Los polisacáridos no digeribles, como la fibra dietética y los almidones resistentes, pasan relativamente intactos en su recorrido por el tracto gastrointestinal y según las propiedades de sus componentes producen diferentes efectos fisiológicos (Velásquez, 2006).

B. Diabetes

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de síndromes metabólicos que se caracterizan por la aparición de hiperglucemia secundaria y defectos de la secreción y/o acción de la insulina. Lo más notorio es la alteración del metabolismo de hidratos de carbono, que también afecta el metabolismo proteico y lipídico. Este trastorno puede llevar a complicaciones renales, pérdida de la visión, insuficiencia arterial de extremidades inferiores, cardiopatía isquémica con infarto de miocardio e incremento de enfermedad vascular cerebral (Noda, Pérez, Rodríguez y Aphag, 2008).

La DM no aparece súbitamente sino más bien paulatinamente en el organismo, puede tardar incluso 10 años para que se cumplan los criterios de diagnóstico en una persona; sin embargo en ese lapso de tiempo, el organismo manifiesta algunas anomalías metabólicas como niveles mayores de glucosa en ayunas (100.0 a 126.0 mg/dl) que se conoce como prediabetes. Una persona prediabética usualmente no desarrolla complicaciones como un diabético, pero está expuesta a padecer de enfermedades cardiovasculares y accidentes cerebrovasculares (Marlow, 2012).

Entre los tipos de diabetes se destacan, la DM tipo 1 y la tipo 2. La primera se desarrolla en niños y adolescentes, tiende a ser dependiente de la insulina y propensa a complicaciones como la cetoacidosis; la segunda es más frecuente en personas obesas que presentan resistencia a la insulina (Tarragona, Soca, Cruz y Santiesteban, 2012).

1. Epidemiología a nivel mundial

La DM se sitúa entre la cuarta y octava causa de muerte en países desarrollados, implicando a su vez un elevado coste económico para su tratamiento. La previsión de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2003) para el año 2030 es de 366 millones de diabéticos en todo el mundo, la mayoría tipo 2. Esta afección alcanzará dimensiones de auténtica epidemia en países desarrollados (Ruiz, Escolar, Mayoral, Corral y Fernández, 2006).

Aproximadamente el 52.0% del total de personas diabéticas en el continente americano viven en Latinoamérica, sin embargo se prevé que para el año 2025 el porcentaje aumentará a 62.0% con la modernización de los estilos de vida que han adoptado el sedentarismo y aumento de peso (Ruiz, et al., 2006).

2. Epidemiología en Guatemala

Guatemala es uno de los países de la región de Latinoamérica que presenta mayor prevalencia de diabetes. Según el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social, un 8.0% de la población padece diabetes. En el área de Sololá, en 2002, se evidenció una prevalencia del 7.0% en personas de raza indígena, mientras que en el área urbana de Panajachel se encontró una tasa de incidencia de 4.9 por 10,000 habitantes (Moreira, 2014).

En una encuesta epidemiológica coordinada por autoridades de Salud Pública en Guatemala, realizada en el municipio de Villa Nueva en 2007, se evidenció que de una muestra de 1,398 personas el 24.5% tenían antecedentes familiares relacionados con DM, una prevalencia de la enfermedad de 8.4% y la glucosa alterada en ayunas en el 23.6% de los pacientes, lo que alarmantemente indicó que la tercera parte de la población estudiada mostró trastornos del control de la glucosa. El mismo estudio demostró que en la población con diagnóstico de DM, el porcentaje de obesidad (47%) y sobrepeso (31%); también señala un aumento significativo en la prevalencia de DM conforme a la edad, puesto que personas de 20 a 29 años presentaron prevalencia de 2.2, en comparación con personas mayores de 60 años que mostraron una prevalencia de 24.6 (Moreira, 2014).

A pesar de que existen pocos datos exactos sobre la prevalencia de la DM en Guatemala, cabe mencionar que en el país la prevalencia de DM tipo 1 en personas menores de 15 años oscila en 0.4 por 10,000 habitantes (Moreira, 2014).

Por otra parte, un estudio en 2012 encontró mayor frecuencia de prediabetes y glucosa en ayunas alterada en adultos jóvenes no indígenas de sexo femenino en la ciudad de Guatemala (Juárez, Castañeda, Montenegro y Flores 2012).

3. Agentes antihiper glucemiantes

Los fármacos antihiper glucemiantes impiden el aumento exacerbado de los niveles de glucemia, ya que retrasan la absorción de disacáridos e hidratos de carbono complejos en el intestino delgado. Estos no afectan la glucemia basal, pero sí disminuyen el incremento posprandial (González y Ortiz, 2012). Uno de ellos es la acarbosa, que es una pseudotetramaltosa de origen microbiano que se obtiene por bioingeniería y produce un efecto antihiper glucemiante al actuar como inhibidor competitivo de la enzima alfa-glucosidasa. Con este compuesto, los polisacáridos no son transformados en monosacáridos, por lo que se prolonga su absorción y permite que la glucemia posprandial se reduzca (Fleitas y Rodríguez, 2013).

4. Agentes hipoglucemiantes

Los hipoglucemiantes son un conjunto heterogéneo de drogas que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos (González y Ortiz, 2012).

Los agentes hipoglucemiantes pueden ser clasificados como secretagogos de insulina. Son fármacos que actúan incrementando la secreción de insulina por parte de las células beta del páncreas bloqueando los canales de potasio sensibles a ATP (KATP), provocando la liberación de insulina. También pueden ser clasificados como sensibilizadores de la insulina. El mecanismo de estos fármacos son variados e incrementan la sensibilidad de los órganos diana como el músculo y el hígado a la insulina (González y Ortiz, 2012).

5. Uso de plantas medicinales con acción antidiabética

En países en vías de desarrollo o con bajos niveles socioeconómicos, un sector amplio de la población no tiene acceso a fármacos de alta tecnología o a esquemas modernos de tratamiento; surge entonces la fitoterapia o medicina natural como una alternativa de igual efectividad, pero con menos efectos secundarios comunes de las drogas sintéticas y con la ventaja de ser más económica (Hunt, Arar & Akana, 2000). Además, en cuanto a la hiperglucemia, las plantas medicinales o sus extractos pueden optimizar el metabolismo de la glucosa y la condición integral de los diabéticos, no sólo por sus efectos hipoglucemiantes sino también al mejorar el perfil lipídico, el estado antioxidante y la función capilar. A nivel mundial se han reportado más de 400 productos de plantas medicinales que se comercializan para el tratamiento de la diabetes (Yeh, 2003). *Opuntia* es un género de plantas de la familia de las cactáceas, que contienen gran cantidad de fibra soluble y de pectina que pueden interferir en la absorción intestinal de la glucosa y reducir la glucemia (Gallego y Ferreira, 2015).

a. Plantas medicinales antidiabéticas en Guatemala

Con respecto a los pueblos de origen maya, es poco lo escrito en cuanto al uso de plantas medicinales en los tiempos pre-colombinos, sin embargo existen tratados sobre las formas de curar que usaban los pueblos antiguos mayas (Cáceres y Girón, 1984). El Centro Mesoamericano de Estudios sobre Tecnología Apropriada (CEMAT) ha impulsado desde 1980 la clasificación de alrededor de 200 plantas medicinales, comestibles o culinarias en los herbarios. Según CEMAT-ERPLAM en Guatemala existen plantas medicinales con acción antidiabética (Durán, 1964).

El uso de plantas medicinales en Guatemala es principalmente de conocimiento popular o empírico. Dichos usos han sido descritos desde principios de siglo, aunque en forma empírica y aceptando como válidas las concepciones populares. Según Cáceres y Girón (1984) se hicieron varias encuestas entre curanderos y herbolarios para detectar las plantas antidiabéticas de su farmacopea específica; se encontró que las únicas plantas utilizadas para este fin fueron la corteza de *Croton guatemalensis* (algodoncillo) y *Tabebuia rosea* (matilisguate), las raíces de

Achillea millefolium (milenrama), los frutos de *Momordica charantia* (balsamina), las flores de *Tecoma stans* (chacté) y los tallos y frutos de *Opuntia* spp.

b. Importancia del uso de plantas con actividad antidiabética

El aumento mundial en la incidencia de obesidad y las enfermedades crónicas como la DM, los cambios en el ambiente, cambios en las dietas han promovido un desbalance en el estilo de vida de la población guatemalteca. Según Moreira (2014), en un estudio epidemiológico coordinado por autoridades de Salud Pública en Guatemala, se demostró que el porcentaje de obesidad y sobrepeso en el país fue del 78.0% (47.0 y 31.0% respectivamente); además, el 55.0% de las personas en el estudio eran sedentarias por lo que se puede afirmar que estos factores han influenciado cambios de estilos de vida menos saludables y aumentado la frecuencia de DM en nuestra población. También menciona que la prevalencia de obesidad se correlaciona inversamente con el nivel socio-económico en los sectores menos favorecidos de la población, probablemente debido a las transiciones que las personas realizan en sus estilos de vida y al poco acceso a los servicios de salud y educación.

C. Familia de las Cactáceas

Son plantas dicotiledóneas arquiclamídeas, que constituyen el orden de las Opuntiales, de flores actinomorfas y hermafroditas; el perianto cuenta con numerosas piezas que pasan de sépalos a pétalos; el gineceo se compone de cuatro a ocho carpelos concrecentes en un ovario unilocular y con un solo estilo; los rudimentos seminales son numerosos, bitegmentados y con placentas parietales; el fruto es carnoso y abayado. Casi todas las cactáceas son plantas suculentas afiladas o casi afiladas, de tallos rollizos y rechonchos, globulosos o comprimidos y divididos en artejos; las hojas son muy reducidas, efímeras o transformadas en espinas; en su axila suelen hallarse fascículos de espinas o mechitas de largos pelos; flores generalmente vistosas, que surgen de los pulvínulos foliares. Se conocen 1,500 especies de los países templados y cálidos de América (Font, 2000).

1. Nombre comunes del género *Opuntia*

Nopal, nopalera, tuna, chumbera, higuera de chumbo, pita, higuera de pala, picones (Lodé, 2015).

2. Clasificación taxonómica

Reino: Vegetal

Subreino: Embryophyta

División: Angiosperma

Clase: Dicotyledoneae

Subclase: Dialipetalas

Orden: Opuntiales

Familia: Cactaceae

Tribu: Opuntiae

Subfamilia: Opuntioideae

Género: *Opuntia*

Subgénero: *Platyopuntia*

Especie: *streptacantha* y *ficus-indica* (Instituto Nacional de Ecología, 1994)

3. Distribución y hábitat

El género *Opuntia* presenta una enorme repartición geográfica. El número de especies es uno de los más importantes dentro de las Cactáceas y además, algunas de ellas son muy variables. Se encuentran desde Canadá hasta Patagonia pasando por el Caribe. Ocupan prácticamente todos los hábitats, desde el típico chaparral del sudoeste de Estados Unidos y norte de México, pero también sobre planicies aluviales y escarpas rocosas, sobre suelos rocallosos, arenosos o guijosos, sobre rocas volcánicas, entre las hierbas, matorrales, colinas rocosas, pendientes áridas, en el borde de cañones y entre pinos en regiones a veces cubiertas de nieve, desde el nivel del mar hasta 4,100 mt de altitud (Lodé, 2015). En México se encuentra ampliamente distribuida en la República Mexicana, en la región conocida como el desierto Chihuahuense, formando, en

algunas otras regiones bosques impenetrables, como la zona cactológica por excelencia del altiplano potosiano-zacatecano (López, Fuentes y Rodríguez, 1997).

4. Descripción botánica

Plantas arbustivas a arborescentes, a menudo con un tronco distinto, divididas en segmentos (cladodios), mayormente aplanados, circulares, oblongos, elípticos o alargados, raramente cilíndricos. Hojas minúsculas cilíndricas o subuladas y rápidamente caducas. Gloquidios y pelos presentes en las areolas; espinas aciculares, subuladas o setosas, no poseen funda (Lodé, 2015).

a. Raíz

Tiene un sistema radicular perenne, extenso y superficial, en las raicillas secundarias se encuentran pelos absorbentes, caducas debido a que su presencia se limita a la época de lluvias por esta razón su estructura y funcionamiento le permite captar con eficiencia la mayor cantidad de agua durante lluvias producidas en breves períodos (Instituto Nacional de Ecología, 1994).

b. Tallos

Los tallos modificados o cladodios son aplanados, ovales, ramificados y de color verde. Los cladodios cumplen la función de las hojas, comúnmente se conoce como nopalito al cladodio joven y penca al cladodio adulto, cuando se encuentran jóvenes son de apariencia suculenta y con mayor contenido en fibra soluble mientras que los cladodios más viejos presentan mayor contenido en fibra insoluble (Instituto Nacional de Ecología, 1994).

Los cladodios almacenan la mayor cantidad de agua con un mínimo de pérdida ya que cuenta con un tejido central esponjoso con células grandes y diseñadas para el almacenamiento de agua y un recubrimiento de cera sobre la epidermis (Instituto Nacional de Ecología, 1994). El aumento del área del cladodio dura alrededor de 90 días, sobre ambas caras se presentan las yemas, llamadas areolas, que tienen la capacidad de desarrollar nuevos cladodios y flores según las condiciones ambientales. Cabe mencionar que el contenido de fibra alimentaria en los cladodios la hace comparable a la espinaca. La fibra es un compuesto que forma parte de los alimentos

funcionales debido a que proporciona un beneficio fisiológico, fortalece la salud, ayuda a prevenir o tratar enfermedades. La fibra dietética es uno de los componentes más estudiados desde el punto de vista de la nutrición, está constituida por diferentes componentes resistentes a las enzimas digestivas entre ellos la celulosa, hemicelulosa y la lignina (Sáenz, 2006).

En el cladodio el contenido de fibra según su solubilidad en agua se clasifica en fibra soluble conformado por mucílagos, gomas, pectinas y hemicelulosas y la fibra insoluble conformado por celulosa y lignina; así la fibra soluble se asocia con la reducción de los niveles de glucosa, colesterol y la estabilización del vaciamiento gástrico y la insoluble con la capacidad de retención de agua y la absorción de ácidos biliares, minerales y vitaminas (Sáenz, 2006).

i) Histología de los cladodios

Según un estudio realizado por Quezada, Sandoval, Alvarado y Moreno (2013), en un corte transversal realizado del cladodio de *Opuntia ficus-indica* se observa, en la parte exterior una cutícula gruesa, hundida en ella se encuentran los estomas. La cavidad subestomática se extiende desde la epidermis hasta el clorénquima, su forma es cilíndrica entre la epidermis y el colénquima, y globosa en el clorénquima.

Debajo de la cutícula se encuentra la epidermis constituida por dos capas de células rectangulares seguida del tejido colénquima constituido por cuatro a cinco capas de células que se caracterizan por presentar pared gruesa; adyacente al colénquima se localiza el clorénquima, constituido por varias capas de células dispuestas en empalizada de forma rectangular y protoplasma abundante. Después del clorénquima se observan grandes células de forma rectangular que conforman el parénquima de almacenamiento de mucílago y presencia de cristales de oxalato de calcio (drusas). Luego del parénquima de almacenamiento se encuentra el sistema vascular por fibras floemáticas y xilema (Quezada, et al., 2013).

c. Flor

Las flores son diurnas, generalmente solitarias, de color amarillo claro a amarillo vivo, naranja, rojas, carmín, rosa purpúreo y a veces blanquecinas (Lodé, 2015). Nacen en la base de los árboles, que funcionan indistintamente como yemas florales. Las flores constan de cáliz con tubo oval, soldado con el ovario y con el limbo, con abundantes pétalos, estambres persistentes, con los filamentos largos, coloridos y lóbulos estigmáticos, son polinizadas a través de insectos, lepidópteros, dípteros, etc. La apertura de la flor tarda 55 días después de la aparición de las yemas florales y permanece abierta durante 24 horas; justo después de dos días, se empieza a contar la vida del fruto (Instituto Nacional de Ecología, 1994).

d. Fruto

Es una baya ovoide, cilíndrica, de diversos colores, umbilicada en el extremo superior. Sus semillas son de color variable (Instituto Nacional de Ecología, 1994).

5. *Opuntia streptacantha* Lem.

También es conocida como tuna o nopal. Es una planta arborescente muy ramificada, que alcanza hasta cinco metros de altura. Tronco bien definido, a veces de 45.0 cm de diámetro. Cladodios obovados de color verde oscuro hasta orbiculares, de 25.0 - 30.0 cm de longitud, con areolas pequeñas, cercanas entre sí. Espinas numerosas, extendidas, en ocasiones algunas de ellas algo adpresas, blancas; gloquidios muy cortos de color café rojizo. Flores de siete a nueve centímetros de ancho, de color amarillas y anaranjadas; sépalos rojizos, los frutos son globosos, de cinco centímetros de diámetro, rojo oscuro o a veces amarillento, en ambos casos por dentro y fuera (Véliz, 2008).

En Guatemala esta planta se distribuye en los departamentos de Sacatepéquez, Chimaltenango, Quiché y Huehuetenango; a una altitud entre los 1600 a 2500 metros sobre el nivel del mar (Véliz, 2008).

6. *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

También es conocida como chumbera, higuera, chumba, tuna o nopal. Es una planta crasa que puede llegar a medir tres o cuatro metros de altura, pudiendo incluso alcanzar los cinco y seis metros, el tallo está formado por artejos aplastados de gran tamaño de aproximadamente 50.0 por 20.0 cm con formas entre ovada y espatulada se articulan entre sí por el borde, los del eje terminan por hacerse leñosos y rollizos, posteriormente se tornan de una coloración pardusca o pardo-grisácea, éstos sirven como tronco en los ejemplares añosos (López, 2006).

Los artejos mencionados con anterioridad también son llamadas “palas”, éstas poseen al nacer pequeñas hojas cilíndricas de unos tres milímetros que caen prontamente para ser sustituidas por mechones de diminutas espinas que pueden llevar entremezcladas algunas espinas rígidas de color amarillento o blanquecino. En los artejos más viejos las espinas terminan por caer quedando inermes; por su parte, las flores suelen ser formadas por el ovario, de gran tamaño, está cubierto de mechones de espinas, coronado por los sépalos y pétalos, de color amarillo vivo; van sobre los artejos o palas hacia los bordes en su mayoría, en el interior se encuentra tapizado por infinitos estambres. El fruto es una baya de aproximadamente cinco a nueve centímetros deprimida en el ápice y de un color amarillento o rojizo, las semillas son numerosas y se encuentran englobadas en una masa amarillenta o rojiza de sabor dulce (López, 2006).

En Guatemala esta planta se distribuye en los departamentos de Baja Verapaz, Chimaltenango, Huehuetenango, Quiché y Sacatepéquez; a una altitud entre los 940 a 2310 metros sobre el nivel del mar (Véliz, 2008).

Según un estudio bromatológico, el cladodio de *O. ficus-indica* se encuentra compuesto por agua (éste representa el mayor porcentaje), carbohidratos, vitamina C, fibra (lignocelulósica, pectina, mucílago y gomas), cenizas, proteína, calcio, sodio, potasio, hierro y grasa. Se constató que los cladodios jóvenes contienen menor cantidad de fibra que los cladodios de aproximadamente un año de edad (Guzmán y Chávez, 2007).

D. Estudios sobre actividad antihiperglucemiante de *Opuntia*

El nopal es tradicionalmente utilizado para combatir la DM tipo 2 en algunos países como México, Corea, Marruecos y España (Guevara, 2009). Estudios en animales así como en humanos sugieren que la actividad antihiperglucemiante proviene del contenido de polisacáridos y otros compuestos hidrosolubles. Se ha especulado que la absorción intestinal de la glucosa se retrasa con el consumo de nopal, por la viscosidad de su fibra, en la que habría un efecto mecánico en la reducción de los niveles de glucosa posprandial, sin embargo no se ha dilucidado el mecanismo o principio activo involucrado (Butterweek, et al., 2011).

En otros estudios se ha reportado que la producción de ácidos grasos de cadena corta (ácido propiónico y acético) durante la fermentación de fibrina (pectina y mucílago de nopal) en el colon es la causante de un efecto hipoglucémico, al estimular la secreción de insulina por lo que reduce los niveles de glucemia (Guevara, 2009).

Se especula que las variaciones en la respuesta antihiperglucemiante e hipoglucemiante también dependen de la especie de *Opuntia*, ya que los principios activos pueden variar de especie a especie (Butterweek, et al., 2011). Basurto, Lorenzana y Magos (2006) mostraron que la administración a corto plazo de las especies *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* tiene efecto antihiperglucemiante en pacientes diabéticos, muestran actividad antihipercolesteremiante y antihiperlipidémica, por lo que el consumo de nopal podría tener utilidad en pacientes con niveles de glucosa en ayunas igual o mayores a 126.0 mg/dl, sin llegar a 200.0 mg/dl y sin presentar todos los criterios diagnósticos de DM tipo 2.

1. Estudios sobre *Opuntia streptacantha* Lem.

Tradicionalmente en varios países como México, Argentina, Chile y Estados Unidos, *Opuntia streptacantha* es parte de la dieta humana, también se utiliza como forraje, y como planta medicinal. Desempeña un papel importante en la agricultura de subsistencia y ha destacado como una estrategia ecológica productiva para reducir las consecuencias de la sequía ya que proporciona una gran diversidad de productos para el consumo humano y animal, además

de contribuir a proteger el suelo y a la biodiversidad animal que habita en las zonas áridas y semiáridas. En México se usa para el tratamiento de la diabetes y el colesterol alto. Actualmente es reconocida como agente vegetal para el tratamiento de la DM tipo 2 por indígenas americanos (Pimienta, 1993).

Un estudio realizado por Becerra y Andrade (2012) planteó como hipótesis del mecanismo del efecto antihiper glucemiante de *O. streptacantha*, la hidrólisis de los disacáridos mediante la inhibición enzimática de la alfa glucosidasa; sin embargo, los resultados demostraron que los extractos del nopal no afectan la hidrólisis de los disacáridos, ni por inhibición de la alfa glucosidasa ni por medios mecánicos.

Se han realizado estudios en los que se ha demostrado que la administración a diferentes concentraciones de cladodios de *O. streptacantha* en personas logra reducir la hiperglucemia. Por otra parte se reporta que el efecto antidiabético está directamente relacionado con la dosis administrada (Castañeda, González & Frati, 1997).

Existe evidencia experimental que apoya la actividad antihiper glucémica de *O. streptacantha* con dosis desde 100 g, y la actividad llamada hipoglucemiante aguda (diferente al mecanismo de la fibra) con dosis de 300 a 500 g.

Ambos efectos son catalogados como antidiabéticos. La actividad antihiper glucemiante obtenida con altas dosis, se debe principalmente a su contenido de fibra, pues inhibe la absorción intestinal de la glucosa y de los lípidos en DM tipo 2, tanto en personas obesas y sanas; sin embargo, puede presentar efectos secundarios, como aumento en volumen de las heces y flatulencias, y sugieren que el nopal debe administrarse como parte del tratamiento integral en pacientes con DM tipo 2, sin sustituir los hipoglucemiantes orales (Basurto, et al., 2006).

2. Estudios sobre *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.

Butterweek, et al., (2011) evaluaron el efecto antihiper glucemiante de extractos acuosos de *O. ficus indica*, mediante una sobrecarga de glucosa administrada en ratas media hora después de

los extractos del cladodio. Los resultados obtenidos apoyan la efectividad de la disminución de la glucosa posprandial aún administrada en dosis muy pequeñas.

Una serie de estudios en México, llevados a cabo en ratas y personas diabéticas, han puesto de manifiesto la actividad hipoglucémica de los extractos de esta especie. Frati, Jiménez y Ariza (1990) realizaron un estudio para evaluar si distintas preparaciones de tallos de *O. ficus-indica* ejercían efecto hipoglucemiante en pacientes con DM tipo 2. Las preparaciones consistían en tallos asados, licuados crudos y calentados a 60°C, y se encontró que *O. ficus-indica* ejerce efectos antidiabéticos en pacientes con DM tipo 2, independientemente del tipo de preparación.

E. Test de tolerancia a la glucosa

Este test mide la capacidad que tiene el organismo para metabolizar la glucosa, de manera que evidencia alteraciones en el metabolismo de los hidratos de carbono. El test de tolerancia a la glucosa consiste en lo siguiente: después de un ayuno de 10 a 12 horas, se obtiene del paciente una muestra de sangre en ayunas para determinar la glucemia basal. De acuerdo con el criterio del Expert Committee on the Diagnosis and Clasificación of Diabetes (ECD/CDM), si el valor de glucemia en ayunas es igual o mayor a 126.0 mg/dl se diagnostica como DM. Si la glucemia en ayunas es menor de 126.0 mg/dl, entonces se le administra al paciente una carga de glucosa oral (75.0 gramos de glucosa disuelta en 250.0 mililitros de agua), posteriormente, se toman muestras de sangre a intervalos regulares de tiempo, según muestreos convencionales: una muestra cada hora hasta las dos horas, o bien una muestra cada 30 minutos. Si la muestra de las dos horas es igual o superior a los 200.0 mg/dl se diagnostica DM (Trujillo, 2007).

Estudios realizados por la Universidad Autónoma de Madrid aconsejan realizar las mediciones durante al menos tres horas, con el fin de obtener mayor información, que pueda contribuir a detectar, de manera temprana el desarrollo de la DM tipo 2 (Trujillo, 2007).

1. Modelos animales inducidos a hiperglucemia transitoria

En la mayoría de estudios realizados sobre DM se da un enfoque hacia los niveles altos de glucemia. Existen diferentes modelos animales para su estudio, tales como los que desarrollan

espontáneamente diabetes con dietas con alto contenido de grasas, los inducidos de forma química y los inducidos por medio de cirugía o transgénicos *knock-out*. Estos modelos conllevan daño pancreático o inducen a falla en el mismo y ocasionan daño permanente al animal empleado (Urzúa, 2011).

En un estudio realizado por Gilia, Habibb, Gentab, Alonso y Sánchez (2007) se analizó el efecto de la administración oral de cladodios, empleando ratas con hiperglucemia transitoria. Este modelo resulta ser factible, evitando daño permanente al animal y simula el estado de hiperglucemia en la prediabetes. Para ello utilizaron ratas Wistar a las que se les administró por vía oral una solución de 50.0% de glucosa (2.0 g/kg de peso corporal) 30 minutos después de la toma de cada tratamiento. Los niveles de glucosa en sangre se determinaron durante un período de 2 horas. Urzúa (2011) también empleó la dosis de glucosa 2.0 g/kg de peso corporal, para inducir a hiperglucemia transitoria, incluyendo un ayuno previo de 12 horas.

2. Toxicidad de los preparados de *Opuntia* en modelos animales

Carrasco (2012), como parte de la comprobación del efecto hipoglucemiante del extracto de *Opuntia ficus-indica* en ratones con hiperglucemia inducida, realizó un estudio de toxicidad aguda y análisis de cortes histológicos de los órganos (hígado, riñón, y estómago) de los modelos animales empleados y reportó que no existe daño en el parénquima gástrico, hepática y renal, de tal forma que concluyó que el extracto de la planta no es tóxica.

IV. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica que afecta el estilo de vida de las personas que la padecen, por las complicaciones en su salud a corto o largo plazo y su tratamiento es de por vida. Muchos medicamentos se basan en drogas químicas que pueden ocasionar efectos adversos en los pacientes sin mencionar el elevado costo económico que puedan representar.

El Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de la República de Guatemala, menciona que en el período de 2008 a 2013, la diabetes mellitus tuvo un incremento en la tasa de mortalidad a nivel nacional. Por otra parte, la situación de pobreza en el país supera el 60%, por lo que es necesario hacer investigación sobre medicamentos de origen natural y de bajo costo, ante el desafío que representa la diabetes, prediabetes y factores asociados como la obesidad.

El uso de plantas medicinales puede ser considerado como una opción menos perjudicial que los medicamentos sintéticos y al mismo tiempo más accesible económicamente a la población guatemalteca.

Opuntia es un género vegetal que ha sido y se sigue utilizando como medicamento natural con propiedades antidiabéticas en algunos países de Latinoamérica, incluido Guatemala. Sin embargo, en nuestro país no se conoce con certeza la identidad taxonómica de las especies que se utilizan para este fin, ni la composición química, ni descripción microanatómica, ni la efectividad antidiabética de las especies que se consumen. Teniendo en consideración que las dos especies de *Opuntia* más estudiadas en México por su actividad antihiper glucemiante son *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*, esta investigación pretendió describir la micromorfología vegetal y contenido fitoquímico de ejemplares de dichas especies, recolectadas en Guatemala y comprobar su actividad antihiper glucemiante mediante un ensayo *in vivo*.

V. OBJETIVOS

Objetivo General

- Analizar la estructura micromorfológica, contenido fitoquímico y actividad antihiper glucemiante de *Opuntia streptacantha* y *Opuntia ficus-indica* en Guatemala.

Objetivos Específicos:

- Describir las características anatómicas microscópicas (epidermis y tejido fundamental) de cladodios de *O. streptacantha* y *O.ficus-indica* encontradas en Guatemala.
- Determinar el contenido fitoquímico de las especies *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*.
- Determinar la actividad antihiper glucemiante del extracto acuoso y del licuado de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* en ratas con hiper glucemia transitoria.
- Confirmar la utilidad de las dos especies de *Opuntia* como plantas antidiabéticas por sus propiedades y composición fitoquímica.

VI. HIPÓTESIS

El extracto acuoso y el licuado de los cladodios de las especies *Opuntia streptacantha* y *Opuntia ficus-indica* tienen actividad antihiper glucemiante en ratas inducidas a hiper glucemia transitoria con sobrecarga de maltosa.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Recursos

1. Humanos

- Estudiantes: Br. Andrea Marián Stephany Castellanos Moreira y Br. Carmen Liseth Chopox Teleguario
- Asesores del trabajo de investigación: Licda. Margarita Paz de Ramírez y Licda. María Eugenia Paredes Sánchez

2. Institucionales

- Laboratorio de Bioensayos, Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Herbario de Escuela de Biología (BIGU), Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Bioterio “Dra. Amarilis Saravia Gómez”.

B. Universo de trabajo

Plantas del género *Opuntia* con atribución de actividad antihiperoglucemiante, pertenecientes a la flora que crecen en Guatemala.

1. Muestra

Dos especies de *Opuntia* con actividad antihiperoglucemiante: *O. streptacantha* Lem. y *O. ficus-indica* (L.) Mill.

2. Obtención del material vegetal

La especie *O. streptacantha* fue recolectada en el departamento de Huehuetenango. *O. ficus-indica* fue recolectada en el departamento de Chimaltenango.

Se cortaron ejemplares de los tallos (cladodios) de ambas especies, se colocaron en hojas de papel periódico, luego se transportaron al herbario para su identificación.

C. Listado de materiales

1. Material vegetal fresco

- Cladodios de *O. streptacantha*
- Cladodios de *O. ficus-indica*

2. Cristalería

- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Embudo
- Erlenmeyer de 50 ml
- Probeta de 100 ml
- Tubos de ensayo
- Varilla de vidrio
- Vidrio de reloj
- Beaker de 50 ml
- Beaker de 100 ml
- Pipetas pasteur de vidrio
- Tubos de ensayo con rosca

3. Utensilios de laboratorio

- Gradilla
- Bisturí
- Guardián descartador

4. Equipos

- Microscopio Fisher Scientific Micromaster, triocular con monitor Westover MM-501 LCD para la toma de imágenes.
- Software Westover Micron Imaging
- Balanza semianalítica
- Estereoscopio
- Glucómetro
- Estufa
- Licuadora

5. Reactivos

- Aceite de inmersión
- Agua destilada
- Etanol
- Safranina
- Verde rápido
- Azul de toluidina
- Sulfato férrico 2.0%
- Etanol al 80.0%
- Etanol al 95.0%
- Etanol al 100.0%
- Xilol
- Cloruro de sodio al 1.0%
- Gelatina al 1.0%
- Cloruro férrico al 10.0%
- Reactivo de Dragendorff
- Agua destilada
- Gelatina-glicerol
- Ácido clorhídrico concentrado

- Torneaduras de magnesio
- Hidróxido de sodio al 5.0%
- Hidróxido de sodio al 50.0%
- Hipoclorito de sodio al 50.0%
- Hidrato de cloral (5:2)
- Anhídrido acético
- Ácido sulfúrico concentrado
- Solución de glucosa al 50.0%

6. Biológicos

- 30 ratas Wistar, con peso de 300.0 ± 20.0 gramos.

7. Fármacos

- Acarbosa

8. Otros

- Jeringas de 5.0 ml
- Bata de laboratorio
- Guantes desechables
- Cofias
- Mascarillas
- Tiras reactiva para glucómetro
- Algodón
- Bolsa de plástico
- Cartulina
- Etiquetas
- Folders
- Gelatina sin sabor
- Hojas de afeitar Gillette

- Lápiz
- Marcador permanente
- Tijeras
- Hojas papel bond
- Sondas orogástricas
- papel periódico
- Navaja o cuchillo
- Cucharas
- Masking-tape
- Prensa

D. Metodología

1. Pruebas de identificación

a. Recolección de las especies *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*

Se cortaron los cladodios de cada especie de *Opuntia*, incluyendo flores y/o frutos. Se colocaron en hojas de papel periódico a fin de conservar la forma estructural de la planta según lo recomendado por López y Rosas (2002).

i) Criterios de inclusión de cladodios

Se seleccionaron cladodios jóvenes según los siguientes criterios: a) cladodios con peso de aproximadamente 60.0 a 100.0 g y b) con color verde brillante (Rodríguez, et al., 2007).

b. Herborización de ejemplares frescos

Luego de recolectados, los ejemplares se llevaron al herbario de la Escuela de Biología (BIGU) de la Universidad de San Carlos de Guatemala donde se identificaron. Luego, se procedió a preparar el ejemplar para conservación mediante su herborización, para lo cual el cladodio se partió corte longitudinalmente, al igual que las otras estructuras. Ambas partes se descarnaron con una cuchara, se retiraron las partes mucilaginosas y luego se colocaron en papel periódico. Se procedió a la presión y deshidratación en cámaras de secado, según la técnica de

López y Rosas (2002), en el edificio anexo del Herbario BIGU. Este herbario brindó la certificación taxonómica de las especies recolectadas.

2. Preparación de cortes histológicos

Se realizaron cortes transversales a mano alzada de planta fresca, con hojas de afeitar. Los cortes obtenidos se depositaron en un vidrio de reloj con agua y seguidamente se seleccionaron con una lupa los cortes más delgados y con apariencia uniforme, y se observaron al microscopio en aumentos de 100X y 400X (Rojas, Cruz y Román, 2011).

3. Técnicas de coloración

a. Coloración con azul de toluidina

En un vidrio de reloj se colocó colorante azul de toluidina diluido al que se añadieron los cortes más delgados y se dejaron reposar por 5 minutos. Una vez teñidos se observaron en el microscopio en aumentos de 10X y 40X (Sandoval, 2005).

b. Coloración con safranina

Luego de elegidos los cortes más delgados se clarificaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 50.0%, hasta que se observaron blancos, luego se realizaron de cinco a seis lavados, durante tres minutos cada uno, con agua destilada. Seguidamente se tiñeron con solución de safranina al 1.0% en agua durante dos a cinco minutos, se lavaron con agua destilada y se colocaron en un portaobjetos al que se agregó una gota de gelatina-glicerina calentada y se colocó un cubreobjetos. Con esta técnica se observaron las paredes lignificadas y la cutícula en color rojo intenso y paredes celulósicas de color rosado (Rojas, et al., 2011).

c. Diafanizado

Se colocó el material vegetal en un beaker con alcohol etílico al 96.0%, se llevó a ebullición durante diez minutos en baño maría. Se agregaron partes iguales de alcohol al 96.0% y NaOH al 5.0%, se llevó a ebullición en baño maría durante cinco a diez minutos, se lavó con agua destilada, se decantó el sobrenadante y se aplicó NaClO al 50.0% hasta obtener el material

transparente. Seguidamente se lavó con agua destilada para eliminar el resto de NaClO, se colocó en hidrato de cloral (5:2) durante cinco a diez minutos como mínimo, hasta que se tornó transparente (el material permaneció en dicha solución hasta el momento de la tinción de montaje). Se realizó la tinción con safranina al 1.0% en agua destilada y se montó en un portaobjetos con gelatina-glicerina (Martínez y Gómez, 2006).

4. Observación de estomas

Se formó una película delgada de esmalte transparente sobre la superficie de la hoja, teniendo cuidado de no tocarla con la mano. Después de quince minutos, se desprendió con una pinza la película formada y se colocó sobre un portaobjetos de tal forma que la parte que estuvo en contacto con la epidermis de la hoja quedó hacia arriba. Se observó al microscopio en un aumento de 40X (Flórez y Cruz, 2004).

a. Determinación de estomas por mm² de epidermis

Se observó al microscopio la impresión de epidermis tomada con el esmalte. Se enfocó con un aumento de 400x el campo y se tomó una fotografía con el software Micron®. Se contó el número de estomas en el área observada, se determinó el área rectangular de la fotografía del campo visible del microscopio con la ayuda de una escala micrométrica, mediante la fórmula:

$$A= b*h$$

Donde:

“A” es el área, “b” es la base y “h” altura del campo visible (Flórez y Cruz, 2004). Se realizaron 12 repeticiones por especie de las impresiones de la epidermis.

5. Pruebas fitoquímicas

a. Determinación cualitativa de taninos y polifenoles tanínicos en tubo

Se pesaron 5.0 g de material vegetal fresco triturado, se colocaron en un beaker con 5.0 ml de agua destilada y se llevó a ebullición. Posteriormente se filtró la solución y se colocaron 3.0 a 5.0 ml en un tubo de ensayo, el cual se dejó enfriar. Posteriormente se agregó una gota de reactivo

sulfato férrico, y se dejó reposar (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** El apareamiento de un color azul-verdoso evidencia la presencia de taninos.

Test de sal-gelatina: Se prepararon extractos con 10.0 ml de etanol al 80.0% y se llevaron a ebullición durante dos minutos, luego se dividieron los extractos en dos tubos; al primer tubo se le agregó 1.0 ml de una solución de cloruro de sodio 10.0%, al segundo tubo se le agregó 1.0 ml de solución de gelatina al 1.0% (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** La formación de precipitado en ambos tubos y la producción de un color negro-azul o verde-azul indican la presencia de polifenoles tanínicos.

b. Determinación cualitativa de alcaloides en tubo

Se pesó 5.0 g de material vegetal fresco triturado, se colocó en un beaker y se llevó a ebullición durante dos minutos, se retiró del fuego y esperó a que enfriara. Se filtró la solución obtenida y se colocaron 3.0 a 5.0 ml en un tubo de ensayo al que se agregó una gota de reactivo Dragendorff (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** El apareamiento de color rojo ladrillo o amarillo naranja indica presencia alcaloides.

c. Determinación cualitativa de flavonoides en tubo (Ensayo de Shinoda o ensayo de cianidina)

Se preparó un triturado del cladodio de cada espécimen vegetal, al que se agregó 10.0 ml de agua hirviendo. Se prepararon dos tubos con 3.0 ml de cada extracto. Al primer tubo (control), se le agregó 3.0 a 5.0 ml de agua destilada al segundo se le agregó 0.5 ml de HCl concentrado y 3 virutas de magnesio. Un cambio de color (verde a rojo) dentro de un período de diez minutos del segundo tubo se comparó con el tubo control, se enfrió y diluyó con un volumen igual de agua destilada y se adicionó 1.0 ml de alcohol etílico, se agitó y dejó reposar hasta la obtención de 2 capas. (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** El desarrollo de tonalidades rojas en la capa del alcohol etílico indica presencia de flavonoides

d. Determinación cualitativa de saponina en tubo (Liebermann-Burchard)

Se colocó el material vegetal en un beaker 20.0 ml de agua hirviendo, en un tubo de ensayo se colocaron 5.0 ml de cada muestra. Se agregaron a cada tubo de quince a veinte gotas de anhídrido acético y se mezcló. Se agregó cuidadosamente una gota de ácido sulfúrico concentrado y se mezcló suavemente (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** coloración azul-verde indica presencia de saponinas esteroidales, observado a intervalos de quince minutos durante una hora.

e. Determinación cualitativa de saponinas en tubo (Test de espuma)

Se pesó 5.0 g de material vegetal fresco triturado, se colocó en un beaker con 5.0 ml de agua destilada, se llevó a ebullición, se filtró la solución y se recolectó en un tubo de ensayo el cual se dejó enfriar. Se agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado, se observó una coloración azul verdosa y se agitó fuertemente durante diez minutos para favorecer la formación de espuma; luego se observó en los siguientes diez, veinte y treinta minutos (Rojas, et al., 2011). **Interpretación:** Desaparición de la espuma a los treinta minutos, la reacción es negativa y si se mantiene, es positiva.

6. Determinación de la actividad antihiper glucemiante

a. Preparación del extracto acuoso

La obtención del extracto se realizó mediante decocción. Se procedió de la siguiente manera: se les quitaron las espinas a los cladodios, se lavaron, se pesaron 60.0g del cladodio y se hirvieron lentamente en 300.0 ml de agua destilada durante diez minutos. Seguidamente se procedió a filtrar y administrar por vía orogástrica (Alarcón, Román, Pérez, Aguilar, Contreras & Flores, 1998).

b. Preparación del licuado

La obtención del licuado se realizó de la siguiente manera, se procedió a quitar las espinas a los cladodios, se lavaron, se pesaron 60.0 g de cladodio y se licuaron con 300.0 ml de agua destilada según el trabajo de Alarcón, et al., (1998).

c. Cálculo de ratas a usar en ensayo experimental

Uso de ratas	número de ratas
Grupo 1 control positivo (acarbosa)	5 ratas
Grupo 2 extracto acuoso <i>O. streptacantha</i>	5 ratas
Grupo 3 licuado <i>O. streptacantha</i>	5 ratas
Grupo 4 extracto acuoso de <i>O. ficus-indica</i>	5 ratas
Grupo 5 licuado <i>O. ficus-indica</i>	5 ratas
Total	25 ratas

n = 5 ratas

Totalidad de número de ratas: 25 ratas.

d. Determinación de valores normales de glucosa en población de ratas

Se seleccionó un grupo de cinco ratas para esta fase. Las ratas del Bioterio “Dra. Amarilis Saravia Gómez” se encontraban aclimatadas a temperatura ambiente con ciclos de 12 horas de luz/noche, con alimentación estándar y agua de forma *ad libitum*. A las ratas seleccionadas se les midió la glucosa basal en sangre con 12 horas previas de ayuno. Las muestras sanguíneas fueron tomadas de las venas laterales de la cola. Los niveles de glucosa sanguínea se determinaron utilizando un glucómetro. Con esto se obtuvieron los valores normales de glucosa en ayunas para la población de ratas (Gilia, et al., 2007).

e. Determinación de elevación de glucosa sanguínea

El grupo de ratas fue el mismo seleccionado para la primera fase. Las ratas tuvieron un ayuno previo de 12 horas, se les administró la solución de maltosa al 50% por vía orogástrica en dosis de 3.0 g/kg de peso corporal (Andrade & Wiedenfeld, 2011). Los niveles de glucosa sanguínea se determinaron utilizando un glucómetro. Las muestras sanguíneas fueron tomadas de las venas laterales de la cola antes de la administración de maltosa (tiempo 0) y a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos respectivamente luego de la administración de maltosa (Gilia, et al., 2007). Con los resultados de las mediciones de glucosa, se pudo evidenciar si la dosis empleada fue efectiva para la inducción a hiperglucemia transitoria en el grupo de ratas.

f. Determinación de la actividad antihiperglucemiante

Se conformaron cinco grupos experimentales con cinco ratas cada uno. A todos los grupos se les administró una solución de maltosa 50% en dosis de 3.0g/Kg de peso corporal para evaluar hiperglucemia (Andrade & Wiedenfeld, 2011).

Grupo 1: control positivo, ratas con hiperglucemia transitoria, tratadas con agente antihiperglucemiante acarbosa (Andrade & Wiedenfeld, 2011). Cada rata fue administrada con 38 gramos de acarbosa en un mililitro de agua destilada. **Grupo 2:** ratas con hiperglucemia transitoria dosificadas con extracto acuoso de *O. streptacantha* en dosis de 4.0 ml/kg de peso corporal. **Grupo 3:** ratas con hiperglucemia transitoria dosificadas con licuado de *O. streptacantha* en dosis de 4.0 ml/kg de peso corporal. **Grupo 4:** ratas con hiperglucemia transitoria dosificadas con extracto acuoso de *O. ficus-indica* en dosis de 4.0 ml/kg de peso corporal. **Grupo 5:** ratas con hiperglucemia transitoria dosificadas con licuado de *O. ficus-indica* en dosis de 4.0 ml/kg de peso corporal (Alarcón, et al., 1981). Las muestras sanguíneas fueron tomadas de las venas laterales de la cola. Se realizó una medición de glucosa sanguínea en tiempo cero (Tiempo 0), seguidamente se administraron los extractos y licuados, posteriormente transcurridos 15 minutos se administró la solución de sobrecarga de maltosa. Luego se realizaron mediciones de glucosa sanguínea a los 15, 30, 45, 60, 90 y 120 minutos (Gilia, et al., 2007). Estas mediciones se repitieron durante cinco días no consecutivos.

7. Análisis estadístico

Para evaluar la normalidad de los datos obtenidos se utilizó una prueba de Shapiro–Wilk y para comparar los valores de glucosa sanguínea de cada grupo de ratas, se empleó la prueba de Análisis de Varianza (ANOVA) con medidas repetidas de una vía. Posterior al análisis de varianza, se confirmó la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos, por lo que se utilizó la técnica de contraste de Tukey para investigar qué medias eran distintas. Los análisis se realizaron en el paquete estadístico R[®] (Pimienta, Méndez, Ramírez, García y Domínguez, 2008).

VIII. RESULTADOS

A. Descripción microanatómica de *O. streptacantha*

Se observaron cortes transversales, cortes superficiales tangenciales en fresco, impresión de la epidermis y diafanizados de cladodios de *O. streptacantha*.

1. Tejido epidérmico

Corte transversal: Se observó una cutícula gruesa, de color blanquecina. Por debajo de ésta se observaron células epidérmicas dispuestas de una a dos capas de células rectangulares, con paredes gruesas, núcleo prominente y citoplasma. Se observaron estomas hundidos levemente en la cutícula, con la cavidad estomática extendida desde la epidermis hasta el colénquima en forma de cilindro y en la parte del clorénquima en forma globosa (figuras 1, S1 y S2; figura 2, S1).

Impresión de la epidermis: Se observaron estomas ciclocíticos de gran tamaño, compuestos por células oclusivas (guarda) en forma alargada o arriñonadas, adyacente a las células guarda se observaron células subsidiarias dispuestas en dos capas alrededor formando un círculo (figura 3, S1).

Corte superficial tangencial en fresco: Se observaron estomas ciclocíticos compuesto por el poro estomático y células oclusivas rodeadas de dos capas de células subsidiarias. Las células de la epidermis se observaron de forma poligonal con paredes anticlinales rectas y algunas con curvatura variable (figura 4, S2 y S3).

Diafanizado: Se observaron células de la epidermis de forma poligonal con paredes anticlinales rectas y algunas con curvatura variable, también se observaron en el interior de los poros estomáticos de 3 a 4 drusas (figura 6, S1 y S2; figura 7, S1).

2. Tejido fundamental

Corte transversal: Se observó colénquima laminar, formado de cuatro a cinco capas de células con forma oval-alargada, abundante citoplasma y de pared gruesa homogéneamente

engrosada alrededor de las células (figura 1, S1 y S2). Luego del clorénquima se observaron células de forma poligonal, conformando el parénquima de reserva. En el interior de éstas células se observaron granos de almidón y entre las células de la epidermis, colénquima y parénquima de reserva se encontraron alojados cristales en forma de drusas y estrella (figura 2, S2 y S3).

Corte superficial tangencial en fresco: Se observó colénquima de tipo laminar, abundante citoplasma y pared gruesa. También se observaron poros estomáticos, que inician desde la epidermis y pasan por las células del colénquima (figura 4, S1).

Corte transversal en fresco: Próximo al colénquima se localizó el clorénquima, constituido por capas variadas de células en empalizada con pared delgada y abundantes cloroplastos, en disposición a la pared de la célula (figuras 5, S1).

Diafanizado: Se observaron drusas y poros estomáticos de 3 a 4 drusas en su interior, las células del parénquima de reserva se observaron de forma poligonal (figura 7, S1 y S2).

B. Descripción microanatómica de *O. ficus-indica*

Se observaron cortes transversales, cortes superficiales tangenciales en fresco, impresión de la epidermis y diafanizados de cladodios de *O. ficus-indica*.

1. Tejido epidérmico

Corte transversal: Se observó una cutícula gruesa, de color blanquecina, por debajo de ésta se observaron las células epidérmicas dispuestas de una a dos capas de células rectangulares con paredes gruesas, núcleo prominente y citoplasma. Se observaron estomas hundidos levemente en la cutícula, con la cavidad estomática extendida desde la epidermis hasta el colénquima en forma cilíndrica y globosa para el clorénquima (figuras 1, F1 y F2; figura 2, F1 y F2).

Impresión de la epidermis: Se observaron estomas ciclocíticos de gran tamaño, compuestos por células oclusivas (guarda) en forma alargada o arriñonadas, adyacente a las células guarda se

observaron células subsidiarias dispuestas en dos capas alrededor formando un círculo (figura 3, F1).

Corte superficial tangencial en fresco: Se observaron células de la epidermis en forma poligonal con paredes anticlinales rectas y algunas con curvatura variable, también se observaron cristales en forma de drusas y en los poros estomáticos (figura 4, F1).

Diafanizado: Se observaron las células de la epidermis de forma poligonal con paredes anticlinales rectas y algunas con curvatura variable, también se observaron en el interior de los poros estomáticos de 3 a 4 drusas (figura 6, F1 y F2; figura 7, F1).

2. Tejido fundamental

Corte transversal: Se observó colénquima laminar, formado de cuatro a cinco capas de células con forma oval-alargada, abundante citoplasma y de pared gruesa homogéneamente engrosada alrededor de las células. Seguido del colénquima se observaron células dispuestas en empalizada conformando el clorénquima (figura 1, F1 y F2; figura 2, F2). Luego del clorénquima se observaron células de forma poligonal conformando el parénquima de reserva. Entre las células de la epidermis, colénquima y parénquima de reserva se encontraron alojados cristales en forma de drusas y cristales en forma de estrella (figura 2, F3; figura 4, F3).

Corte superficial tangencial en fresco: Se observó colénquima de tipo laminar, abundante citoplasma y pared gruesa. También se observaron poros estomáticos que inician desde la epidermis y pasan por las células del colénquima (figura 5, F1 y F2).

Corte transversal en fresco: Próximo al colénquima se localizó el clorénquima, constituido por capas variadas de células, en empalizada con pared delgada y abundantes cloroplastos en disposición a la pared de la célula (figuras 5, F1).

Diafanizado: Se observaron cristales en forma de drusas y poros estomáticos con 3 a 4 drusas en su interior (figura 6, F1 y F2; figura 7, F1), las células del parénquima de reserva se observaron de forma poligonal (figura 7, F2).

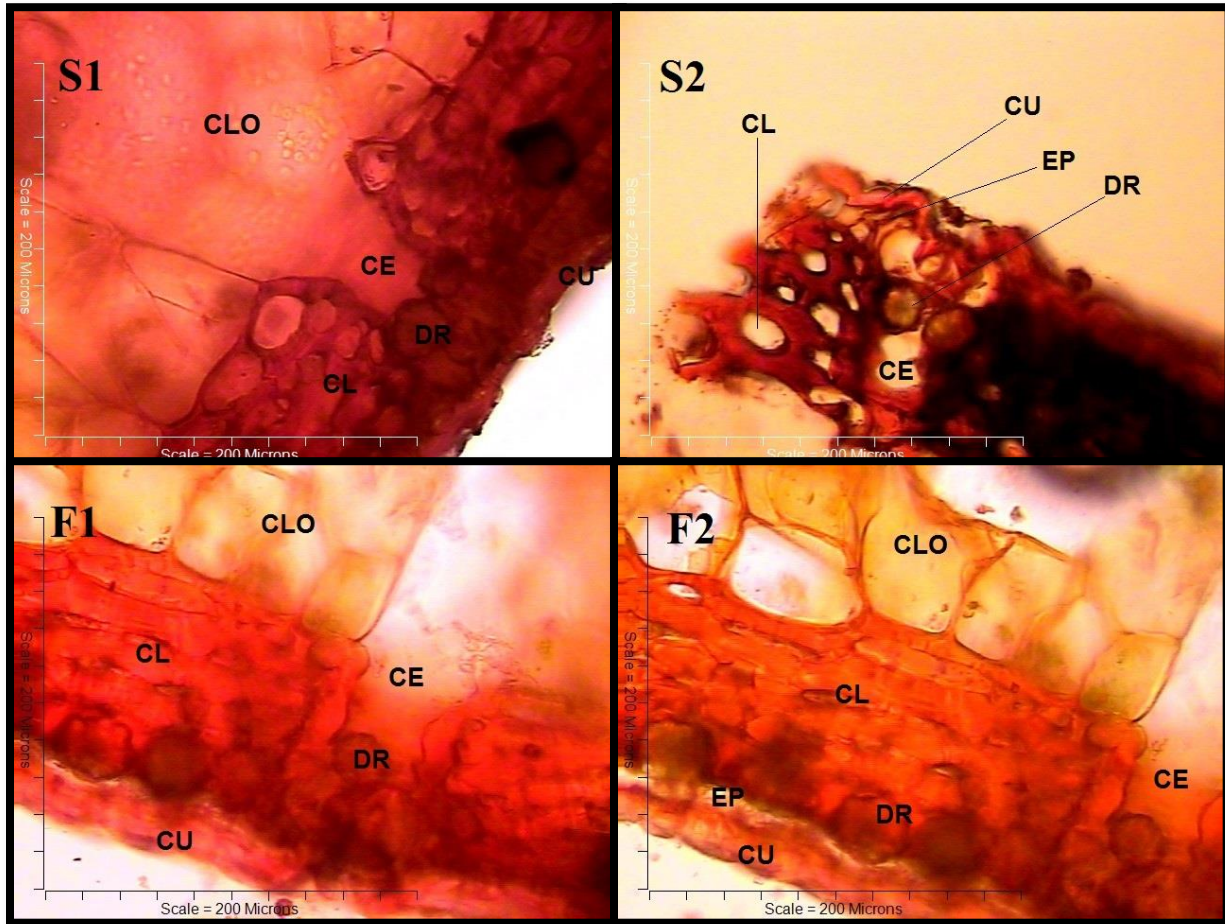


Figura 1. Corte transversal del cladodio de *O. streptacantha*, **S1** y **S2**. Cámara estomática (CE) (40x), clorénquima (CLO) (40x), colénquima (CL) (40x), drusas (DR) (40x), cutícula (CU) (40x). Corte transversal del cladodio de *O. ficus-indica* **F1** y **F2**. Cámara estomática (CE) (40x), clorénquima (CLO) (40x), colénquima (CL), drusas (DR), cutícula (CU). Todas las micrografías se encuentran teñidas con safranina.

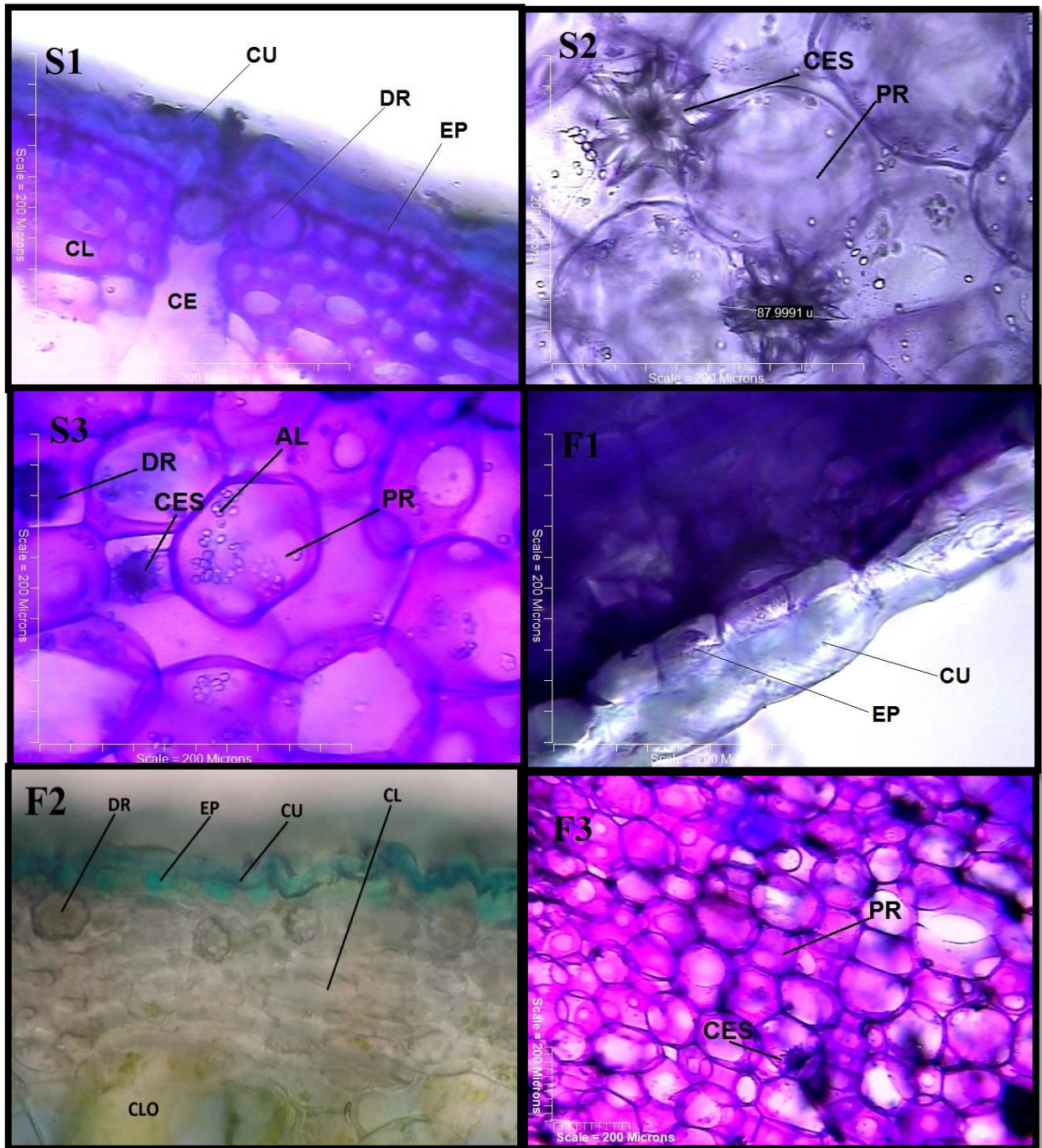


Figura 2. Corte transversal del cladodio de *O.streptacantha* **S1**. Cutícula (CU) (40x), Drusas (DR) (40x), células de la epidermis (EP) (40x), colénquima (CL) (40x), cavidad estomática (CE) (40x). **S2**. Cristales en forma de estrella (CES) (40x), parénquima de reserva (PR) (40x). **S3**. Drusas (DR) (40x), cristales en forma de estrella (CES) (40x), parénquima de reserva (PR) (40x). Cortes transversales del cladodio de *O.ficus-indica*. **F1**. Células de la epidermis (EP) (40x),

cutícula (CU) (40x). **F2.** Cutícula (CU) (40x), drusas (DR) (40x), células de la epidermis (EP) (40x), colénquima (CL) (40x). **F3** Cristales en forma de estrella (CES), parénquima de reserva (PR). Las anteriores micrografías se encuentran teñidas con azul de toluidina.

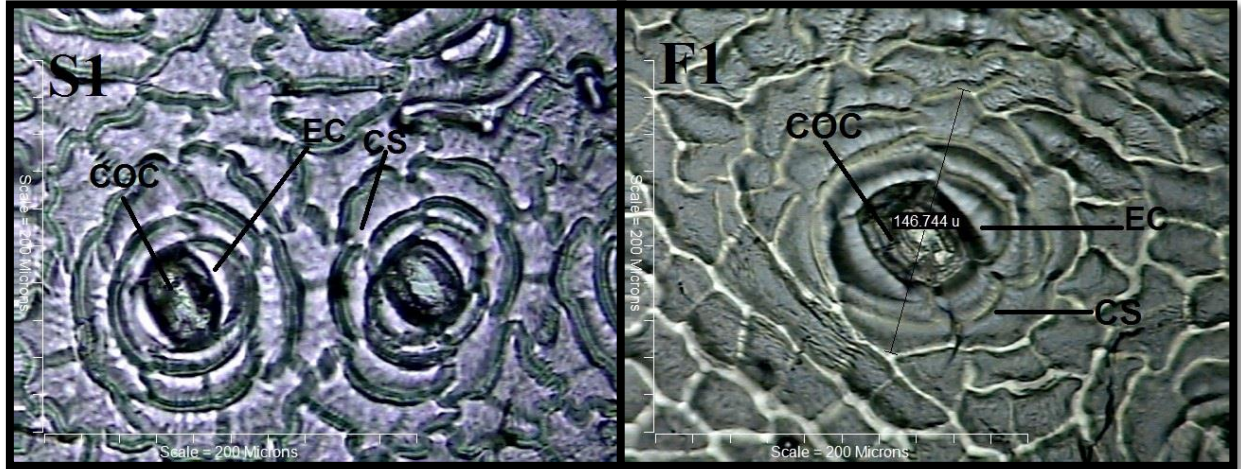


Figura 3. Impresión de la epidermis de cladodios de *O. streptacantha*. **S1.** Estomas ciclocíticos (EC) (40x), células oclusivas (COC) (40x), células subsidiarias (CS) (40x). Impresión de la epidermis de cladodio de *O.ficus-indica*. **S2.** Estomas ciclocíticos (EC) (40x), células oclusivas (COC) (40x), células subsidiarias (CS) (40x). Las anteriores micrografías corresponden a impresiones de la epidermis con la técnica de esmalte.

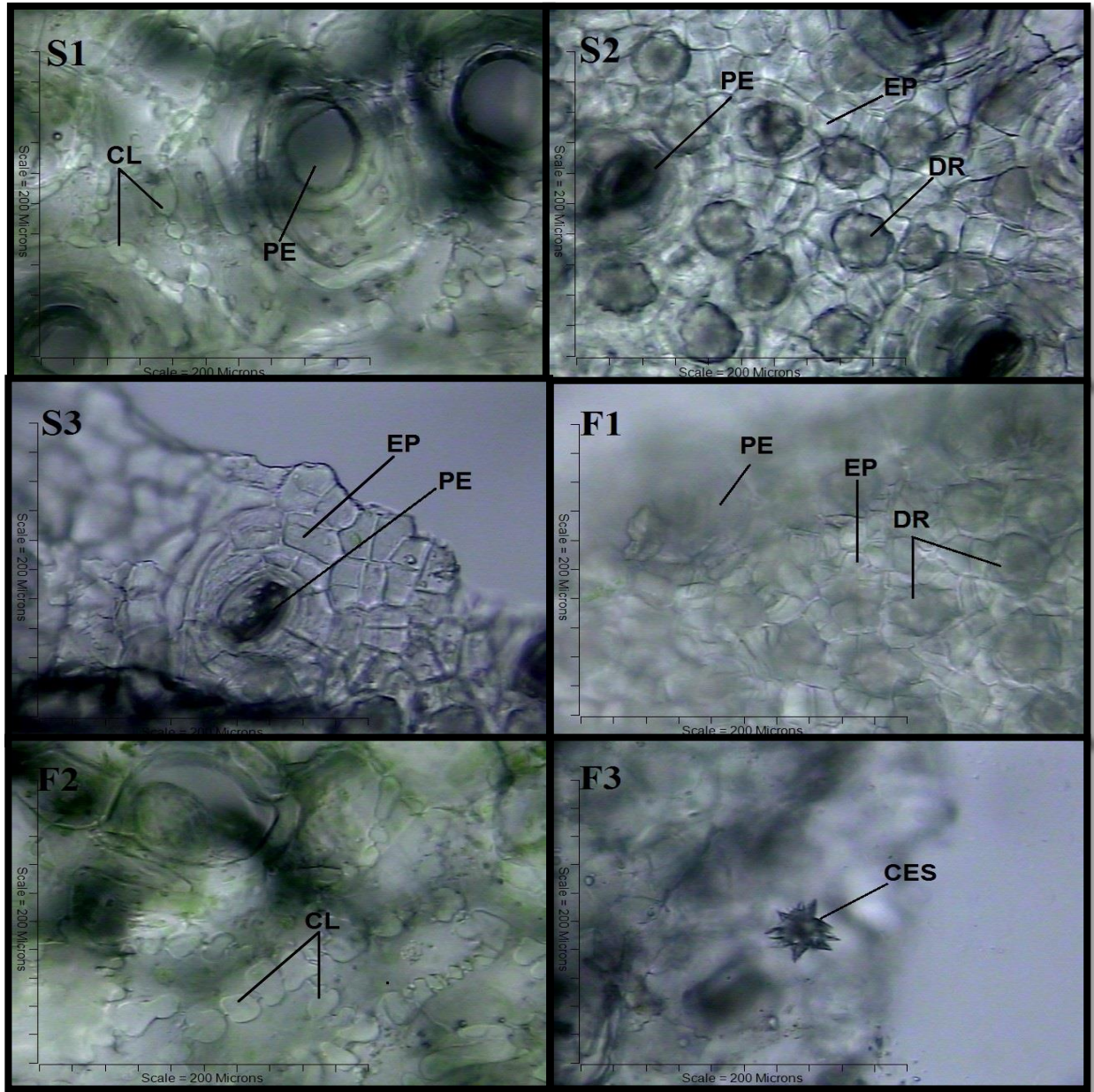


Figura 4. Corte superficial tangencial de *O. streptacantha* **S1.** Colénquima (CL) (40x), poro estomático (PE) (40x). **S2.** Poro estomático (PE) (40x), células de la epidermis (EP) (40x), drusas (DR) (40x). **S3.** Células de la epidermis (EP) (40x), poro estomático (PE) (40x). Corte longitudinales radiales de *O. ficus-indica*. **F1.** Poro estomático (PE) (40x), células de la epidermis (EP) (40x), drusas (DR) (40x). **F2.** Colénquima (CL) (40x). **F3.** Cristales en forma de estrella (CES) (40x). Las anteriores micrografías se observaron en fresco.

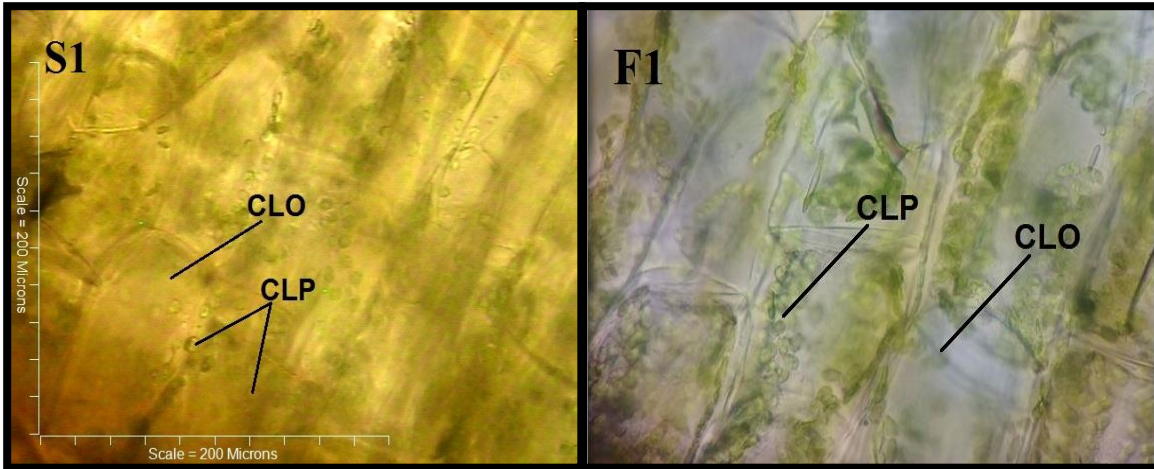


Figura 5. Corte transversal en fresco de cladodio de *O. streptacantha*. **S1.** Clorénquima (CLO) (40x), cloroplastos (CLP) (40x). Corte transversal de cladodio de *O. ficus-indica*. **F1.** Clorénquima (CLO) (40x), cloroplastos (CLP) (40x). Las anteriores micrografías se observaron en fresco.

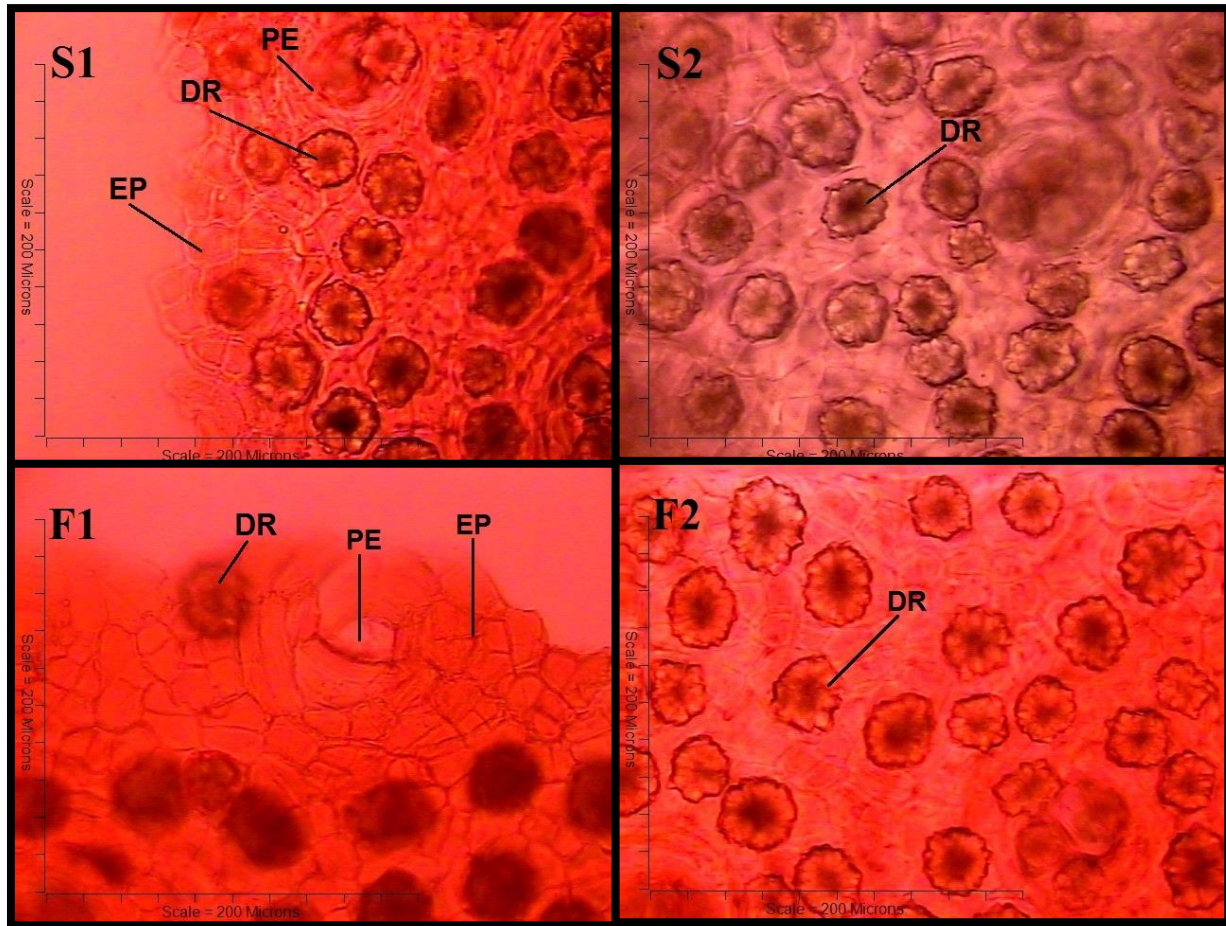


Figura 6. Diafanizado de cladodio de *O. streptacantha* tinción con safranina. **S1.** Células de la epidermis (EP) (40x), drusas (DR) (40x). Poro estomático (PE) (40x). **S2.** Drusas (DR) (40x). Diafanizado de cladodio de *O. ficus-indica* tinciones con safranina. **F1.** Células de la epidermis (EP) (40x), drusas (DR) (40x). Poro estomático (PE) (40x). **F2.** Drusas (DR) (40x).

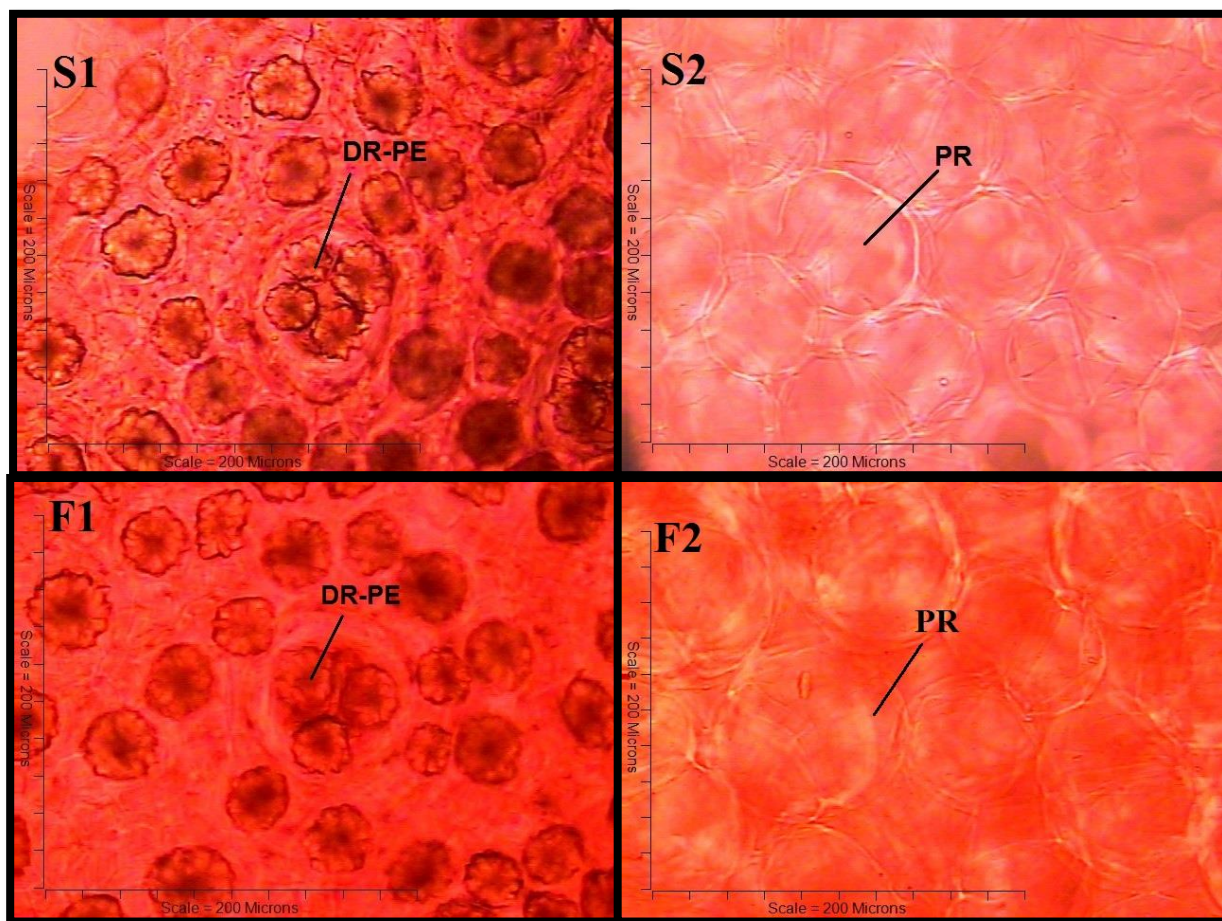


Figura 7. Diafanizado del cladodio de *O. streptacantha* tinción con safranina. **S1.** Drusas dentro de poro estomático (DR-PE) (40x). **S2.** Células del parénquima de reserva (PR) (40x). Diafanizado del cladodio de *O. ficus-indica* tinción con safranina. **F1.** Drusas dentro del poro estomático (DR-EP) (40x). **F2.** Células del parénquima de reserva (PR) (40x).

Las determinaciones cuantitativas de estomas por milímetro cuadrado, así como el rango, valores obtenidos de la impresión de epidermis de las distintas especies de cladodios se muestran en la tabla 1. Las repeticiones de las impresiones se realizaron al azar. Los rangos obtenidos muestran un valor mínimo a un valor máximo. Además, la especie *O. streptacantha* muestra un rango más amplio, así como un mayor valor promedio.

Tabla 1. Densidad estomática, estomas por milímetro cuadrado de epidermis de las especies de cladodios

Especie	Densidad estomática (estomas/mm ²)	
	Rango*	Valor promedio
<i>O. streptacantha</i>	15.05 – 26.34	21
<i>O. ficus-indica</i>	16.55 – 21.07	19

* Rango mínimo y máximo obtenido de la realización de 12 repeticiones en la epidermis de las especies de cladodios, mm²: milímetro cuadrado

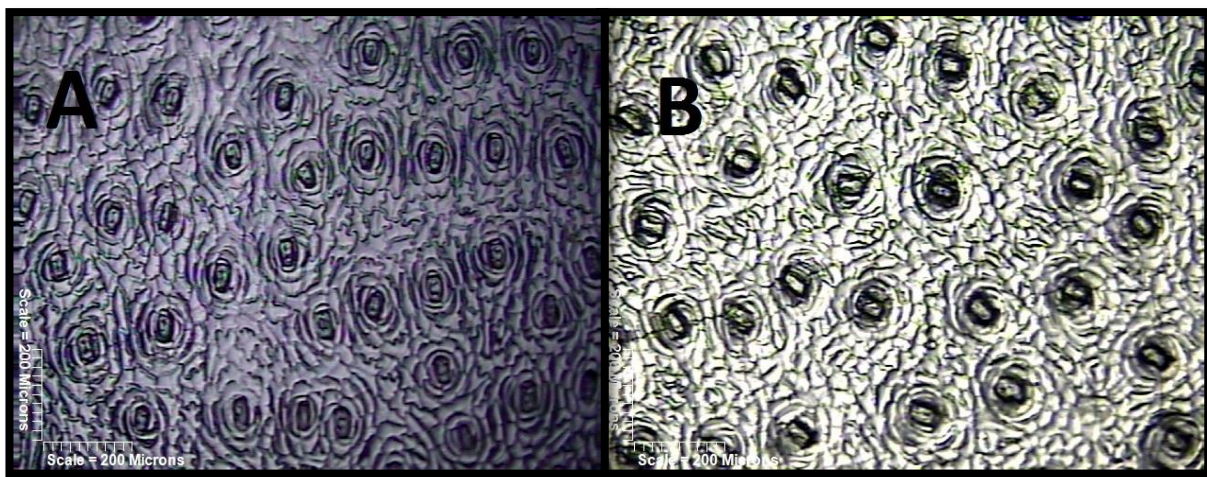


Figura 8. A. Micrografía de la impresión de la epidermis de *O.streptacantha* (10x). B. Micrografía de la impresión de la epidermis de *O. ficus-indica* (10x). Las impresiones se obtuvieron a través de la colocación de esmalte, se dejó secar durante 15 minutos, luego se colocó sobre el esmalte seco un cuadrado de masking-tape, se retiró la película formada con un tirón firme y se observó al microscopio en aumento de 10x.

C. Determinación del contenido fitoquímico

Los resultados de las prueba de identificación de taninos, polifenoles, alcaloides, flavonoides y saponinas en las dos especies de *Opuntia* estudiadas se muestran en la tabla 2. Asimismo, ambas especies de cactus presentaron reacciones similares en las pruebas fitoquímicas.

Tabla 2. Determinación cualitativa de metabolitos secundarios

Metabolitos secundarios	Especie de cladodio*		Resultado positivo
	<i>O. streptacantha</i>	<i>O. ficus-indica</i>	
Taninos	P	P	Coloración azul-verdoso Reactivo sulfato férrico
Polifenoles tanínicos	P	P	Coloración negro-azulado o verde-azulado con precipitado Test gelatina-sal
Alcaloides	P	P	Coloración rojo ladrillo o amarillo naranja Reactivo Dragendorf
Flavonoides	P	P	Coloración roja Test de Shinoda
Saponinas esteroidales	A	A	Coloración azul-verdoso Test de Liebermann-Burchard
Saponinas triterpenóides	P	P	Formación de espuma, que permanece durante 30 minutos Test de espuma

* A: Ausencia; P: Presencia

D. Determinación de la actividad antihiper glucemiante

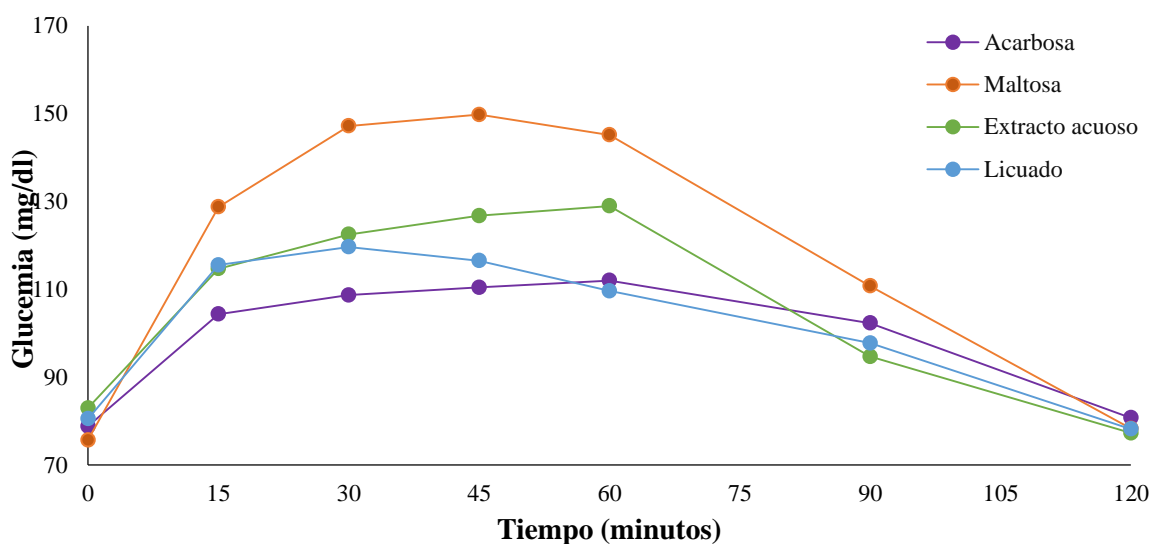
El promedio de datos obtenidos de la medición de glucemia se muestran en la tabla 3 y 4, los cuales fueron tomados a partir de un tiempo 0 hasta los 120 minutos. En la gráfica 1 se observan dos curvas que corresponden al modelo de hiperglucemia transitoria (maltosa) y al control positivo (acarbose) así como cuatro curvas que corresponden a la administración de extracto acuoso y licuado de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* (gráfica 1 y 2).

En la determinación de la actividad antihiper glucemiante, la prueba de contrastes de Tukey mostró similitud entre ambas especies de *Opuntia*. Sin embargo, al comparar la efectividad de ambas formas de preparación respecto al fármaco control (acarbose), el extracto acuoso de ambas especies mostró diferencia entre los 15 a los 45 minutos, mientras que ambos licuados mostraron diferencia únicamente entre los 15 a 30 minutos. Cabe resaltar que la curva de glucemia disminuye significativamente al administrar el extracto acuoso o licuado de cada una de las especies (tabla 3 y 4; gráfica 1 y 2).

Tabla 3. Efecto de la administración oral del licuado y extracto acuoso de *O. streptacantha* en ratas normoglucémicas.

Tiempo (min)	Glucemia (mg/dl)			
	Maltosa ^a	Acarbosa ^b	Licuado ^c	Extracto acuoso ^d
0	75.7 ± 5.6	78.8 ± 4.8	80.6 ± 4.8	81.3 ± 4.6
15	128.8 ± 9.7*	104.4 ± 2.6*	115.6 ± 4.3 ^{ab}	115.7 ± 5.6 ^{ab}
30	147.2 ± 6.5*	108.7 ± 6.5*	119.7 ± 5.4*	129.4 ± 6.2*
45	149.8 ± 8.6*	110.5 ± 6.3*	116.6 ± 6.4 ^{ab}	126.3 ± 9.2 ^{ab}
60	145.2 ± 4.4*	112.0 ± 3.5 ^a	109.7 ± 6.1 ^{ad}	116.7 ± 8.93 ^{ac}
90	110.8 ± 8.5*	102.3 ± 7.3 ^a	97.8 ± 4.5 ^a	92.0 ± 11.0 ^a
120	78.3 ± 4.3	80.8 ± 4.7	78.2 ± 2.8	77.3 ± 4.6

Las medias indicadas con los superíndices ^{a,b,c,d} difieren con los grupos indicados con los mismos superíndices, las diferencias se presentan en relación a las filas. Las medias indicadas por el superíndice * difieren con todos los demás grupos en relación a las filas. Según la prueba de Tukey, p=0.05

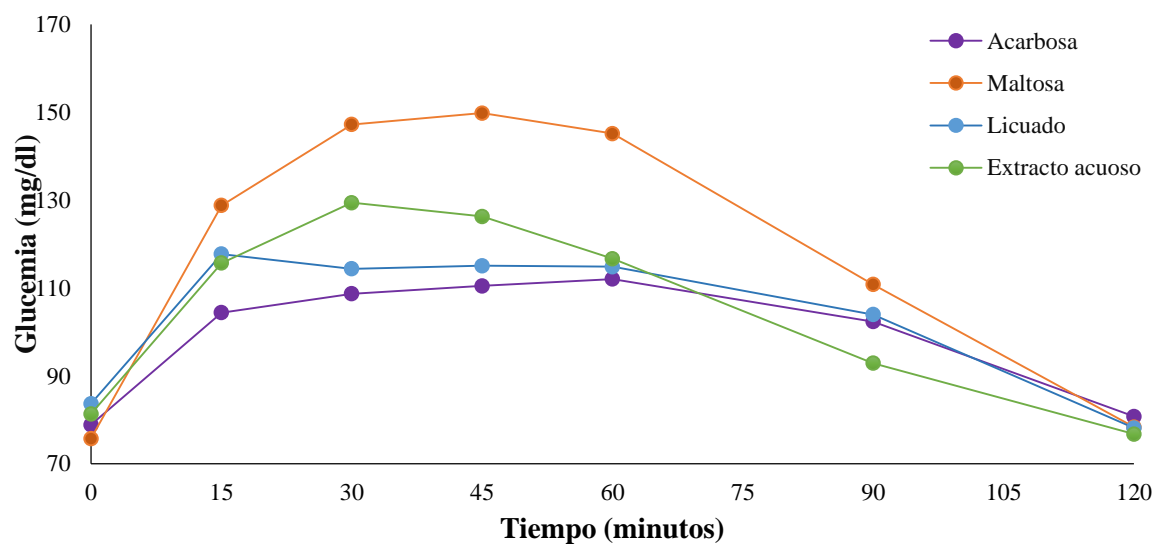


Gráfica 1. Curvas de glucemia luego de la administración de una sobrecarga de maltosa al 50% en ayunas. La línea naranja describe el comportamiento sin administrar ningún tratamiento, la morada administración acarbosa, la verde el de administración del extracto acuoso y la celeste, la administración de licuado.

Tabla 4. Efecto de la administración oral del licuado y extracto acuoso de *O. ficus-indica* en ratas normoglucémicas.

Tiempo (min)	Glucemia (mg/dl)			
	Maltosa ^a	Acarbosa ^b	Licuado ^c	Extracto acuoso ^d
0	75.7 ± 5.6	78.8 ± 4.8	83.7 ± 3.3	83.0 ± 2.5
15	128.8 ± 9.7*	104.4 ± 2.6*	117.7 ± 9.1 ^{ab}	114.7 ± 9.6 ^{ab}
30	147.2 ± 6.5*	108.7 ± 6.5*	114.4 ± 9.1*	122.5 ± 8.5*
45	149.8 ± 8.6*	110.5 ± 6.3 ^{ad}	115.0 ± 8.3 ^{ad}	126.8 ± 7.1*
60	145.2 ± 4.4*	112.0 ± 3.5 ^a	114.9 ± 12.0 ^a	129.0 ± 11.9*
90	110.8 ± 8.5*	102.3 ± 7.3 ^a	104.0 ± 10.4 ^a	94.7 ± 7.4*
120	78.3 ± 4.3	80.8 ± 4.7	78.1 ± 3.4	77.3 ± 4.0

Las medias indicadas con los superíndices ^{a,b,c,d} difieren con los grupos indicados con los mismos superíndices, las diferencias se presentan en relación a las filas. Las medias indicadas por el superíndice * difieren con todos los demás grupos en relación a las filas. Según la prueba de Tukey, p=0.05



Gráfica 2. Curvas de glucemia luego de la administración de una sobrecarga de maltosa al 50% en ayunas. La línea naranja describe el comportamiento sin administrar ningún tratamiento, la morada administración acarbosa, la verde el de administración del extracto acuoso y la celeste, la administración de licuado.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo de esta investigación fue la descripción micromorfológica, la determinación preliminar del contenido fitoquímico y la evaluación de la actividad antihiper glucemiante de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*. Es importante resaltar que en Guatemala no existen estudios sobre las propiedades antidiabéticas de estas especies aunque son utilizadas como un medicamento natural para este fin.

Respecto al análisis de las características micromorfológicas de los cladodios de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*, se determinó en cortes transversales, que ambas especies poseen epidermis con cutícula gruesa blanquecina y estomas ciclocíticos, colénquima laminar, clorénquima y parénquima de reserva con granos de almidón, así como abundantes cristales en forma de drusas ubicados desde la subepidermis hasta el parénquima de reserva. El tejido epidérmico es similar a la reportada para *Opuntia* por Ramírez (1996) y para *O. ficus-indica* por Quezada, et al. (2013). Según Silva, Acevedo y Silva (2001) este tipo de cutícula refleja gran parte de la radiación directa del sol y le permite mantener a la planta una temperatura más baja con respecto a su medio y de esta manera almacenar agua en los tejidos, es por eso que estas plantas en especial pueden sobrevivir en ambientes adversos.

En ambas especies se observaron estomas de gran tamaño, hundidos en la cutícula, y levemente en depresión respecto a la epidermis. Según Evert (2008), los estomas son las estructuras encargadas del intercambio gaseoso principalmente de CO₂ del exterior al interior de la planta y de regular la transpiración. Las células subsidiarias se observaron de mayor tamaño dispuestas en círculo alrededor de las células oclusivas, éstas juegan un papel muy importante en la apertura y cierre de los estomas (Evert, 2008).

Según Herrera (2015), la densidad estomática (DE) es el número de estomas por unidad de área en milímetros cuadrados, la cual señala en gran medida la adaptación a su medio ambiente. En este estudio se encontró que la disposición de los estomas en *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* fue dispersa.

La DE es un carácter que participa en la conservación de agua para la planta; los valores para de DE para el género *Opuntia* en general son rangos muy amplios - 20.0 a 80.0 estomas/mm² - (García, 2013). En este estudio se encontraron 21 estomas/mm² y 19 estomas/mm² para *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* respectivamente. Según el estudio de Ramírez (1996) la comparación de DE entre morfoespecies de *Opuntia* se vió afectada por la aridez de la localidad en la que fueron recolectadas, y de acuerdo con García (2013) y Herrera (2015) la DE se ve afectada en gran medida por las condiciones ambientales así como por la etapa de crecimiento de la planta, posición de la hoja, cantidad de agua del suelo, luz, dióxido de carbono y oxígeno, lo que ocasiona variaciones entre organismos incluso de la misma especie.

Según Silva, et al., (2001) el mayor o menor número de estomas por unidad de superficie influye directamente en la resistencia al flujo gaseoso de dióxido de carbono y agua. En el presente estudio se encontraron estomas grandes. Según Loera (1990), éstos aumentan de tamaño conforme se disminuye el número de estomas y viceversa, de acuerdo a la necesidad de resistencia a la transpiración. La DE baja forma parte de la estrategia de estas plantas para generar un balance positivo en la economía hídrica, lo que probablemente explique la alta eficiencia en el uso de agua y elevada producción de biomasa aún en condiciones de déficit hídrico.

Respecto al colénquima, debajo de la epidermis, cumple funciones de sostén, elasticidad y refuerzo para dar consistencia a los órganos vegetales (Vargas, 2011). Se observó principalmente un colénquima laminar constituido de cuatro a cinco capas de células, oval-alargadas con extremos redondeados y paredes engrosadas en los lados tangenciales (Vargas, 2011). Arambarri, Novoa, Hernández, Colares y Perrotta (2013) también reportan colénquima laminar para *O. ficus-indica*.

El clorénquima se localizó adyacente al colénquima, constituido por varias capas de células en empalizada, de forma rectangulares con pared delgada y cloroplastos abundantes dispuestos en la periferia de las paredes celulares. Las células más cercanas al colénquima fueron de menor tamaño, con contornos ondulados y forma cuadrada, en comparación con las más lejanas las cuales fueron de forma rectangular (Quezada, et al., 2013).

Luego del clorénquima se observó el parénquima de reserva en ambas especies, compuesto por grandes células rectangulares y de pared delgada (Quezada, et al., 2013). En este estrato celular se identificó la presencia de cristales en forma de drusas y de estrella así como granos de almidón. Según Megías, Molist y Pombal (2017), las células del parénquima de reserva sintetizan y almacenan diversas sustancias como granos de almidón y cristales proteicos. En *O. ficus-indica*, bajo condiciones de sequía, la presión osmótica del parénquima es más bajo que el clorénquima por la polimerización de azúcares, lo que lleva a la formación de granos de almidón y favoreciendo el almacenamiento de agua en el parénquima; además el parénquima de reserva presenta en sus espacios intercelulares una mayor cantidad de mucílago que el clorénquima (García, 2013).

Las drusas son cristales cortos, laxamente agregados en grupos más o menos esféricos con pocos o muchos componentes, muchas veces embebidos en mucílago (Sandoval, 2005). En los cortes transversales de ambas especies se observó una gran cantidad de drusas distribuidas linealmente entre la epidermis y el colénquima. Cabe mencionar que dentro de los estomas, principalmente en el poro estomático y las células oclusivas (guarda), se observan drusas agrupadas obstruyendo el canal estomático (de 3 a 4 drusas); también se observaron drusas distribuidas en el tejido de las células empalizadas (clorénquima) y parénquima de reserva. Además se observaron cristales en forma de estrella, - conocidos como cristales en roseta - que suelen ser muy similares a las drusas; sin embargo, sus terminaciones son puntas externamente dirigidas. Estos cristales se encontraron distribuidos en el clorénquima y en el parénquima de reserva como reporta Sandoval (2005).

O. ficus-indica, en su macroanatomía de los cladodios, no presenta espinas grandes y extensas como las de *O. streptacantha* (Anexo 1, 2 y 3); sin embargo, en la microanatomía de los cladodios sus tejidos presentan similitud. Según Kiesling (1998), *O. ficus-indica* presenta una identidad casi absoluta entre sus genes y otras especies del género *Opuntia* con espinas más extensas, lo mismo sucede con sus isoenzimas. Kiesling (1998) sugiere que la consecuencia biológica fenotípica se refiere a diferentes entidades consideradas y denominadas bajo varios nombres específicos correspondientes a una sola especie biológica. La consecuencia

nomenclatural es que las denominadas “especies” que comprenden plantas inermes (o de muy pequeñas espinas) y espinosas (espinas grandes y extensas), deben considerarse solo como formas fenotípicas; desde un punto de vista biológico, a los ejemplares con espinas grandes puede corresponderles la categoría de variedad.

En cuanto a los metabolitos secundarios, en este estudio se determinaron por tamizaje fitoquímico taninos, alcaloides, flavonoides y saponinas mediante pruebas cualitativas en tubo a partir del material vegetal triturado (cladodios de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica*). Por definición los metabolitos secundarios son compuestos químicos sintetizados por las plantas, llevan a cabo funciones, aunque no esenciales en el metabolismo primario, sin embargo a diferencia de los metabolitos primarios, éstos tienen una distribución limitada en el reino vegetal y cada tipo de compuesto está estrechamente relacionado con una o varias funciones específicas en la planta. Desde un punto ultraestructural los metabolitos secundarios se encuentran principalmente en las vacuolas, periferia adyacente interna o bien en orgánulos citoplasmáticos (García, 2004). Cabe resaltar que las pruebas realizadas fueron cualitativas y sólo indican estrictamente la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios.

En ambas especies de *Opuntia* la reacción para taninos fue positiva. Cabe mencionar que se utilizó un extracto acuoso debido a que los taninos son más polares al agua, lo que permitió fácilmente evidenciarlos. La literatura reporta pequeñas cantidades de taninos para *O. ficus-indica* (Santos, Gutiérrez & Serna, 2011). A los taninos se les atribuye diversas actividades biológicas tales como: antibacterial, molusquicida, antihelmíntico, antihepatotóxica, antiviral, antitumoral, citotóxica, inhibidora enzimática, entre otras (Marcano y Hasegawa, 2002).

El test de gelatina-sal confirmó presencia de polifenoles de tipo tanínicos para ambas especies de *Opuntia*. García (2013) halló un contenido considerable de polifenoles en *O. ficus-indica* y sugiere incremento de polifenoles en plantas de vida silvestre en comparación con las cultivadas. Santos, et al., (2011) analizaron 24 polifenoles en el género *Opuntia*, incluidas las especies de este estudio, y concluyeron que la composición y su contenido total es muy fluctuante, y que estas variaciones de perfil pueden ocurrir incluso dentro de una misma especie y son ocasionadas por factores como la genética, el estrés y las condiciones ambientales.

El ensayo de shinoda o de cianidina indicó presencia de flavonoides para ambas especies. El resultado fue congruente con lo reportado por Santos, et al., (2011) para *O. ficus-indica* quienes reportan la presencia de flavonoides en la pulpa, el gel y la cáscara del cladodio. Así mismo, se han aislado variedades de flavonoides en varias especies de *Opuntia* con una capacidad antioxidante bien conocida, los cuales inhiben eficazmente los radicales libres en ensayos *in vitro* (Santos, et al., 2011).

Tanto para *O. streptacantha* como *O. ficus-indica* se observó presencia de alcaloides. En la naturaleza los alcaloides constituyen un veneno vegetal tóxico. Según lo descrito por Santos, et al., (2011) *O. ficus-indica* tiene una mayor cantidad de alcaloides en la pulpa del cladodio, menor cantidad en la cáscara y ausencia de alcaloides en el gel propio del cladodio. Se han reportado diferentes tipos de alcaloides en los cladodios de *Opuntia* (Carrasco, 2012) y según Murillo, Moreno y Gutiérrez (2004) los alcaloides pueden ejercer efecto antidiabético con acción sinérgica de otros metabolitos secundarios presentes en la planta.

Las saponinas poseen propiedades tensoactivas por lo que producen espuma y en los organismos vegetales presentan propiedades insecticidas. Se conocen dos tipos de saponinas, las esteroidales y las triterpenoides (Ferraro, Martino, Bandoni y Nadinic, 2015). La reacción para saponinas esteroidales fue negativa para ambas especies, mientras que la reacción para saponinas triterpenoides se observó positiva. Las saponinas de tipo esteroidales generalmente se localizan en plantas monocotiledóneas y las de tipo tetracíclicas en plantas dicotiledóneas como *Opuntia* (Ferraro, et al., 2015). Según Montiel (1991), la familia *Cactaceae* posee saponinas triterpenoides, y los resultados obtenidos coinciden con lo reportado por Santos, et al., (2011) quienes reportaron saponinas en pequeñas cantidades en cladodios de *O. ficus-indica*. Según Carrasco (2012) la presencia de saponinas es indispensable para considerar los cladodios como antidiabético natural.

Por otra parte, *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* son conocidas por su uso auxiliar en el tratamiento de la DM (Basurto, et al., 2006). Existen muchos estudios que reportan indistintamente los términos de hipoglucemia y antihiper glucemia; sin embargo algunos estudios

sugieren que éstas presentan principalmente un efecto “antihiper glucemiante” en una definición convencional. El término se refiere al impedimento del aumento exacerbado de los niveles de glucemia luego de una ingesta de hidratos de carbono (Andrade y Wiedenfeld, 2011; Butterweek, et al., 2011).

O. streptacantha es la especie más estudiada sobre efectos antidiabéticos (Basurto, et al., 2006) y se ha reportado su efecto antihiper glucémico para tratar la DM2 (Santos, et al., 2011). Los resultados obtenidos en el presente estudio luego de la administración del extracto acuoso de *O. streptacantha*, confirmaron la efectividad como agente antihiper glucemiante al impedir el aumento exacerbado de los niveles de glucosa en la sangre después de la administración de maltosa (tabla 3, gráfica 1). Por otra parte, los resultados obtenidos de la administración del licuado confirmaron que este tipo de preparación de la planta tiene una mayor efectividad antihiper glucemiante, lo que sugiere que el licuado *O. streptacantha* tendría una mayor potencia en dicho efecto, si se ingiere crudo y previamente a los alimentos (Alarcón, et al., 1998).

Según Basurto, et al., (2006), en un sentido más estricto, el efecto antihiper glucémico presentado por *O. streptacantha* se enfocaría en la prevención de las complicaciones de la DM. Además de mencionar que la administración aguda de *O. streptacantha* podría tener utilidad en pacientes con niveles de glucosa en ayunas, igual o mayores a 126.0 mg/dl, sin presentar todos los criterios de diagnóstico de DM2, como en las personas prediabéticas.

Los resultados de la administración del extracto acuoso de *O. ficus-indica* mostraron niveles de glucemia menores en relación a la curva de maltosa (tabla 4 y gráfica 2). Este efecto antihiper glucemiante también fue encontrado por Butterweek, et al., (2011) quienes evaluaron el efecto antihiper glucemiante de extractos acuosos de *O. ficus-indica*. Los resultados obtenidos en este estudio apoyan la efectividad en la actividad antihiper glucemiante.

El licuado de cladodio de *O. ficus-indica* también mostró un efecto antihiper glucemiante. Este tipo de preparación fue evaluada en una serie de estudios en México, en donde se emplearon personas y ratas diabéticas, administrando preparaciones de tallos asados, licuados crudos y

calentados a 60°C, y se encontró que aún con estos tipos de preparaciones, *O. ficus-indica* ejerce efectos antidiabéticos en pacientes con DM2 (Fрати, et al., 1990).

Las dos preparaciones administradas de ambas especies, mostraron resultados similares a la acarbosa, sin embargo se encontró que el licuado presentó mayor efectividad antihiper glucemiante (tabla 3 y 4 y gráfica 1 y 2). Frати, Fernández, Riva, Ariza & Torres (1983) realizaron un estudio donde la administración de cladodios asados 20 minutos antes de la administración de glucosa oral impide la elevación de glucemia. No obstante, según Andrade y Wiedenfeld (2011), luego de administrar en ratas normoglucémicas licuados filtrados, concluyeron que el efecto antihiper glucemiante se mantiene aún después de que la fibra haya sido separada, lo que sugiere que este efecto es independiente al contenido de fibra y que está relacionado con el bloqueo de la producción de glucosa hepática especialmente en estados de ayuno. Ese mismo estudio apoya el consumo de *Opuntia* y sus diferentes preparaciones en licuados o extractos acuosos/infusión como medicina alternativa para el control de la diabetes.

Por otra parte Basurto, et al., (2006) proponen que los efectos observados con *Opuntia* se deben a su contenido de fibra soluble e insoluble, la cual es una mezcla de lignina, celulosa, mucílago, pectina y gomas, con capacidad de disminuir la absorción gastrointestinal de nutrientes como la glucosa. El contenido de fibra, aunado a la posible acción de los metabolitos secundarios como los alcaloides y saponinas triterpenoides, podrían ser los responsables de causar una reducción en los niveles de glucemia, pero no se ha establecido concretamente el posible mecanismo involucrado (Carrasco, 2012).

X. CONCLUSIONES

1. Los cladodios de *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* son similares en su anatomía microscópica en cuanto a epidermis, colénquima, clorénquima, parénquima de reserva y densidad estomática.
2. Los cladodios de ambas especies de *Opuntia* presentan taninos, alcaloides, flavonoides y saponinas, aunque por estimación cualitativa *O. ficus-indica* presentó mayor contenido de taninos y alcaloides.
3. Las dos especies de *Opuntia*, administradas en forma de licuado y extracto acuoso, mostraron efecto antihiper glucemiante en ratas inducidas a hiper glucemia transitoria.
4. *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* mostraron mayor actividad antihiper glucemiante al ser administradas en forma de licuado.
5. *O. streptacantha* y *O. ficus-indica* recolectadas en los departamentos de Huehuetenango y Chimaltenango respectivamente mostraron efectividad como plantas antidiabéticas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar cuantificación de los metabolitos secundarios por medio de otras metodologías como espectrofotometría de masas para comparar la concentración de cada uno de ellos en ambas especies de *Opuntia*.
2. Analizar la influencia de los factores ambientales como suelo, clima, etc. En el crecimiento y contenido de metabolitos en las dos especies usadas en esta investigación.
3. Determinar cuantitativamente otros parámetros que puedan ser de utilidad como el contenido en fibra.
4. Realizar otras investigaciones en donde se compare la administración de *Opuntia* a diferentes dosis y en diferentes formas de preparación.
5. Determinar si existen otras especies de *Opuntia* que se usen en Guatemala y el resto de Centro América con este fin.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcón, F., Román, R., Pérez, S., Aguilar, A., Contreras, C. & Flores, J. (1998). Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology*, 61(2), 101-110.
- Andrade, A. & Wiedenfeld, H. (2011). Anti-hyperglycemic effect of *Opuntia streptacantha* Lem. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 940-943.
- Arambarri, A., Novoa, M., Hernández, M., Colares, M. y Perrotta, V. (2013). Anatomía de dicotiledóneas: tallos de hierbas terrestres medicinales riplatenses. *Bonplandia* 22(2), 107-130.
- Basurto, D., Lorenzana, M. y Magos, G. (2006). Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*, 49(4), 157-162.
- Becerra, J. & Andrade, A. (2012). Effect of *Opuntia streptacantha* Lem. on alpha-glucosidase activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 139(2), 493-496.
- Butterweek, V., Smlin, L., Feistel, B., Pischel, I., Bauer, K. & Verspohl, E. (2011). Comparative evaluation of two different *Opuntia ficus-indica* extracts for blood sugar lowering effects in rats. *Phytotherapy Research*, 25, 370-375.
- Cáceres, A. y Girón, L. (1984). Sistema para la revalidación, investigación y comercialización de las plantas medicinales en Guatemala (Pp. 283-316). En E. Villatoro. *Etnomedicina en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Carrasco, N. (2012). Comprobación del efecto hipoglucemiante del extracto del fruto de la tuna (*Opuntia ficus-indica*) en ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida. (Tesis de pregrado). Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Ecuador.

- Castañeda, I., Gonzalez, J. & Frati, A. (1997). Hypoglycemic effect of an *Opuntia streptacantha* Lemaire dialysate. *Journal of the Professional Association for Cactus Development*, 2, 73-75.
- Durán, M. (1964). Historia de las ciencias médicas en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Elia, M. & Cummings, J. (2007). Physiological aspects of energy metabolism and gastrointestinal effects of carbohydrates. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61, 540-574.
- Espinosa, I., Pérez, A., Pérez, R. y Barber, M. (2012). Metabolismo celular de la glucosa y la amoniogénesis en el riñón. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 11(3), 339-347.
- Evert, R. (2008). *Esau anatomía vegetal*. (3^{ra} Ed.). Barcelona: Omega.
- Ferraro, G., Martino, V., Bandoni, A. y Nadinic, J. (2015). *Fitocosmética: fitoingredientes y otros productos naturales*. Ciudad de Buenos Aires: Eudeba.
- Fleitas, A. y Rodríguez, G. (2013). Efecto antihieprglucemiante en condiciones fisiológicas y seguridad de la Fe²⁺-Clinoptilolita (FZ) en modelos animales. (Tesis de doctorado), Universidad de La Habana, Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular, Cuba.
- Flórez, V. y Cruz, R. (2004). *Guías de laboratorio de fisiología vegetal*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Font, P. (2000). *Diccionario de Botánica*. Barcelona: Ediciones Península S.A.
- Frati, A., Jiménez, E. & Ariza, C. (1990). Hipolycemic effect of *Opuntia ficus-indica* in non insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Phytotherapy research*, 4(5), 195-197.

- Frati, A., Fernández, J., Riva, H., Ariza, R. & Torres, M. (1983). Effects of nopal (*Opuntia* sp.) on serum lipids, glycemia and body weight. *Arch Invest Med*, 14(2), 117-25.
- Gallego, C. y Ferreira, A. (2015). Plantas medicinales en el tratamiento de la diabetes mellitus Tipo 2: una revisión. *Farmacéuticos Comunitarios*, 7(4), 27-34.
- García, D. (2004). Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y forrajes*, 27(1), 1-12.
- García, H. (2013). Identificación de pectinas y mucílago de cuatro variedades de nopal (*Opuntia ficus-indica* L.) Miller y validación de su actividad hipoglucémica. (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Nuevo León, México.
- Gilia, V., Habbib, N., Gentab, S., Alonso, T. y Sánchez, S. (2007). Efecto hipoglucemiante de cladodios y frutos de *Opuntia aff. salagria* en ratas. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas medicinales y aromáticas*, 6(6), 348-349.
- González, A. y Ortiz, R. (2012). ¿Qué sabe usted acerca de... los antidiabéticos orales (ADO's)?. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1), 79-84.
- Guevara, J. (2009). Efectos biofuncionales del nopal y la tuna. *Horticultura internacional* 71, 1-9.
- Guzmán, D. y Chávez, J. (2007). Estudio bromatológico del cladodio del nopal (*Opuntia ficus-indica*) para el consumo humano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 73(1), 41-45.
- Herrera, V. (2015). Identificación y estudio de expresión de dos genes relacionados con la abertura y cierre de estomas en *Opuntia ficus-indica* y *Pereskia sacharosa*. (Tesis de doctorado). Universidad Autónoma de Aguascalientes, México.

Hunt, L., Arar, N. & Akana, L. (2000). Herbs, prayer, and insulin: use of medical and alternative treatments by a group of Mexican American diabetes patients. *The Journal of Family Practice*, 49, 216-223.

Instituto Nacional de Ecología. (1994). *Nopal verdura*. México D.F.: INECC.

Juárez, S., Castañeda, I., Montenegro, J. y Flores, L. (2012). Perfil clínico-epidemiológico de pacientes con prediabetes. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Medicina, Guatemala.

Kiesling, R. (1998). Origen, domesticación y distribución de *Opuntia ficus-indica*. *Journal of the Professional Ass. Cactus Development*, 3, 50-60.

Loera, Q. (1990). Estudio morfológico-anatómico de la epidermis en morfoespecies cultivadas y silvestres de nopal (*Opuntia* spp.) Tunero. (Tesis de pregrado). Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México.

Lodé, J. (2015). *Taxonomía de las Cactáceas*. España: Cactus-Aventuras.

López, J. Fuentes, J. y Rodríguez, A. (1997). *Industrialización de la tuna Cardona (Opuntia streptacantha)*. *Journal of the Professional Ass. Cactus Development*, 2, 169-175.

López, G. (2006). *Los árboles y arbustos de la Península Ibérica e Islas Baleares: especies silvestres y las principales cultivadas*. Madrid: Mundi-Prensa Libros.

López, R. y Rosas, U. (2002). *El herbario*. Estado de México: Universidad Autónoma de Chapingo.

Marcano, D. y Hasegawa, M. (2002). *Fitoquímica orgánica*. Caracas: Editorial Torino.

- Marlett, J. & Vollendorf, N. (1993). Dietary fiber content and composition of vegetables determined by two methods of analysis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 41, 1608-1612.
- Marlow, S. (2012). *The rise in prediabetes and the treat of insulin resistance and hyperglycemia*. New Jersey: SandSPublishing.
- Martínez, M. y Gómez, M. (2006). Descripción anatómica vegetativa de dos especies de Nymphoides (Meyanthaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 77(1), 81-87.
- Megías, M., Molist, P. y Pomba, M. (2017). *Atlas de histología animal y vegetal, tejidos vegetales*. Vigo: Universidad de Vigo.
- Montiel, M. (1991). *Introducción a la flora de Costa Rica*. Costa Rica: Universidad de Costa Rica.
- Moreira, J. (2014). Diabetes mellitus en Guatemala aspectos epidemiológicos. *Revista de Medicina Interna de Guatemala*, 24(1), 34-38.
- Murillo, E., Moreno, M. y Gutiérrez, N. (2004). Estudio del efecto hipoglicemiante de *Cordia alliodora* (Nogal cafetero) en ratones tratados con aloxano. *Revista de la facultad de Química Farmacéutica*, 11(1), 42 – 48.
- Noda, J., Pérez, J., Rodríguez, M. y Aphanh, R. (2008). Conocimientos sobre su enfermedad en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que acuden a hospitales generales. *Revista Médica Herediana*, 19(2), 46-47.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra: Organización Mundial de la Salud.

- Pimienta, B. (1993). El nopal (*Opuntia* spp.): una alternativa ecológica productiva para las zonas áridas y semiáridas. *Ciencia*, 44(3), 339-350.
- Pimienta, E., Méndez L., Ramírez, B., García, J. y Domínguez, R. (2008). Efecto de la ingestión del fruto del xoconostle (*Opuntia joconostle* Web.) sobre la glucosa y lípidos séricos. *Agrociencia*, 42, 645-653.
- Quezada, A., Sandoval, J., Alvarado, D. y Moreno, M. (2013). Histopatología y patogénesis de *Pseudocercospora opuntiae* en nopal. *Revista Mexicana de Micología*, 38, 9-18.
- Ramírez, J. (1996). Efecto del grado de aridez en la anatomía de cladodios de morfoespecies de nopal (*Opuntia* spp.). (Tesis de pregrado). División de Ciencias Biológicas y Ambientales, Universidad de Guadalajara. Jalisco, México.
- Rodríguez, M., Lira, C., Hernández, E., Cornejo, M., Palacios, A., Rojas, I., Reynoso, L. & Muñoz, C. (2007). Physicochemical characterization of nopal pads (*Opuntia ficus-indica*) and dry vacuum nopal powders as a function of the maturation. *Plant Foods for Human Nutrition*, 62, 107-112.
- Rojas, C., Cruz, N. y Román, A. (2011). Propuestas de normas de calidad farmacobotánica de cuatro especies de leguminosas con actividad antifúngica comprobada (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala.
- Ruiz, M., Escolar, A., Mayoral, E., Corral, F. y Fernández, I. (2006). La diabetes mellitus en España: mortalidad, prevalencia, incidencia, costes económicos y desigualdades. *Gaceta Sanitaria*, 20(1), 15-24.
- Sáenz, C. (2006). *Utilización agroindustrial del nopal*. Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO).

- Sandoval, E. (2005). *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. México, D. F.: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Santos, L., Guitiérrez, J. & Serna, S. (2011). Comparative analyses of total phenols, antioxidant activity and flavonol glycoside profile of cladode flours from different varieties of *Opuntia* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 7054-7061.
- Silva, H., Acevedo, E. y Silva, P. (2001). Anatomía del tejido fotosintético de diez taxa de *Opuntia* establecidos en el secano árido mediterráneo de Chile. *Revista Chilena de historia natural*, 74, 341-351.
- Tarragona, E., Soca, P., Cruz, L. y Santiesteban, y. (2012). Factores de riesgo y prevención de la cardiopatía isquémica. *Correo científico médico*, 16(2), 1-14.
- Trujillo, H. (2007). La curva de tolerancia a la glucosa oral. Un enfoque alternativo. *ContactoS*, 64, 21-24.
- Urzúa, Z. (2011). Efectos crónicos de la cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con diabetes mellitus experimental. (Tesis de maestría), Universidad de Colima, Facultad de Medicina, México.
- Vargas, G. (2011). *Botánica general. Desde los musgos hasta los árboles*. San José: EUNED.
- Velásquez, G. (2006). *Fundamentos de alimentación saludable*. Colombia: Universidad de Antioquía.
- Véliz, M. (2008). *Las Cactáceas de Guatemala*. Guatemala: Litografías Modernas.
- Yeh, G. (2003). Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes care*, 26, 1277-129.

XIII. ANEXO

Anexo 1. Opuntia streptacantha



Especie recolectada en el departamento de Huehuetenango

Anexo 2. Opuntia ficus-indica



Especie recolectada en el departamento de Chimaltenango

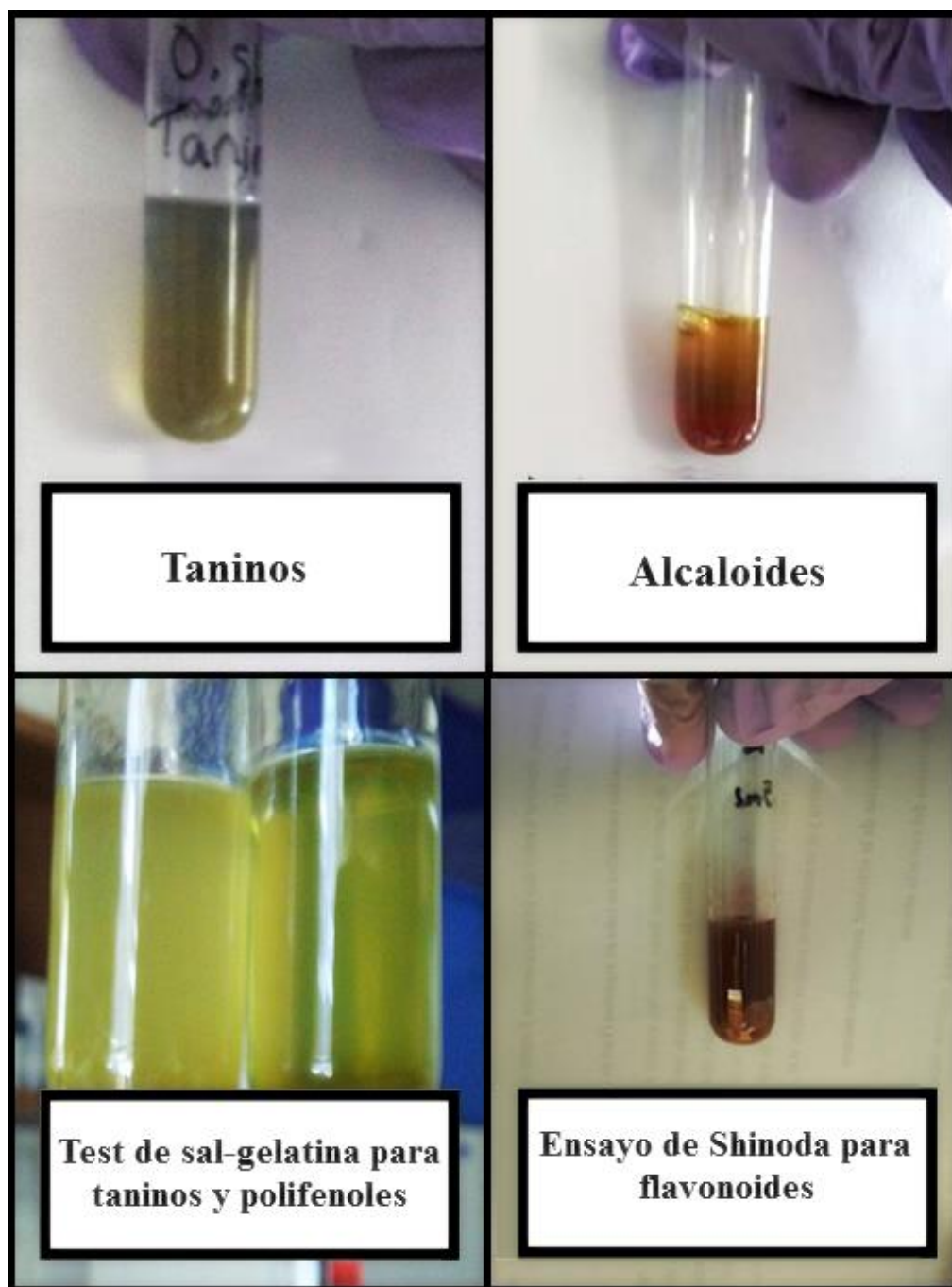
Anexo 3. Datos de colecta de *Opuntia*.

Especie colectada	Localidad	Altitud	Coordenadas	Descripción macroscópica
<i>Opuntia streptacantha</i>	Guatemala, Huehuetenango, Malacatancito, Cancabal	1,851 msnm*	15°14'52.14"N; 91°27'31.01"O	Planta arbustiva de porte de 1 m de altura, tallos planos y ovals color verde con frutos verdes de 2-3 cm. Los tallos presentaban espinas numerosas, gruesas y extendidas, así como gloquidios. Se encontró en ambiente semi seco asociado a bosque de encino. Coleccionistas: L. Velásquez; G. Méndez; M.Castellanos y L. Chopox.
<i>Opuntia ficus-indica</i>	Guatemala, Chimaltenango, Patzún, Los Robles	2,039 msnm*	14°42'14"N; 91°05'15.26"O	Planta arbustiva, de porte entre 2-3 m de altura, tallos planos, ovals y de color verde de los cuales emergían frutos de forma ovalada con diámetro de 5-7 cm. Los tallos presentaban espinas finas y abundantes gloquidios. Creciendo en un ambiente semi-árido. Coleccionistas: M.Castellanos y L. Chopox.

*msnm: metros sobre nivel del mar

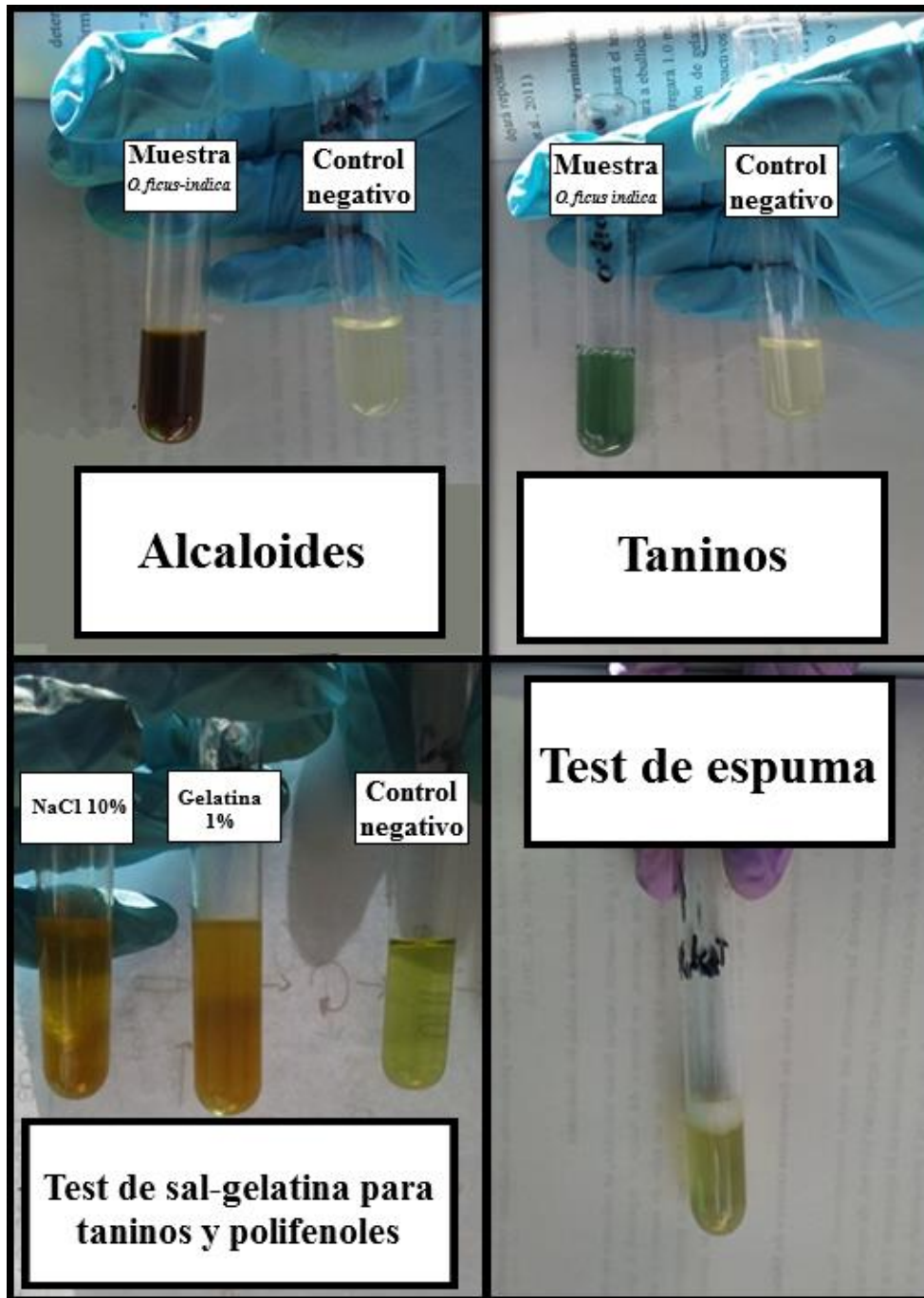
Se muestran las dos especies de *Opuntia* colectadas en dos departamentos de Guatemala, se muestran las diferentes altitudes donde fueron colectadas, así como las coordenadas para la localización exacta del lugar. La morfología macroscópica se describe según especie de la planta colectada en el lugar de las coordenadas descritas.

Anexo 4. Fitotamizaje *Opuntia streptacantha*



Pruebas fitoquímicas en tubo, para la determinación cualitativa de metabolitos secundarios.

Anexo 5. Fitotamizaje *Opuntia ficus-indica*



Pruebas fitoquímicas en tubo, para la determinación cualitativas de metabolitos secundarios.

Anexo 6. Certificación de elaboración de herbario



USAC
TRICENTENARIA
Universidad de San Carlos de Guatemala

FACULTAD DE CC. QQ. Y FARMACIA
ESCUELA DE BIOLOGIA
Edificio T-10, Segundo Nivel
Ciudad Universitaria, zona 12
Guatemala, Centroamérica



Escuela de Biología
Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacia
USAC

28 de septiembre del 2016

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este medio se hace constar que **ANDREA MARIAN CASTELLANOS MOREIRA**, carné 201119658 y **CARMEN LISETH CHOPOX TELEGUARIO**, carné 201119662, estudiantes de la carrera de Química Biológica de esta casa de estudios, solicitaron la determinación botánica y depositaron en este herbario, especímenes de nopales, los cuales fueron determinados y registrados en esta colección de la siguiente manera:

Opuntia cochinillifera (L.) Miller (no. registro BIGU 75276)
Opuntia ficus-indica (L.) Miller (no. registro BIGU 75277)
Opuntia streptacantha Lem. (no. registro BIGU 75398)

A solicitud de las interesadas se le extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente,

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

Ing. Agr. Mario Esteban Veliz Pérez
Coordinador-curador
Académico de Número



Andrea Marián Stephany Castellanos Moreira

Autora

Carmen Liseth Chopox Teleguario

Autora

MA. María Eugenia Paredes

Asesora

MA. Ana Margarita Paz de Ramírez

Asesora

Dr. Roberto Flores Arzú

Revisor

MSc. Alba Marina Valdés de García
Directora de Escuela de Química Biológica

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda

Decano