

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae), EN RATAS DIABÉTICAS

Effect of Aqueous Extract of *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae), in Diabetic Rats

Mairin Lemus¹, Yusmar Ramos¹, Ahieska Liscano¹ y Haydelba D' Armas²

¹Laboratorio de Biología Celular, Departamento de Biología, Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente, Cumaná 6101. Estado Sucre, Venezuela. mlemus88@gmail.com. ²Laboratorio de productos naturales. Departamento de Química, Escuela de Ciencias. Universidad de Oriente, Cumaná 6101. Estado Sucre, Venezuela.

RESUMEN

La diabetes es una enfermedad de alta incidencia a nivel mundial, caracterizada por un desorden metabólico complejo, por lo que actualmente se buscan alternativas para controlar los altos niveles de glicemia en estos pacientes, haciendo uso de plantas que poseen capacidad hipoglicemiante. En el presente trabajo se evaluó el efecto hipoglicemiante y antilipémico del extracto acuoso de *Phyllanthus niruri* en ratas diabéticas. Para ello se utilizaron ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* (cepa Sprague Dawley) de seis semanas de edad, divididas en cinco grupos: normal con agua (NA: control), normal con extracto (NE), diabetes con agua (DA), diabetes con extracto (DE) y diabetes con insulina (DI). Para inducir la condición diabética las ratas fueron tratadas con una inyección intraperitoneal de aloxano de 100 mg/kg de peso. El extracto de la planta fue suministrado a una dosis diaria de 200 mg/kg de peso corporal durante 45 días (d). El aloxano produjo una condición diabética durante los 45 d. Los componentes fitoquímicos de la planta en el extracto acuoso produjeron una disminución de los niveles de glicemia durante el periodo de tratamiento similar a las ratas tratadas con insulina. También se determinó una disminución de triglicéridos y colesterol en ratas diabéticas durante los primeros 30 d, en relación a las ratas diabéticas no tratadas. Estos resultados demuestran que los metabolitos de la fracción acuosa de *P. niruri* presentan efectos hipoglicemiantes y antilipémico en ratas diabéticas tratadas con aloxano lo cual pudiera ser una alternativa para el tratamiento de la diabetes.

Palabras clave: *Phyllanthus niruri*, hiperglicemia, diabetes, triglicéridos, taninos.

ABSTRACT

Diabetes is one of the high incidence diseases in the world, characterized for a complex metabolic disorder. Because of that, nowadays, scientists are looking for alternatives to control high glycemic levels in these patients, using plants which have hypoglycemic abilities. In the present research, the hypoglycemic and antilipemic effects of liquid extract of *Phyllanthus niruri* on diabetic rats was evaluated. In order to do it, six week age male rats of *Rattus norvegicus* (cepa Sprague Dawley) were divided into five groups: normal with water (NW: control), normal with extract (NE), diabetic with water (DW), diabetic with extract (DE) and diabetic with insulin (DI). In order to induce diabetic condition, rats were treated with an intraperitoneal injection of alloxan of 100 mg/kg of weight. The plant extract was given on a daily dose of 200 mg/kg of body weight during 45 days (d). The alloxan produced a diabetic condition during the 45 d. The phytochemical compounds of the plant in the liquid extract produced a down on triglyceride and cholesterol levels in diabetic rats during the first 30 d, in relation to diabetic rats without treatment. These results show that metabolites of the liquid fractions of *P. niruri* have glucoselowering and antilipemic effect on diabetic rats treated with alloxan, which could made of this an alternative treatment to diabetes.

Key words: *Phyllanthus niruri*, hyperglycemic, diabetes, triglycerides, tannins.

INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) constituye un desorden metabólico complejo caracterizado por una hiperglicemia crónica, causada por la resistencia de las células blanco a la acción de la insulina circulante y una deficiencia cualitativa y cuantitativa de la secreción de insulina [16]. Los efectos de esta enferme-

dad en muchos órganos, la han catalogado como una de las principales causas de muerte y mayor incidencia a nivel mundial, falleciendo 3,4 millones de personas para el año 2004 y se pronostica que entre el año 2005 al 2030, el fallecimiento se duplique [25].

En los pacientes que padecen de DM se producen alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas [6]. Las complicaciones de esta enfermedad son producto de los efectos que ejerce la condición de hiperglicemia sobre las principales rutas de metabolización de la glucosa; afectando severamente los componentes celulares y tejidos del organismo [11], principalmente a aquellos tejidos que no requieren de insulina para la captación de la glucosa, como son el riñón, la retina, el cristalino y el sistema nervioso [5].

Las plantas han sido utilizadas por siglos en forma de infusiones o de coccciones de la planta completa o de algún órgano específico, para el tratamiento de muchas afecciones, y entre ellas la DM [13, 21]. Sin embargo, los estudios sobre las actividades biológicas de los metabolitos y su uso para la obtención de fármacos de tejidos vegetales es uno de los grandes retos para el tratamiento de muchas patologías, entre ellas la DM [27].

Phyllanthus niruri, mejor conocida comúnmente como flor escondida, chancapiedra o huevo abajo, es una planta euforbiaceae que está distribuida en muchas zonas tropicales y subtropicales, incluyendo la India y las Bahamas. Esta planta ha sido utilizada para el tratamiento de DM, cálculos y trastornos renales, como diuréticos, hipotensor, hipoglicémico, antiviral contra el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), eczemas, urticaria, enfermedades hepáticas, y otras [3, 4, 14, 17, 32].

El uso tradicional de esta planta para el tratamiento de la DM y otras afecciones ha sido el punto de partida de numerosos estudios que han señalado actividad hipoglicemiante, hipotensiva y diurética de los extractos acuosos administrados por vía oral a ratas (*Rattus norvegicus*) y ratones (*Mus musculus*) con DM [15, 26].

Actualmente, la mayoría de los casos de muerte por DM ocurren en países de ingresos bajos y medios [25], y a pesar de los numerosos estudios realizados sobre los efectos hipoglicemiantes de extractos de plantas en el tratamiento de la DM [15, 26], el uso de la planta o fármacos derivados de éste no se comercializan con gran amplitud como lo hacen los medicamentos tradicionales, siendo ésta una alternativa para el tratamiento de esta enfermedad en países tropicales donde la planta es abundante. Debido a esto, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de la planta sobre los parámetros químico-sanguíneos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales experimentales

Se utilizaron 120 ejemplares machos juveniles de ratas de seis semanas de edad con peso corporal entre $138,83 \pm$

$45,25$ g, cepa Sprague Dawley provenientes del Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (I.V.I.C), los Teques, Venezuela, los cuales fueron colocados en condiciones de aclimatación por una semana hasta el momento de la inducción de la DM y la experimentación, y alimentados con alimento concentrado (Ratarina®), teniendo el acceso libre a la comida y el agua.

Inducción experimental de diabetes

La DM experimental fue inducida por una inyección intraperitoneal de aloxano de 100 mg/kg de peso con una concentración de 60 mg/mL en buffer citrato-fosfato 0,1 M, pH 4,5 [8, 23]. Luego de cinco días se determinó la presencia de DM en los animales a través de la medición de los niveles de glicemia sanguínea (niveles >200 mg/dL), y estos animales fueron utilizados para el experimento.

Diseño experimental

Los 90 animales utilizados (18 normales y 72 diabéticos) fueron divididos en cinco grupos de seis ratas c/u para cada uno de los tiempos (15; 30 y 45 d). Grupo 1: ratas normales tratadas con agua (NA) utilizadas como control. Grupo 2: ratas normales tratadas con extracto (NE). Grupo 3: ratas diabéticas tratadas con agua (DA). Grupo 4: ratas diabéticas tratadas con extracto (DE) y Grupo 5: ratas diabéticas tratadas con insulina (DI). Los animales fueron pesados con una balanza Ohaus SP 401 de 400 g x 0,1 g, México, al comienzo y al final de cada período experimental para determinar la variación del peso (g). El extracto acuoso de la planta fue suministrado a una dosis de 200 mg/kg peso, diluido en agua de consumo diario [15, 26], consumida en su totalidad a las 24 horas cuando se procedía a colocar la nueva dosis y la insulina isofana humana de acción prolongada (Humulin® 70/30) se aplicó inyectada a una dosis de 5 U /kg peso/cada 2 d.

Preparación del extracto de la planta

Se colectaron plantas de la especie *P. niruri*, durante los meses de febrero a mayo del 2006, en los alrededores de la ciudad de Cumaná, verificando que los especímenes no presentaran infección por bacterias, hongos o parásitos, o presencia de insectos. Su identificación se efectuó por comparación con los ejemplares depositados en el herbario Isidro Bermúdez (I.R.B.R) de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. La desecación del material vegetal (todas sus partes excepto los tallos principales) colectado, se efectuó a temperatura ambiente en condiciones controladas de temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$ para evitar cambios químicos en la planta. El extracto acuoso se realizó pulverizando la planta con un molino eléctrico Eurochef 450w, Italia, y se tomaron 50 g de la planta pulverizada y se colocaron en 1000 mL de agua destilada hervida por 20 min, luego el extracto se filtró al vacío con un embudo de Buchner y papel de filtro Whatman No. 1[15], determinando la concentración final del extracto por la diferencia de peso del residuo sólido resultante de la evaporación completa de 10 muestras de

10 mL del extracto obtenido en una estufa marca Binder. M53-720, Alemania expresándolo en mg/mL.

Análisis fitoquímico

La presencia de los diferentes compuestos químicos o metabolitos secundarios presentes en el extracto acuoso de la planta en estudio se determinaron cualitativamente. La detección de saponinas, alcaloides y fenoles se realizó siguiendo la metodología propuesta por Larrahondo [18]. Para la detección de flavonoides, antraquinonas, triterpenos pentacíclicos, esteroides insaturados y glucósidos cardiotónicos se utilizó la metodología propuesta por Marcano y Hasegawa [21].

Muestras biológicas

Los animales fueron anestesiados con éter dietílico y luego se extrajo un volumen aproximado de 3 mL de sangre mediante punción cardíaca, utilizando jeringas hipodérmicas desechables de 10 mL con calibre 0.9 x 40mm. Este volumen de sangre se colocó en un tubo de vidrio seco con tapón de goma, para la separación del suero por centrifugación a 3000 g por 10 min en una centrifuga refrigerada Hamburg 5702-R, Alemania. Las muestras de suero fueron colocadas en tubos de ensayo estériles y almacenados en una nevera General Electric 20 pies, Venezuela, 4°C, hasta el momento de realizar los análisis químico-sanguíneos.

Determinación de glucosa sanguínea

La concentración de glucosa sanguínea fue determinada utilizando el estuche de Sigma catálogo 315-500 y la reacción coloreada se evaluó a 505 nm en un espectrofotómetro Helyos λ , Reino Unido. Los resultados fueron expresados en mg/d.

Determinación de triglicéridos

Los niveles de triglicéridos fueron medidos mediante el método enzimático de la enzima glicerol oxidasa utilizando el estuche de Sigma, catálogo TR0100 (Serum Triglyceride Determination Kit), y fue medida en un espectrofotómetro Helyos λ , Reino Unido, a 540 nm, para el cálculo de la concentración de triglicéridos y glicerol libres en la muestra. Los valores fueron expresados en mg/dL.

Determinación de colesterol

Los niveles totales de colesterol en el suero sanguíneo de los animales fueron determinados mediante la técnica enzimática para determinar colesterol en suero Sigma, catálogo 401-500P \ddagger (serum colesterol). El producto final de esta reacción fue leída a 500 nm. Los niveles de colesterol fueron expresados en mg/dL.

Análisis estadísticos

Los datos fueron evaluados a través de un análisis no paramétrico de Kruskal Wallis, utilizando Statgraphics Centu-

rion XV [31] a un nivel de confiabilidad de un 95%, con el fin de determinar las diferencias significativas entre los parámetros evaluados en los grupos experimentales, en cada uno de los tiempos de exposición. Las variables que mostraron diferencias significativas se sometieron a una prueba *a posteriori* de análisis de comparación de rangos múltiple de medias para determinar el comportamiento y las diferencias entre los grupos experimentales [31].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se analizaron un total de 90 ejemplares de ratas demostrándose que el extracto acuoso de la planta *P. niruri* afecta significativamente los parámetros evaluados. El análisis fitoquímico de la planta presentó metabolitos secundarios, revelando la presencia de alcaloides (débilmente básicos, básicos y sales cuaternarias) y taninos en el grupo de los fenoles (TABLA I).

TABLA I
ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ACUOSO DE *PHYLLANTHUS NIRURI*. ABBREVIACIONES: + (PRESENTE), - (AUSENTE)

Prueba	Reacción
Saponinas	-
Alcaloides	Débilmente básicos + Básicos + Sales cuaternarias +
Flavonoides	-
Fenoles:	Polifenoles - Taninos +
Antraquinonas	-
Triterpenos Pentacíclicos	-
Esteroides Insaturados	-
Glicósidos Cardiotónicos	-

Peso corporal

Las ratas mostraron diferencias significativas ($P < 0,001$) en la ganancia de peso corporal (PC) a los 30 d de experimentación (TABLA II), observándose una disminución gradual en los grupos experimentales (NE, DA, DI, DE) en comparación con el grupo NA que presentó una ganancia promedio de peso de $150,00 \pm 27,17$ g, y la menor ganancia de peso la presentó el grupo de ratas DE con un valor de $36,60 \pm 23,31$ g, similar al grupo DI con un valor de $37,92 \pm 14,95$ g. A los 45 d de ensayo, la variación de la ganancia de PC fue significativamente similar para los grupos experimentales.

Estos resultados demuestran que la administración del extracto acuoso de la planta *P. niruri*, a una dosis de 200 mg/kg de peso en las ratas de experimentación, produjo una

TABLA II
GANANCIA DE PESO DE RATAS DIABÉTICAS SOMETIDAS AL EXTRACTO ACUOSO DE *Phyllanthus niruri*

Condición	Peso inicial	Ganancia de peso (g)			
		15 días	30 días	45 días	
NA	105,16 ± 18,92	77,91 ± 13,24 ^{ab} (4)	150,00 ± 27,17 ^c (6)	142,00 ± 26,46	
NE	89,36 ± 10,12	97,52 ± 14,09 ^b (6)	109,21 ± 36,52 ^b (6)	84,90 ± 33,67	
DA	111,31 ± 17,96	73,35 ± 18,23 ^{ab} (4)	56,73 ± 29,94 ^a (6)	99,84 ± 23,19	
DE	105,25 ± 18,96	64,81 ± 17,53 ^a (6)	36,60 ± 23,31 ^a (6)	108,56 ± 70,01	
DI	98,16 ± 13,89	54,89 ± 27,05 ^a (6)	37,92 ± 14,95 ^a (6)	79,53 ± 37,98	
KW	Ns	16,81; P<0,05	22,55; P<0,001	Ns	

KW: análisis de Kruskal Wallis, ns: diferencias no significativas (P>0,05), NA: normal+agua, NE: normal+extracto, DA: diabetes+agua, DE: diabetes+extracto, DI: diabetes-insulina.

disminución gradual en la ganancia del peso en los grupos que tomaron el extracto a los 30 d. Esto coincide con los resultados encontrados por Mazunder y col. [22], quienes registraron una disminución de la ganancia de peso en ratas diabéticas a las que se le administraron dosis de 125 y 250 mg/kg de peso del extracto metanólico de la planta *P. niruri* durante 14 d; y los obtenidos por Adeneye y col. [1], los cuales señalaron una reducción del PC de tipo dosis-dependiente en los ratones tratados con el extracto acuoso de las hojas de *P. Amarus*.

Glicemia

Los niveles de glicemia en sangre de ratas mostraron diferencias significativas durante los tiempos de experimentación (FIG. 1). A los 15 d se observó una disminución gradual de los niveles de glicemia en el grupo diabético con extracto (139,17 ± 11,23 mg/dL) y diabético con insulina (135,33 ± 23,22 mg/dL) en comparación al grupo control diabético (DA), que presentó el mayor valor promedio de 184,17 ± 7,83 mg/dL, encontrándose estos valores por encima de los promedios para los grupos de ratas normales (NA y NE). Este comportamiento, también fue observado a los 30 d, donde el grupo diabético tratado con agua presentó el mayor valor (257,83 ± 39,179 mg/dL) y el menor, el grupo control (NA, 114,17 ± 7,782 mg/dL).

Los niveles de glicemia presentes en las ratas de esta investigación demuestran que, *P. niruri* tiene un efecto hipoglicémico, ya que las ratas diabéticas tratadas con el extracto de la planta mostraron niveles de glicemia dentro del nivel correspondiente a los animales normales tratados con agua y con extracto. En cambio, la insulina produjo en las ratas diabéticas un efecto hipoglicémico a los 30 d, sin embargo, a partir de los 45 d se observó una disminución de los niveles de glicemia en las ratas diabéticas sin control.

Se ha señalado que los efectos antihiperlipidémicos de las plantas se deben a su habilidad para restaurar la función

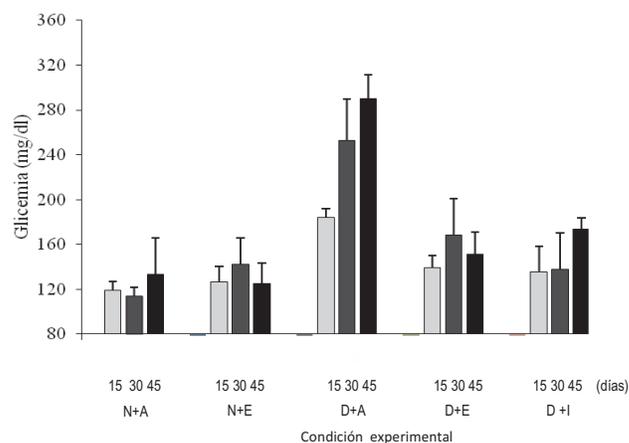


FIGURA 1. NIVELES DE GLICEMIA SANGUÍNEA DE RATAS DIABÉTICAS SOMETIDAS AL EXTRACTO ACUOSO DE *Phyllanthus niruri*.

del tejido pancreático, conllevando a un incremento en la producción total de insulina, inhibir la absorción intestinal de glucosa o bien, a facilitar los procesos metabólicos dependientes de insulina; de tal forma que se ha demostrado que el tratamiento con drogas herbales tienen un efecto protector de la actividad de las células β pancreáticas, facilitando el control de los niveles de glucosa en la sangre [7]. En general, existen pocos conocimientos sobre los mecanismos de acción específica de estas drogas en el tratamiento de la DM, pero en muchas plantas se ha encontrado que el contenido de sustancias como glicósidos, alcaloides, flavonoides y terpenoides, entre otros, está frecuentemente relacionado con estos efectos antidiabéticos [20].

De acuerdo con los resultados observados en el presente trabajo, es posible suponer que, el efecto hipoglicémico del extracto acuoso de *P. niruri* en las ratas diabéticas, pudiera

atribuirse a los fitoconstituyentes encontrados en el extracto, tales como los alcaloides y fenoles del tipo de los taninos, acción que pudiera estar relacionada con el incremento de las secreciones pancreáticas de insulina por las células β de los islotes de Langerhans [1, 3, 22, 26].

Nwanjo [24] comprobó el efecto hipoglicemiente del extracto acuoso de *P. niruri* atribuyendo esta propiedad a la presencia de alcaloides y flavonoides que pudieran incrementar la estimulación secretora del páncreas, remover los compuestos que actúan como inhibidores de la insulina, o bloquear las enzimas oxidativas que intervienen en el ciclo de Krebs (succinato deshidrogenasa y citocromo oxidasa) que incrementan la glucólisis anaeróbica y disminuyen la gluconeogénesis, aumentando así la tasa de transferencia de glucosa de la sangre a los tejidos [24]. Aunque muchos autores señalan que, el mecanismo de acción por el cual la planta ejerce este efecto, todavía no está claro [12], algunos sugieren que pueda relacionarse con el efecto de las drogas sulfonilúreas para promover la secreción de insulina, cerrando los canales de ATP-K, despolarizando la membrana y estimulando el influjo de calcio, que constituye una etapa inicial en el proceso de secreción de insulina desde las células pancreáticas [29].

Triglicéridos

Los niveles de triglicéridos en el suero sanguíneo de las ratas sometidas al extracto acuoso de *P. niruri* mostraron diferencias significativas a los 15 d (P<0,05) y 30 d (P<0,01) (TABLA III). Observándose a los 15 d, que todos los grupos experimentales presentaron un aumento en los niveles de triglicéridos con respecto al grupo control (NA, 48,83 ± 2,79 mg/dL,). El grupo DA presentó la mayor concentración de triglicéridos con 76,00 ± 11,19 mg/dL, mientras que las diabéticas tratadas con el extracto y con insulina presentaron valores promedios de 65,67 ± 16,73 mg/dL y 65,33 ± 6,65 mg/dL, respectivamente.

te. De la misma forma, a los 30 d de experimentación se observó el mismo comportamiento que a los 15 d. No se encontraron diferencias significativas a los 45 d.

Los niveles de triglicéridos sanguíneos en los grupos diabéticos se incrementaron durante los primeros 30 d del experimento. En la DM ocurren profundas alteraciones en la concentración y composición de los lípidos en el plasma [10]. El aumento observado en los niveles de triglicéridos a corto plazo (30 d) se debe a que no existe capacidad para oxidar la glucosa como fuente energética y almacenarla como glucógeno, debido a la inhibición de las enzimas involucradas en la cascada de la vía oxidativa (piruvato deshidrogenasa) y no oxidativa de la glucosa, lo que establece una relación estrecha entre los ácidos grasos libres (AGL) y la insulino-resistencia. A su vez, el incremento del flujo de los AGL hacia el hígado estimula el ensamblaje y secreción de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) causando hipertrigliceridemia y parte de estas VLDL ricas en triglicéridos son convertidas en remanentes de VLDL ricas en colesterol [19, 28]. Por otro lado, las ratas diabéticas tratadas con el extracto y la insulina presentaron, en líneas generales, niveles de triglicéridos inferiores a los de las ratas diabéticas tratadas con agua (DA), pero superiores a los de las ratas controles normales (NA y NE); lo que en conjunto demuestra que el extracto acuoso es capaz de disminuir los niveles de triglicéridos al igual que la insulina, que es un potente inhibidor de la lipólisis y por ende regula los niveles de AGL que son los precursores fundamentales para la síntesis hepática de triglicéridos [29, 30].

Colesterol

Se encontraron diferencias significativas (P<0,01) a los 15 y 30 d de experimentación (TABLA IV). A los 30 días, se observó una disminución de colesterol en todos los grupos experimentales en comparación al grupo NA (65,0 ± 7,54 mg/dL),

TABLA III
NIVELES DE TRIGLICÉRIDOS EN RATAS DIABÉTICAS SOMETIDAS AL EXTRACTO ACUOSO DE *Phyllanthus niruri*

Condición	Triglicéridos (mg/dL)			
	0 días	15 días	30 días	45 días
NA	53,06 ± 12,56 (24)	48,83 ± 2,79 (6)	59,50 ± 596 (6)	59,83 ± 596 (6)
NE	60,19 ± 9,14 (24)	5,51 ± 6,06 (6)	56,67 ± 7,12 (6)	58,03 ± 7,12 (6)
DA	58,16 ± 13,17 (24)	76,00 ± 11,19 (6)	88,00 ± 12,13 (6)	68,50 ± 12,31 (3)
DE	66,73 ± 11,24 (24)	65,67 ± 16,73 (6)	71,50 ± 10,97 (6)	63,33 ± 10,97 (6)
DI	59,42 ± 12,31 (24)	65,33 ± 6,65 (6)	67,67 ± 7,97 (6)	52,33 ± 9,97 (6)
KW	ns	12,49; p<0,05	14,44; p<0,01	ns

KW: análisis de Kruskal Wallis, ns: diferencias no significativas (p>0,05), NA: normal+agua, NE: normal+extracto, DA: diabetes+agua, DE: diabetes+extracto, DI: diabetes-insulina.

TABLA IV
NIVELES DE COLESTEROL DE RATAS DIABÉTICAS SOMETIDAS AL EXTRACTO ACUOSO DE *Phyllanthus niruri*.

Condición	Colesterol (mg/dL)			
	0 días	15 días	30 días	45 días
NA	53,06 ± 12,56 (24)	53,50 ± 7,82 ^a (4)	65,00 ± 7,54 ^a (6)	52,83 ± 5,71 (6)
NE	51,19 ± 9,14 (24)	56,00 ± 5,93 ^a (6)	55,98 ± 6,07 ^b (6)	55,19 ± 6,87 (6)
DA	52,16 ± 13,17 (24)	62,51 ± 5,32 ^a (4)	46,17 ± 8,91 ^c (6)	64,83 ± 2,32 (3)
DE	56,73 ± 11,24 (24)	56,17 ± 9,56 ^b (6)	50,33 ± 7,69 ^a (6)	49,50 ± 5,01 (6)
DI	59,42 ± 12,31 (24)	48,17 ± 11,51 ^a (6)	50,00 ± 7,42 ^a (6)	53,50 ± 12,94 (6)
KW	ns	19,98; p<0,01	22,56; p<0,001	ns

KW: análisis de Kruskal Wallis, ns: diferencias no significativas (p<0,05). NA: normal+agua, NE: Normal+extracto, DA: diabetes+agua, DE: diabetes+extracto, DI: diabetes+insulina.

mientras que el grupo DA presentó el menor valor de 46,17 ± 8,91 mg/dL; incluso menor al de los grupos de DE y DI que presentaron valores de 50,33 ± 7,69 mg/dL y 50,0 ± 7,40 mg/dL, respectivamente.

Los niveles de colesterol sanguíneo mostraron una disminución en todos los grupos a los 30 d de tratamiento con el extracto. Por el contrario, las ratas diabéticas tratadas con extracto e insulina mostraron un incremento gradual del colesterol sanguíneo a partir de los 30 d; este resultado pudiera sugerir que, tanto el extracto como la insulina, ejercen un efecto hipercolesterolémico en las ratas diabéticas, o posiblemente, la insulina no incrementa la remoción de LDL-colesterol, tal como ha sido señalado por otros autores [2, 29]. Sin embargo, cabe resaltar que los niveles altos de glucosa sanguínea encontrados en las ratas diabéticas controles tratadas con agua durante todo el experimento estuvieron asociados con la disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol sanguíneo encontrados para este grupo.

La disminución de los niveles de colesterol y triglicéridos mostrado por las ratas diabéticas durante los primeros 30 d de tratamiento con el extracto acuoso de la planta, indica que los compuestos activos del extracto de la planta ejercen un efecto hipolipidémico. Además, los resultados concuerdan con los obtenidos por Khanna y col. [17] quienes encontraron una disminución de los niveles de triglicéridos (171 a 110 mg/dL) y colesterol (180 a 129 mg/dL) en ratas hiperlipidémicas tratadas con una dosis de 250 mg/kg de peso corporal del extracto acuoso crudo de *P. niruri*, durante 60 d, esto acompañado de altos niveles de HDL (lipoproteína de alta densidad) y aumento de la actividad lipolítica por la enzima colesterol acil-transferasa (LCAT). Es posible que la disminución de los lípidos sanguíneos (efecto hipolipidémico) ejercido por el extracto acuoso de *P. niruri*, observado

en este trabajo, sea debido a la inhibición de la biosíntesis de colesterol, el aumento del catabolismo de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) o a la activación del colesterol acil-transferasa y de las enzimas lipasas de los tejidos, efectos que a su vez pueden contribuir a mantener la actividad hepatoprotectora por el extracto de *P. niruri* [9, 17].

Probablemente, los pocos cambios observados en los parámetros químicos-sanguíneos después de los 45 d de experimentación, se deban a la ligera condición de hiperglicemia causada por el tratamiento con aloxano (agente diabético); ya que a pesar de que la β -toxina induce una DM química tipo I por daño en las células β -pancreáticas y la consecuente disminución en la liberación de insulina, su efecto puede ser revertido a largo plazo, no produciendo un daño total de las células β -pancreáticas expresándose con el tiempo una DM tipo II [29, 33].

CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que el extracto acuoso crudo de *P. niruri* mostró una actividad hipoglicémica e hipolipidémica en las ratas diabéticas, en los primeros 30 días de tratamiento. Esto demuestra que los efectos del extracto acuoso de *P. niruri* dependen en gran medida del tiempo de tratamiento, y de la presencia de los metabolitos secundarios activos en el extracto de la planta.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la colaboración del Departamento de Biología y al Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente para la realización de este trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADENEYE, A.; AMOLE, O.; ADENEYE, K. Hypoglycemic and hypocholesterolemic activities of the aqueous leaf and seed extract of *Phyllanthus amarus* in mice. **Fitoterap.** 77:511-514. 2006.
- [2] BOPANNA, K.; KANNAN, J.; SUSHMA, G; BALARAMAN, R.; RATHOD, S. Antidiabetic and antihyperlipidemic effect of neem seed, kernal poder on alloxan diabetic rabbits. **Ind. J. Pharmacol.** 29: 162-167. 1997.
- [3] CALIXTO, J.; SANTOS, A.; CECHINEL, F.; YUNES, A. A review of the plants of the genera *Phyllanthus*: their chemistry, pharmacology and therapeutic potential. **Med. Res. Rev.** 18(4): 225-258. 1998.
- [4] CHATTERJEE, M.; SARKAR, K.; SIL, P. Herbal (*Phyllanthus niruri*) protein isolate protects liver from nimesulide induced oxidative stress. **Pathophysiol.** 13: 95-102. 2006.
- [5] DÍAZ, D. Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético. **Rev. Cub. Invest. Bioméd.** 25(3): 1-9. 2006.
- [6] DINNEEN, S. Diabetes: basis facts. What is diabetes? **Med.** 34(2):45-46. 2006.
- [7] ELDER, C. Ayurveda for diabetes mellitus: a review of the biomedical literature. **Altern. Therap. Health. Med.** 10: 44-50. 2004.
- [8] ELSNER, M.; GURGUL-CONVERY, E.; LENSEN, S. Relative importance of cellular uptake and reactive oxygen species for the toxicity of alloxan and dialuric acid to insulin-producing cells. **Free Radic. Biol. Med.** 41: 825-834. 2006.
- [9] ENJOJI, M.; NAKAMUTA, M.; KINUKAWA, N.; SUGIMOTO, R.; NOGUCHI, K.; TSURTA, T.; IWAO, M.; KOTOH, K.; IWAMOTO, H.; NAWATA, H. Beta-lipoproteins influence of serum level hepatitis C virus. **Med. Sci. Monit.** 6(5): 841-844. 2000.
- [10] ESHRAT, H.; HUSSAIN, A. Hypoglycemic, hipolipidemic and antioxidant properties of combination of curcumin from *Cucurma longa* Linn, and partially purified product from *Abroma augusta*, Linn. In streptozotocin induced diabetes. **Ind. J. Clin. Biochem.** 17(2): 33-43. 2002.
- [11] EVANS, J.; GOLDFINE, I.; MADDUX, B.; GRODSKY, G. Are oxidative stress-activated signaling pathways: mediators of insulin resistance and β -cell dysfunction? **Diabetes.** 52:1-8. 2003.
- [12] GARG, M.; DHAR, V.; KALIA, N. Antidiabetic and antioxidant potential of *Phyllanthus fraternus* in alloxan induced diabetic animals. **Phcog. Mag.** 4(14): 138-143. 2008.
- [13] HALIM, B.; ALI, A. Oral hypoglycaemic effect of *Phyllanthus niruri* Linn. **J. Biochem.** 16(5): 342-347. 2002.
- [14] HARISH, R.; SHIVANANDAPPA, T. Antioxidant activity and hepatoprotective potential of *Phyllanthus niruri*. **Food Chem.** 95: 180-185. 2006.
- [15] HNATYSZYN, O.; MINO, J.; FERRARO, G.; ACEVEDO, C. The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions in streptozotocin-induced diabetic mice. **Phytomed.** 9(6): 556-559. 2002.
- [16] KAHN, S.; PRIGEON, R.; SCHWARTZ, R.; FUJIMOTO, W.; KNOPP, R.; BRUNZUL, J.; PORTE, D. Obesity, body fat distribution, insulin sensitivity and islet beta-cell function as explanations for metabolic diversity. **J. Nutr.** 131: 354-60. 2001.
- [17] KHANNA, A.; RIZVI, F.; CHANDER, R. Lipid lowering activity of *Phyllanthus niruri* in hyperlipemic rats. **J. Ethnopharmacol.** 82: 19-22. 2002.
- [18] LARRAHONDO, J.E. Productos naturales: pruebas químicas iniciales en una planta. Guía de estudio del Departamento de Química, Universidad del Valle. Méjico. 10 pp. 1985.
- [19] LEWIS, G. Fatty acid regulation of very low density lipoprotein (VLDL) production. **Curr. Opin. Lipidol.** 8: 146-153. 1997.
- [20] LOEW, D.; KASKIN, M. Approaching the problem of bioequivalence of herbal medicinal products. **Phytother. Res.** 16: 705-711. 2002.
- [21] MARCANO, D.; HASEGAWA, M. Productos naturales una visión general. En: Marcano, D.; Hasegawa, M. (Eds) **Fitoquímica Orgánica**. 2nd Ed. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. Pp 29-88. 2002.
- [22] MAZUNDER, U.; GUPTA, M.; RAJESHWAR, Y. Antihyperglycemic effect and antioxidant potential of *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae) in streptozotocin induced diabetic rats. **Eur. Bull. Drug. Res.** 13(1): 15-23. 2005.
- [23] MIRANDA, M.; MURIACH, M.; JOHNSEN, S.; BOSCHMORELL, F.; ARAIZ, J.; ROMÁ, J.; ROMERO, F. Estrés oxidativo en un modelo de retinopatía diabética experimental: tratamiento con antioxidantes. **Arch. Soc. Esp. Oftalmol.** 79: 289-294. 2004.
- [24] NWANJO, H. Studies on the effect of aqueous extract of *Phyllanthus niruri* leaf on plasma glucose level and some hepatoespecific markers in diabetic wistar rats. **J. Lab. Med.** 2(2): 1-6. 2007.
- [25] ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). Diabetes. 2011. Nota descriptiva N° 312. En Línea: www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs312/es/16/09/2012.
- [26] RAPHAEL, K.; SABU, M.; KUTTAN, R. Hypoglycemic effect of methanol extract of *Phyllanthus amarus* Schum & Thonn on alloxan induced diabetes mellitus in rats and

- its relation with antioxidant potential. **Indian J. Exp. Biol.** 40(8): 905-909. 2002.
- [27] RATES, S. Plants as source of drug. **Toxicon** 39(5): 603-13. 2001.
- [28] RODRÍGUEZ, Y. Interpretaciones recientes sobre el metabolismo lipídico en la resistencia a la insulina. **Rev. Esp. Nutr. Comunit.** 9(4): 193-198. 2003.
- [29] SARAVANAN, R.; PARI, L. Antihyperlipidemic and anti-peroxidative effect of diasulin, a polyherbal formulation in alloxan induced hyperglycemic rats. **BMC Complem. Altern. Med.** 5 (14): 1-8. 2005.
- [30] SCHMITZ-PEIFFER, C. Signalling aspects of insulin resistance in skeletal muscle. Mechanism induced by lipid oversupply. **Cell Signal.** 12: 583-594. 2000.
- [31] STATPOINT TECHNOLOGIES INC. Statgraphics® centurion XVI, User Manual. Estados Unidos On line: <http://www.statgraphics.com>. Copyright © 2012. Stat Point Technologies, Inc. EUA. 296 pp. 05/01/2012.
- [32] TONA, L.; MESIA, K.; NGIMBI, N; CHRIMWAMI, B.; CIMANGA, K.; DE BRUMEY, T.; APERS, S.; HERMANS, N.; TOTE, J.; PIETERS, L.; VLIETINCK, A. In vivo anti-malarial activity of *Casia occidentalis*, *Morinda morindoides* and *Phyllanthus niruri*. **Ann. Trop. Med. Parasit.** 195: 47-57. 2001.
- [33] VIANA, G.; MEDEIROS, A.; LACERDA, A.; LEAL, K.; VALE, T.; DE ABREU, J. Hypoglycemic and anti-lipemic effects of the aqueous extract from *Cissus sicyoides*. **BMC Pharmacol.** 4: 1-7. 2004.