

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
INSTITUTO NACIONAL DE ENDOCRINOLOGÍA

ESTUDIO DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL *Ocimum sanctum* L. (ALBAHACA MORADA) CON EL USO DE UN ENSAYO BIOLÓGICO EN RATONES

Dra. Martha Deás Rodríguez,¹ Dr. Armando Seuc Jo² y Dr. Roberto M. González Suárez³

RESUMEN

Se estudió el efecto del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) sobre la glicemia de ratones normales con 20 a 25 g de peso. Se midió el efecto hipoglicemiante que tienen la administración intraperitoneal de diferentes dosis de albahaca morada (0,5-20 %) a las 2 y 4 h de haber administrado el extracto. El análisis de los resultados se basó en un modelo lineal para describir las posibles variaciones de la glicemia en el tiempo. Las pendientes de las rectas descritas para cada una de las dosis, demostraron que la albahaca morada produce una disminución de la glicemia de 5 a 22 mg/dL/h y no se encontraron diferencias significativas entre las dosis estudiadas.

Descriptores DeCS: *Ocimum sanctum* L.; HIPOGLICEMIA; RATONES; BIOENSAYO.

ABSTRACT

Effect of *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) on glycemia of normal mice, weighing from 20 to 25 g, was studied. Hypoglycemic effect of intraperitoneal dose of *Ocimum sanctum* (0,5-20 %) within 2 and 4 hours, post-administration of extract, was measured. Analysis of findings was based on a linear model to describe possible variations of glycemia over the time. Slopes of described straight lines to each of dose, showed that *Ocimum sanctum* L. lead to decrease of glycemia (5 to 22 mg/dL/h). Between study dose, there weren't significant differences.

Subject headings: *Ocimum sanctum* L.; HYPOGLYCEMIA; MICE; BIOASSAY.

¹ Médico Especialista de I Grado en Bioquímica Clínica. Investigadora Agregada. Laboratorio de Diabetes.

² Doctor en Ciencias Físico-Matemática. Investigador Auxiliar. Jefe del Departamento de Metodología de la Investigación.

³ Doctor en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Bioquímica Clínica. Investigador y Profesor Titulares. Jefe de la Sección de Diabetes.

Las plantas medicinales con actividad antidiabética pueden aportar una fuente útil de nuevos compuestos orales hipoglicemiantes, ya sea, como entidades farmacéuticas o coadyuvantes de las terapias existentes.¹⁻³ Otra razón importante para estudiar el uso de estas plantas es validar científicamente su efectividad, para recomendar su uso y probablemente concluya a reducir el costo del cuidado de la salud de estos pacientes.⁴

En Cuba hay una larga tradición del uso de las plantas con esta actividad;⁵ entre las más utilizadas se encuentra la albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.), la cual la población diabética le atribuye con mucha frecuencia una mejoría subjetiva a su afección. En trabajos realizados con anterioridad hemos reportado que un extracto acuoso de la planta, por decocción de hojas secas al 10 %, produce un efecto hipoglicemiante en ratas diabéticas por estreptozotocina,⁶ resistentes a la insulina por dexametazona, sin cambios importantes en la secreción de insulina.⁷

De igual modo, experimentos *in vitro* realizados en adipocitos aislados de rata demostraron que el extracto acuoso de esta planta inhibe la lipólisis a través del mecanismo mediado por el sistema de la adenilciclase.⁸

El objetivo de este trabajo es comprobar la actividad del extracto en un rango de concentraciones altas y bajas, mediante un modelo de ensayo biológico en ratones.

MÉTODOS

El material vegetal se obtuvo de la planta en las etapas de floración y fructificación, las hojas fueron secadas a temperatura ambiente, pulverizadas y 100 g de estas extraídas con un litro de agua. El extracto acuoso al 10 % se liofilizó y se obtuvo un gramo por cada 100 mL.

Para el ensayo de sensibilidad a los extractos se utilizaron ratones IOR (sepa isogénica, suministrado gentilmente por el Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología), de 20 a 25 g de peso, los cuales se dividieron en grupos de 5, para probar el efecto de cada una de las dosis, más el grupo control. Los animales fueron mantenidos con dieta estándar (ratonina) y agua *ad libitum* hasta el día del experimento.

Se probaron 2 grupos de dosis (dosis alta 10 y 20 % y dosis bajas 0,5; 1; 2,5 y 5 %). Para cada grupo de dosis se realizaron n=4 y n=2 experimentos respectivamente, por lo que 40 ratones recibieron las dosis altas (10 y 20 %) y 40 de ellos recibieron las dosis bajas (0,5; 1,; 2,5 y 5 %).

A cada uno de los 5 ratones (no ayunados) se le administró por vía intraperitoneal 0,02 mL/g de peso de la dosis señalada y la misma cantidad de agua a los que

pertenecían al grupo control en cada experimento. La sangre se obtuvo por canalización del seno venoso del ojo y se midió la glicemia por el método de la glucosa oxidasa⁹ a las 0, 2 y 4 h.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En cada animal se hicieron 3 observaciones según el tiempo: a las 0, 2 y 4 h; además, se consideró el conjunto de todas las observaciones en cada animal como una entidad. Siguiendo este enfoque, se estableció un modelo lineal para las "posibles" variaciones de la glicemia según el tiempo, en los controles (dosis control) y las distintas dosis de *Ocimum sanctum* estudiadas.

Para cada animal fue hallada la recta de regresión mínimo-cuadrática, ajustada a los 3 tiempos observados. Todo el análisis posterior se hizo mediante el intercepto y la pendiente de tales rectas: el intercepto representa la glicemia basal y la pendiente el «posible efecto» hipoglicemiante de las distintas dosis.

Este análisis se resumió en 5 pasos:

1. Se compararon los interceptos de los controles entre todos los experimentos mediante el *test* no paramétrico Kruskal - Wallis o Wilcoxon¹⁰ para las muestras independientes; lo mismo se hizo para los interceptos de cada una de las dosis.
2. Los experimentos homogéneos detectados según los *test* estadísticos como en el paso 1, fueron validados internamente para comparar ahora los interceptos de las distintas dosis. Los experimentos que no cumplieron este criterio interno de homogeneidad fueron considerados de validez dudosa y excluidos del análisis posterior.
3. En cada uno de los grupos de experimentos homogéneos detectados según el paso anterior, se recalcularon las rectas de regresión para que todas tuvieran un mismo intercepto promedio según las rectas de regresión originales.
4. Con las rectas de regresión anteriores se compararon las distintas dosis a través de sus pendientes promedios, mediante un ANOVA (análisis de varianza).¹¹
5. Se calculó un intervalo de confianza para el efecto hipoglicemiante de cada una de las dosis de *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada). Este efecto hipoglicemiante se definió como la diferencia entre las pendientes promedio de la dosis analizada y de la dosis control.

De los resultados de este análisis estadísticos, los experimentos homogéneos en cada grupo de dosis fueron

utilizados para obtener, de forma complementaria, las curvas dosis-respuesta a las 2 y 4 h.

RESULTADOS

DOSIS ALTAS 10 Y 20 %

Como resultado del análisis para estas dosis, 3 de los 4 experimentos realizados fueron homogéneos, $\alpha = 0,05$ para todos los grupos analizados (control, 10 y 20 %), por lo que parten de un intercepto común en el eje de las "y", premisa fundamental para el siguiente análisis lineal del efecto hipoglicemiante en cada una de las dosis en el tiempo.

Al comparar el valor promedio de la pendiente del grupo control ($-2,01 \pm 3,59$) con la del grupo de dosis del 10 % ($-11,02 \pm 3,52$) se encontró una diferencia de $8,99 \pm 1,16$, para un intervalo de confianza de [7, 11] (mg/dl/h) (tabla 1), es decir, que para esta dosis los valores de glucosa disminuyen de 7 a 11 mg/dl/h. Para la pendiente de la dosis 20 % ($-11,03 \pm 3,52$) la diferencia fue de $9,2 \pm 1,3$, con un intervalo de [6,12] (mg/dl/h). No hubo diferencia entre las 2 dosis, al comparar las pendientes (tabla 2).

DOSIS BAJAS (0,5; 1; 2,5 y 5 %)

Para estas dosis se hizo el mismo análisis. Al evaluar la homogeneidad de los interceptos en cada uno de los

TABLA 1. Intervalo de confianza del 95 % para el efecto hipoglicemiante de AM 10 y 20 %

	Control	AM 20 %	AM 10 %
Pendiente promedio	-2,01	-11	-11,02
Desviación estándar	3,59	2,59	3,52
Diferencia	-	8,99+/-1,6*	9,02+/-1*
Error estándar	-	1,16	1,14
IC 95 % mg/dL/h	-	[7,11]	[6,12]

(n= 14)

* Diferencia de la dosis con respecto al grupo control.

TABLA 2. Comparación del efecto hipoglicemiante de la albahaca morada al 10 y 20 %.

	AM 10 %	AM 20 %
Pendiente promedio	-11	-11,03
Desviación estándar	2,62	3,62
Diferencia	-	0,03
Error estándar	-	1,14
IC 95% mg/dL/hora	-	[-2,2]

(n= 14)

experimentos, se observó que en el paso 1 del análisis había diferencias significativas, por lo que se consideró el experimento como dudoso y fue excluido del análisis siguiente. En el experimento No. 2, al comparar los valores basales de todas las dosis, la probabilidad fue de 0,46, por tanto el análisis del efecto hipoglicemiante es confiable.

En la tabla 3 se muestran los valores de las pendientes para cada una de las dosis. Aunque hay una

TABLA 3. Intervalos de confianza de 95% para el efecto hipoglicemiante de AM de dosis bajas vs control

	Control	Porcentaje			
		0,5	1	2,5	5
Pendiente promedio	1,38	-8,94	-9,61	-12,11	-18,34
Desviación estándar	2,15	2,87	4,1	8,29	0,72
Diferencia	10,32	11	13,51	9,72	
Error estándar	1,72	2,31	4,28	1,14	
IC 95 % g/dL/hora	[7,14]*	[6,16]*	[5,22]*	[17,22]	

(n = 4)

* Diferencia significativa ($p < 0,05$).

tendencia a la disminución de la glicemia, cuando aumenta la dosis no encontramos diferencias significativas entre ella; sin embargo, las probabilidades son suficientemente pequeñas (0,067) para justificar comparaciones adicionales con tamaños de muestra mayores.

En las figuras 1 y 2 se muestran las curvas dosis-respuesta para las dosis altas (10 y 20 %) y dosis bajas (0,5; 1; 2,5 y 5 %) y se encontró que la disminución de la glicemia fue mayor a las 4 h ($p < 0,05$) para todas las dosis.¹²

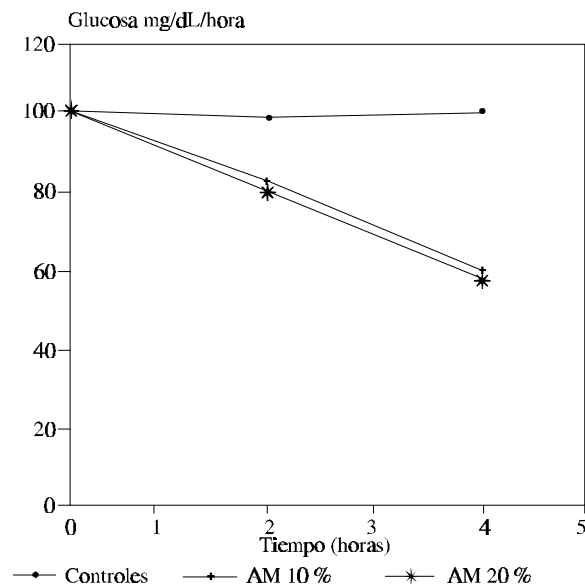


Figura 1. Curvas de sensibilidad. Albahaca morada 10 y 20 %

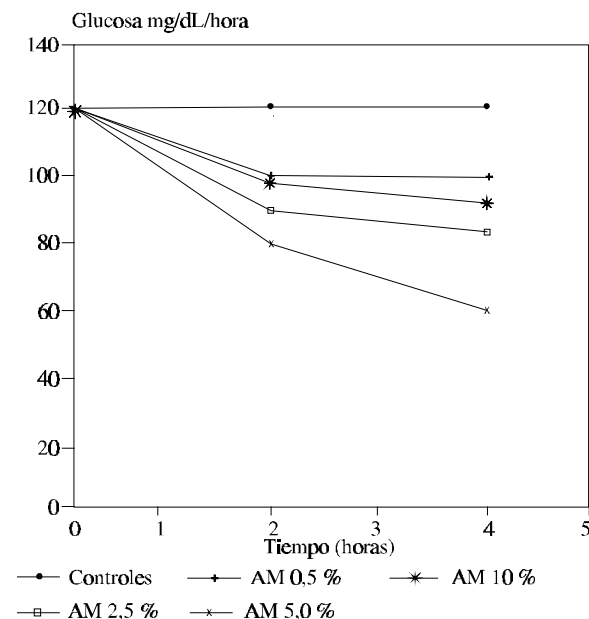


Figura 2. Curvas de sensibilidad. Albahaca morada 0,5; 1; 2,5 y 5 %

DISCUSIÓN

Estos resultados muestran que el diseño experimental fue válido para establecer el efecto hipoglicemiante del *Ocimum sanctum* L. (albahaca morada) en el rango de dosis estudiada; lo que nos permite utilizar la dosis adecuada para estudios experimentales más complejos en animales diabéticos y en humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Day C, Bailey CJ. Hypoglycaemic agents from traditional plant treatments for diabetes. *Int Ind Biotech* 1988;8(3):5-8.
- Bailey CJ, Day C. Traditional plant medicines as treatments for diabetes. *Diabetes Care* 1989;(8):553-61.
- Kim OK, Lee EB. The screening of plants for hypoglycemic. Action in normal and alloxan-induced hyperglycemic rats. *Korean J Pharmacog* 1992;23(2):117-9.
- Farnsworth NR. Ethnopharmacology and future drug development: the North American experience. *J Ethnopharmacol* 1993;51(38):145-52.
- Deás M, Crespo S, González RM. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de la albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) I. Efecto sobre la tolerancia a la glucosa y la secreción de insulina en modelos animales. *Rev Cubana Invest Biomed* 1988;7(1):53-9.
- Crespo S, Güell E, Menéndez R, González R. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) II. Efecto sobre la incorporación de glucosa en adipocitos de rata. *Rev Cubana Farm* 1988;22(1):86-91.
- González R, Crespo S, Deás M. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de la albahaca morada (*Ocimum sanctum* L.) III. Efecto sobre la lipólisis y la adenilciclasa en tejido adiposo de rata. *Rev Cubana Farm* 1988;22(1):92-100.
- Deás M, Crespo S, González R. Estudio del mecanismo de acción hipoglicemiante de la albahaca morada IV. Efecto sobre la secreción de insulina inducida por dexametazona. *Rev Cubana Farm* 1988;22(1):101-8.
- Schmidt FH. Die enzymatische Bestimmung von Glukos und Fruktose neben cimauder. *Klin Noch* 1961;39:1244.
- Bradford HA. Principios de estadística médica. 3ed. 1965.
- Hoel PG. Elementary statistic. Analysis of variance:262. 2ed. 1969.
- Ehrenfeld S, Littauer SB. Introduction to statistical method: statistical hypothesis testing. La Habana: Instituto Cubano del Libro, 1964:244.

Recibido: 4 de septiembre de 1996. Aprobado: 6 de enero de 1997.
Dra. Martha Deás Rodríguez. Instituto Nacional de Endocrinología.
Zapata y D, EL Vedado, Ciudad de La Habana, Cuba.