

UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO

**Ensayo clínico: Evaluación del efecto hipoglicémico de *Lupinus Mutabilis* en
diversas dosis y preparaciones en voluntarios sanos y en pacientes con
Disglicemia**

María Pía Villamar Urquiza

Tesis de grado presentada como requisito para la obtención del título de Médico

Quito, 14 de Abril del 2010

**Universidad San Francisco de Quito
Colegio de Ciencias Médicas**

HOJA DE APROBACION DE TESIS

**Ensayo clínico: Evaluación del efecto hipoglicémico de *Lupinus Mutabilis* en
diversas dosis y preparaciones en voluntarios sanos y en pacientes con
Disglucemia**

María Pía Villamar Urquiza

Marco Fornasini, Ph.D
Director de Tesis y
Miembro del Comité de Tesis

.....

Manuel Baldeon, Ph.D
Miembro del Comité de Tesis

.....

Rafael Febres-Cordero, MD
Miembro del Comité de Tesis

.....

Enrique Noboa, MD
Decano del Colegio de Ciencias de la Salud

.....

Quito, 14 de Abril del 2010

© **Derechos de autor**

María Pía Villamar Urquiza
2010

DEDICATORIA

A mi hija Isabel, quien es razón de mi ser y sentido en la vida.
A mis padres, quienes me han dado los medios y la confianza necesarios para poder elegir y desarrollar libremente todo aquello que ha hecho posible que mi vida personal y profesional sean plenamente felices.

AGRADECIMIENTOS

A mis maestros, Manuel Baldeon y Marco Fornasini, por ser modelos de valor y sabiduría, por su desinteresada y generosa labor de transmisión del saber, su inagotable entusiasmo y sus acertados consejos y sugerencias.

Al Dr. José Castro y todos los participantes del estudio, por hacer posible la generosa idea de contribuir con el campo de la investigación para mejorar la vida de otras personas.

Al Dr. Rafael Febres-Cordero por su participación generosa en esta tesis.

A mis amigos y compañeros, sin su ayuda incondicional no hubiera podido llevar a cabo mis aspiraciones.

A mis hermanos, por su incesante aliento en momentos de dificultad.

A José Miguel, por su apoyo, su comprensión generosa, su tolerancia y amor infinito.

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El síndrome metabólico y la Diabetes tipo II son un problema de salud pública global que están incrementando y que afectan a los sistemas de salud de todos los países. Hay una necesidad constante del desarrollo de nuevas terapias que ofrezcan mejores efectos, menores efectos adversos y de menor precio para el tratamiento de estas enfermedades. Los alcaloides de las especies de lupinus son buenos candidatos para ser usados como agentes hipoglicemiantes.

OBJETIVO GENERAL: Establecer la eficacia de *Lupinus mutabilis* como agente hipoglicémico en sujetos sanos y disglucémicos.

MATERIALES Y MÉTODOS: Se realizó un ensayo clínico fase II para determinar el rol de *Lupinus mutabilis* crudo en la glucosa e insulina sanguínea en sujetos normoglicémicos y disglucémicos. Se determinó el HOMA-IR en las dos poblaciones. Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas para la interpretación de los resultados obtenidos.

RESULTADOS: Los resultados muestran que el consumo de lupinus por individuos jóvenes normosómicos y sanos no mostraron cambios importantes en los niveles de glucosa e insulina. Sin embargo, el consumo de dosis similares de lupinus por individuos disglucémicos (glucosa en ayunas > 100 mg/dL) disminuyó significativamente los niveles de de glucosa e insulina. El efecto del lupinus fue mayor en aquellos sujetos con niveles mayores de glucosa basal. Efectos inhibitorios de lupinus no se observaron después de la ingesta de soya. Además, una reducción estadísticamente significativa en los niveles de insulina fue observada en el grupo de lupinus comparado con el grupo de soya a los 60 minutos posterior del tratamiento. Adicionalmente, solo el tratamiento con lupinus mejoró la Resistencia a la insulina en sujetos disglucémicos.

CONCLUSIÓN: Los datos demuestran que el consumo de lupinus puede ser una alternativa fehaciente y de bajo costo para tratar las enfermedades hiperglicémicas.

ABSTRACT

INTRODUCTION: Metabolic syndrome and type-2 diabetes are increasing health problems that negatively affect health care systems worldwide. There is a constant urge to develop new therapies with better effects, lower side effects at lower prices to treat these diseases. Alkaloids from lupinus species are good candidates to be used as hypoglycaemic agents.

GENERAL OBJECTIVE: To establish the efficacy of *Lupinus mutabilis* as a hypoglycaemic agent in healthy and dysglycemic subjects.

MATERIALS AND METHODS: A phase II clinical trial was conducted to assess the role of raw *Lupinus mutabilis* on blood glucose and insulin in normoglycemic and dysglycemic subjects. The HOMA-IR was determined in both groups. Non parametric statistics were used to interpret the obtained results.

RESULTS: Results show that consumption of lupinus by normal weight healthy young individuals did not change importantly blood glucose and insulin levels. On the other hand, consumption of similar doses of lupinus by dysglycemic individuals (fasting glucose > 100 mg/dL) decreased significantly blood glucose and insulin levels. Lupinus effect was greater in those subjects with higher basal glucose levels. Inhibitory effects of lupinus were not observed after soy intake. In addition a statistically significant reduction in insulin levels was observed in the lupinus group compared with the soy group after 60 minutes of treatment. Furthermore, only treatment with lupinus improved insulin resistance in dysglycemic subjects.

CONCLUSION: These data demonstrate that lupinus consumption could be a feasible and low cost alternative to treat hyperglycemic diseases.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
MARCO TEÓRICO	7
JUSTIFICACIÓN	22
HIPÓTESIS	24
OBJETIVOS	25
OBJETIVO GENERAL	25
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
MATERIALES Y MÉTODOS	26
RESULTADOS	31
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	45
RECOMENDACIONES	47
BIBLIOGRAFÍA	48
ÍNDICE	55
ANEXOS	56

LISTA DE FIGURAS

TABLA 1. Contenido de Alcaloides de <i>Lupinus mutabilis</i> ._____	28
TABLA 2. Variables Demográficas Comparadas por Grupos._____	31
TABLA 3. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes normoglicémicos tratados con <i>Lupinus</i> o soya._____	32
TABLA 4. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes disglucémicos tratados con <i>Lupinus</i> o soya._____	33
TABLA 5. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes disglucémicos tratados con <i>Lupinus</i> o soya con nivel basal de glucosa ≥ 100 mg/dL._____	34
ILUSTRACIÓN 1. Niveles sanguíneos de glucosa e insulina en voluntarios tratados con <i>Lupinus</i> o soya. Panel A glucosa y B insulina, Grupo de <i>Lupinus</i> . Panel C glucosa y D insulina, Grupo de soya. NG = normoglicémico; DG = disglucémico._____	35
ILUSTRACIÓN 2. Ilustración 2. HOMA en voluntarios tratados con <i>Lupinus</i> o soya. Panel A sujetos normoglicémicos, grupo de <i>Lupinus</i> . Panel B sujetos disglucémicos, grupo de <i>Lupinus</i> . Panel C sujetos normoglicémicos, grupo de soya. Panel D sujetos disglucémicos, grupo de soya._____	37

INTRODUCCIÓN

La Diabetes tipo II es una enfermedad altamente prevalente en el mundo. Se reportó que 135 millones de personas fueron afectadas en el año 2005 y se estima que 217 millones de personas serán afectadas por la enfermedad para el año 2030 (1). Desafortunadamente, la mayoría de casos nuevos provendrán de países en vías de desarrollo (2).

El tratamiento de la Diabetes es muy costoso, para el año 2000 el costo total para tratar esta enfermedad fue de 132 billones de dólares (2). Considerando los recursos limitados dedicados al sistema de salud de dichos países la mayor parte de la población no será capaz de costear el tratamiento (1).

Está estimado que aproximadamente el 30% de camas de hospitalización en Latino América se usan para condiciones relacionadas a la Diabetes cuyos costos exceden el total de gastos dedicados para la salud (2).

Aunque hay varios tratamientos que mejoran el estado hiperglicémico, característico de la enfermedad, hay una necesidad constante de desarrollar nuevas terapias con mejores efectos, menores efectos adversos a un menor precio (3).

Los alcaloides de las especies de *Lupinus* son buenos candidatos para ser usados como agentes hipoglicémicos. Estudios in vitro demuestran que los alcaloides quinolizidínicos del *Lupinus* tienen efectos secretagogos en islotes pancreáticos aislados de rata (4).

También, estudios en vivo en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina demostraron que la 2-tionospartina del *Lupinus* disminuye las concentraciones de glucosa plasmática (5).

Además, la administración intravenosa del alcaloide esparteína a sujetos con diabetes no insulino-dependientes disminuye las concentraciones de glucosa plasmática y aumentan las concentraciones de insulina (6). Al tomar esta información se demuestra que los alcaloides del *Lupinus* pueden ser usados como agentes hipoglicemiantes para tratar la Diabetes tipo II.

Uno de los principales problemas del uso de los alcaloides del *Lupinus spp* es su toxicidad. El principal efecto adverso posterior al consumo del alcaloide en dosis tóxica es de tipo neurológico, tal como la pérdida de coordinación motora y control muscular. La dosis letal del alcaloide de *Lupinus spp* en humanos es de aproximadamente 30 mg/kg peso (7). Hay información limitada acerca de la dosis tóxica de estos alcaloides en humanos. Sin embargo, en el estudio de Paolisso se describe el uso de una dosis de 240mg de sulfato de esparteína en individuos con sobrepeso moderado sin presentar toxicidad aguda (6). La dosis terapéutica del sulfato de esparteína es de 75 a 600mg/día (8). Datos alternativos indican que la dosis tóxica de los alcaloides quinolizidínicos para humanos adultos empieza desde los 25mg/kg peso (9).

Considerando el efecto hipoglicemiantes de los alcaloides del *Lupinus* así como su potencial toxicidad, el objetivo de este estudio es evaluar el efecto del consumo de *Lupinus mutabilis* crudo en la concentración de glucosa e insulina plasmáticas en individuos sanos así como en sujetos disglucémicos, y la valoración de los resultados por medio del Método

HOMA (Homeostatic model assesment) y la determinación de la resistencia a la insulina en la población estudiada (10).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La obesidad es un problema de salud pública global que está incrementando. Estudios recientes en la población de Ecuador indican que cerca del 50% de adultos tiene exceso de peso, y de éste el 15% tiene obesidad (11).

Un estudio reciente en ecuatorianos adolescentes mostró que aproximadamente 8% tienen obesidad y 15% sobrepeso (12, 13).

El exceso de peso y la obesidad se asocian a enfermedades crónicas no transmisibles tales como: hipertensión, síndrome metabólico, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y cáncer, quienes son las causas principales de muerte en todos los países del mundo incluyendo al Ecuador (14, 15).

Entre 1993 y 2003 el índice de mortalidad relacionado a problemas cardiovasculares y a la diabetes tipo 2, se duplicó en Ecuador (16). El costo económico y social para tratar la obesidad, enfermedades crónicas e infecciosas es muy alto, en Estados Unidos durante el año 2001 los costos fueron aproximadamente 123 billones de dólares (17). En países como el Ecuador existe una brecha en el sistema de salud que es exacerbada por la desnutrición y pobreza existentes.

Actualmente, el tratamiento farmacológico de la diabetes tipo 2 se ha enfocado en el uso de drogas hipoglicemiantes tales como sulfonilurea, biguanidas y tiazolidona. Por otra parte, hay

informes de varios compuestos vegetales con propiedades antidiabéticas. Específicamente, los del género *Lupinus* tienen un efecto hipoglicémico, aunque hay informes de la toxicidad, relacionado sobre todo con la alta concentración de alcaloides, las cuales se podrían reducir al mínimo según su preparación (18).

Lupinus mutabilis es una especie del lupino que crecen en los Andes con uso alimenticio. Los nombres vernáculos incluyen tarwi, tarhui, chocho, altramuz, altramuz andino, altramuz de América del sur, o altramuz perla. La semilla hueso-blanca tiene un contenido proteínico de aproximadamente 40% y la proporción de grasas del promedio es el 20% y ha sido consumida desde épocas antiguas, especialmente en sopas, ensaladas o sin otro tipo de guarniciones (19).

Aunque el efecto hipoglicémico en la diabetes se ha descrito en modelos animales y en algunas observaciones clínicas en seres humanos hay una falta de conocimiento con respecto a la preparación y dosificación óptimas del *Lupinus* para alcanzar un buen efecto con menos efectos secundarios (5).

Así el objetivo general de este ensayo clínico de fase 2 aleatorizado, controlado y ciego, es establecer la eficacia de *Lupinus mutabilis* como agente hipoglicémico en personas sanas y con disglucemia, y de esta forma establecer la preparación y la dosis óptimas para alcanzar un efecto hipoglicémico significativo.

Este estudio ayudará a clarificar la forma de administración y dosis del *Lupinus* para alcanzar un efecto hipoglicémico significativo y de ser establecido, otros estudios serán aplicados en

pacientes con diabetes tipo 2 y síndrome metabólico, Ya que a la vista trabajos publicados, se puede deducir que el *Lupinus* puede ser eficaz en el tratamiento de las hiperglicemias y ser utilizado en el Ecuador como estrategia de prevención a nivel primario, secundario y terciario.

Por lo que es necesario llevar a cabo este tipo de ensayos clínicos controlados, que aseguren su eficacia y seguridad. Por ello nuestra pregunta de investigación se plantea de la siguiente forma: **¿Es la respuesta hipoglicemiante significativa tras la administración oral de *Lupinus mutabilis* en pacientes sanos y en pacientes con disglucemia?**

MARCO TEÓRICO

Los avances en el campo científico que se han logrado en la última década, han dejado claro que la diabetes tipo 2 es un síndrome complejo que tiene una patogenia múltiple en donde coexisten elementos que señalan resistencia a la insulina, así como otros que apuntan a la deficiencia en la secreción de la misma por la célula beta (20).

Todo parece indicar que al inicio del proceso predominan los factores de resistencia y hacia el final de la historia natural del síndrome los elementos que resultan del agotamiento pancreático son los que dominan el cuadro clínico (21).

Por otro lado aun no ha sido posible dilucidar el mecanismo por el cual el llamado síndrome metabólico o síndrome de resistencia a la insulina determina la ocurrencia de hipertensión, dislipidemia con aterogénesis acelerada y disminución en la tolerancia a la glucosa con el desarrollo final de diabetes clínica (22).

Se acepta que deben existir factores genéticos, sin embargo a pesar de grandes esfuerzos aun no se ha podido identificar un gen que explique un porcentaje significativo de la varianza de diabetes. Esto no debe sugerir que no lo hay sino que probablemente es un síndrome que resulta de la interacción poligénica. Más aun, se ha demostrado que es muy importante la participación de factores medio ambientales y de estilo de vida en la aparición de la diabetes (23, 24).

Estos conocimientos básicos han podido ser ahora aplicados al cuidado de enfermos con diabetes así como han podido ser puestos al servicio del médico para que implemente estrategias exitosas de prevención de diabetes (25).

Los estudios ahora clásicos como el United Kingdom Diabetes Study (UKPDS) así como el Diabetes Prevention Program (DPP) son pilares en la práctica clínica de la diabetes. El primero demostró la inexorable tendencia al deterioro de la capacidad secretoria del páncreas que al ser eventualmente incapaz de producir la insulina que se requiere para mantener la homeostasis de la glucosa, exige con el tiempo el uso potentes hipoglicemiantes, al punto de requerir finalmente insulina para poder aspirar a mantener niveles razonablemente aceptables de glicemias (26, 27).

Estas investigaciones revelaron lo difícil que es lograr y mantener niveles óptimos de glucosa y al mismo tiempo cuán importante y determinante es el nivel de glicemia prevalente en la aparición y desarrollo de las complicaciones asociadas al descontrol de la diabetes (26).

La posibilidad de prevenir diabetes fue investigada por otros grupos de científicos en China y en Finlandia quienes concluyeron que es posible hacerlo. La investigación más ambiciosa y concluyente fue la que resultó del DPP que de manera categórica evidenció que es posible prevenir o retardar la aparición de la diabetes mediante el incremento en la actividad física, la baja de peso y el uso de metformina (27).

Esto es un argumento que se encuentra ahora en el terreno de la necesidad de implementar esta estrategia en el contexto de la realidad clínica y practicar así medicina basada en evidencia.

La Medicina Alternativa, sin embargo, constituye una valiosa contribución en la solución de problemas en la Salud Pública, los cuales son tan críticos como la falta de medicamentos, además de los altos precios de estos, en el mercado nacional e internacional que los hace inalcanzables para aquellas personas de menores recursos económicos, así como la gran diversidad de manifestaciones adversas y el incremento de interacciones medicamentosas (28).

Actualmente se están realizando estudios para evaluar los efectos de las diferentes plantas medicinales de acuerdo al uso popular que se les atribuye, e investigando los principios activos responsables de una determinada acción farmacológica. Sin embargo, la falta de conocimientos tecnológicos, el desconocimiento o inexistencia de métodos y procesos de control de calidad y estandarización, así como la falta de investigación y la dificultad para obtener plantas medicinales de buena calidad y en cantidades suficientes, se señalan como causas para la baja calidad de los productos latinoamericanos (29).

El *Lupinus mutabilis* es una leguminosa oriunda de los Andes Sudamericanos, las semillas previa eliminación del sabor amargo ‘desamargadas’ por medio de diversos métodos eficientes no complicados que garantizan su completa separación (En el Ecuador se ha trabajado en este aspecto (9), ya que es fuente económica para agricultores) ofrecen su principal uso: el alimenticio. En conocimiento, el poblador andino de nuestro país además le

da uso medicinal, en rituales culturales, en transformación, en forraje y como combustible (19).

En el Ecuador se conocen usos medicinales del “chocho” en la diabetes (harina sin desamargar hervida) (30), en afecciones renales (agua de *Lupinus* desamargado mas sal), disminución de los efectos del consumo de alcohol (consumo directo de granos de chocho desamargado en frío), Las hojas y semillas hervidas tomadas en infusión actúa como acelerador del trabajo de parto y en la mejora de sintomatología en la Artritis. La mayoría de lo enunciado es conocimiento tradicional mas no tienen fundamento científico específico (19).

Sin embargo se han realizado estudios con evidencia científica experimental acerca de esta semilla, por citar algunos:

El *Lupinus mutabilis* ha sido muy estudiado desde el punto de vista bromatológico (31, 32), y se le han atribuido usos en la Agricultura en diferentes preparaciones como fertilizante. En la avi, pici y porcicultura como regulador del crecimiento de animales, entre muchos otros (33, 34).

En Sudán-África estudios experimentales preliminares los cuales demostraron que el extracto alcohólico de las semillas del *Lupinus* tenía una actividad antieczematosa (35).

En Perú en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de Trujillo, se realizó un estudio del extracto alcohólico de la semilla en conejos, y se demostró que posee efecto antiinflamatorio (36).

Igualmente se le atribuyen propiedades antiulcerosas y preventivas del cáncer por los flavonoides, y hepatoprotectoras por sus saponinas por estudios en ratas (37), y se ha propuesto que tiene actividad hipocolesterolemia. en modelos con chanchos con hipercolesterolemia (38).

Por otra parte, el flavonoide genisteina y el alcaloide lupanina extraídos de preparados con las hojas de *Lupinus* tienen marcada acción antibacteriana y el último muestra además una actividad antifúngica (39, 40).

Se realizó un artículo de revisión sobre el contenido de alcaloides quinolizidinicos en proteínas aisladas (ingredientes de comida), en modelos de comida (bebidas, snacks, galletas y pasta) y en alimentos comerciales (sustituyentes de carne, pasta, entre otros) para determinar la concentración permitida de dichos alcaloides para consumo humano (200mg/kg) debido a efectos tóxicos que han sido descritos en mamíferos. Tales como: temblores, excitación y convulsiones, es decir efectos neurológicos que llevan a la pérdida de control muscular y coordinación motora (41).

La ingesta de semillas o de harina de *Lupinus* e incluso la inhalación de polvo de lupino puede provocar asma, reacciones alérgicas y anafilaxia (42, 43, 44).

Parece existir también una alergia cruzada entre lupino y maní; aproximadamente el 44% de niños alérgicos al maní dan respuestas positivas a lupino, por lo que la Comisión europea decidió incluirlo en la lista de alimentos alérgenos (45, 46).

En estudios mediante procesos químicos analíticos se ha podido definir claramente que la semilla del *Lupinus* tiene una gran cantidad de Alcaloides Quinolizidínicos (47), que varía de 0,02 a 4,45% y dichos alcaloides reportados son la Lupanina, Esparteína, 13-0H- Lupanina, 4-0HLupanina, Isolupanina, entre otros componentes secundarios como Esteroides, Saponinas (48).

La Esparteína y la Lupanina son algunos de los alcaloides Quinolizidínicos de *L. mutabilis*, que dan lugar a efectos farmacológicos (49).

Mediante estos estudios se logró comprobar que la Lupanina es más activa y su acción farmacológica es inmediata en comparación con la Esparteína, debido a que la Lupanina se difunde más rápidamente a través de las membranas biológicas, y la duración de su actividad es más corta que la Esparteína. Esto demuestra que dichos Alcaloides puros o en forma de sales (Clorhidratos y Sulfatos) administrados en dosis altas actúan como tóxicos, pero cuando se administran en dosis moderadas actúan como medicamento (49).

Desde el punto de vista farmacológico, los alcaloides, presentan actividad hipoglicemiante ya que causan un efecto secretagogo de insulina (50).

Teniendo en cuenta la necesidad actual del aprovechamiento de los recursos que nos brinda la naturaleza para el beneficio del hombre y que deben usarse en forma racional segura y efectiva, se han realizado estudios pre-clínicos de las semillas de *Lupinus mutabilis* con el objetivo de determinar dosis letales en ratones, y el efecto hipoglicémico se ha comprobado para algunas especies de lupino administrados por vía oral en animales con diabetes inducida experimentalmente (conejo, rata, ratón) (5).

Igualmente en conejos diabéticos y con niveles de colesterol elevados, se comprobó como la adición de semillas de lupino a su alimentación produjo una disminución de la hiperglucemia postprandial y del colesterol (49).

Efectivamente, el extracto acuoso de *Lupinus mutabilis* reduce significativamente los niveles de glucemia en ratas con diabetes inducida por aloxano. Los principios activos responsables de esta actividad hipoglucemiante podrían ser además de los alcaloides, los compuestos de naturaleza saponínica presentes en el, pues muchos de ellos han demostrado ser capaces de inhibir la gluconeogénesis hepática y la glucogenolisis y además son capaces de activar la producción de insulina o inducir un incremento en el metabolismo periférico de la glucosa (4, 51).

Por otra parte se ha comprobado que este extracto es capaz de normalizar los sistemas de detoxificación del organismo, anormalmente alterados en animales diabéticos. En dichos animales (ratas tratadas con aloxano) se observa, además de un incremento significativo frente al control en los niveles de glucosa, un aumento de la concentración de urea, creatinina y

bilirrubina mientras que la proteína total y la albúmina disminuyen. El tratamiento oral con extractos de lupino normaliza estas variaciones (51, 52).

La administración de los alcaloides de lupino puede disminuir el riesgo de hipoglicemia que se produce con algunos hipoglicemiantes orales que, estimulan la secreción de insulina en presencia de bajas concentraciones de glucosa (5).

La actividad hipoglicemiante puede ser debida también a la presencia de saponinas. Algunas especies de *Lupinus* contienen importantes concentraciones de saponinas. En concreto en *L. oreophilus* y *L. angustifolius* se ha detectado la presencia (5%) de saponinas triterpénicas con esqueleto del oleanano, entre ellas la soyasaponina también localizada en la soja, observando que el extracto acuoso de la variedad “dulce” que posee un bajo contenido en alcaloides, parece potenciar la liberación de insulina inducida por glucosa (4).

En islotes pancreáticos aislados de rata y ratón, tanto el extracto acuoso de lupino como la esparteína aislada, incrementan la liberación de insulina. En este efecto está implicada una disminución de la permeabilidad de Potasio de las células beta (4,5).

La actividad de la esparteína se ha estudiado también en humanos sanos (8) y en pacientes diabéticos insulino-dependientes y con diabetes tipo 2 (6). La administración intravenosa del sulfato de esparteína en personas sanas incrementa la secreción de insulina basal o inducida por glucosa y, en pacientes con diabetes tipo 1 aumenta la secreción de glucagón. En

diabéticos tipo 2, la esparteína estimula la secreción de las células beta, produciendo una caída en los niveles plasmáticos de glucosa (6, 8).

Recientemente se ha estudiado el efecto sobre la secreción de insulina de tres alcaloides aislados de lupinos: lupanina, 13-alfa-OH lupanina y 17-oxo-lupanina así como un compuesto derivado sintético: 2-tionosparteína, comprobándose *in vitro*, un incremento en la liberación de insulina inducida por glucosa. La intensidad del efecto depende de la concentración de glucosa en el medio y se debe, al menos en parte, al bloqueo de canales de K sensibles a ATP en células beta (5).

Cabe recordar que el estimulante más potente de la secreción de insulina es la glucosa, que entra a la célula β por difusión facilitada y es metabolizada dentro de la célula, proceso en el que se genera ATP. El cambio en la relación ATP/ADP produce el cierre de un canal de potasio sensible a ATP (KATP), lo cual causa que la membrana se despolarice y que se abran canales de sodio y de calcio. La entrada de calcio a la célula promueve la exocitosis de los gránulos de insulina y la secreción de insulina en respuesta a la glucosa es regulada por hormonas y neurotransmisores (53). Este bloqueo de los canales de potasio es una clave en la cadena de eventos que llevan a la liberación de insulina por varios secretagogos, de modo que esto explica la acción hipoglicemiante de los alcaloides quinolizidínicos, tal como fue comprobado en los estudio de García López (4, 6, 8).

Por otra parte, es de mucha importancia la determinación de la resistencia insulínica, la cuál es una disminución de la función biológica caracterizada por requerir un alto nivel de

insulina plasmática para mantener la homeostasis metabólica. Está involucrada en la etiología de varias entidades como la enfermedad coronaria, la hipertensión arterial y de nuestro interés, la diabetes mellitus tipo 2 (54). Este hecho justifica la necesidad de contar con un método simple para su determinación que permita identificar individuos de riesgo en la población general (55).

La valoración cuantitativa de la resistencia a la insulina y de la secreción de ésta reviste gran importancia en el estudio del metabolismo hidrocarbonado. Se han propuesto distintos métodos experimentales con el fin de estudiar estos procesos, que varían en complejidad y en su interpretación (54).

Es sabido que el *clamp* euglicémico es la técnica más válida para medir la acción de la insulina *in vivo* principalmente porque provee información acerca de la cantidad de glucosa metabolizada por los tejidos periféricos durante la estimulación con insulina. La metodología del *clamp* ha sido desarrollada y ampliamente utilizada por De Fronzo y cols (56). Es considerado el gold standard de los métodos. No obstante, el *clamp* tiene algunas desventajas que no permiten aplicarlo a grandes poblaciones ya que es una técnica laboriosa e invasiva que requiere instrumental sofisticado y adiestramiento especial (57).

También se han utilizado otros métodos para la evaluación de la sensibilidad a la insulina, como el test de tolerancia intravenosa a la glucosa con toma de múltiples muestras (FSIGT, por sus siglas en inglés), pero en líneas generales resultan complicados, costosos y de difícil aplicación en grandes estudios (58, 59).

Debido a los inconvenientes técnicos y de interpretación que presentan estas pruebas, se ha desarrollado otra serie de métodos más sencillos que se fundamentan en medidas basales y que pueden ser utilizados para evaluar la sensibilidad a la insulina y la secreción de insulina en grandes poblaciones (60, 61).

La concentración plasmática de la glucosa y de insulina en condiciones de ayuno es característica de cada persona. Las concentraciones de ambas se encuentran íntimamente conectadas, de modo que cuando se produce un cambio en una de ellas la otra experimenta una modificación para compensar el cambio. Dichos procesos (resistencia a la insulina y secreción de insulina) se encuentran relacionados de forma inversa, y es aconsejable el estudio simultáneo de ambos (59, 60, 61).

Entre los distintos métodos basados en medidas basales figura el Homeostatic Model Assessment (HOMA), un modelo matemático ampliamente utilizado en numerosos estudios que fue descrito por primera vez en 1985 por Matthews y cols (62).

El HOMA tiene una ventaja adicional, ya que, además de la resistencia a la insulina (HOMA-IR), permite valorar la funcionalidad de la célula beta (HOMA-B). El cálculo está basado en la relación entre la glucemia basal y los niveles de insulina, evaluando el balance entre la producción hepática de glucosa y la secreción de insulina. Estos valores de glucosa e insulina son modificados por unos valores numéricos, calculados a partir de los modelos matemáticos

originales y que hacen que estas fórmulas tengan una buena correlación con los resultados obtenidos mediante el clamp euglicémico-hiperinsulinémico (61, 62).

El HOMA es un modelo en el que al analizar los diferentes elementos que intervienen en la homeostasis de la glucosa y que también influyen en la secreción de insulina, se elabora un gráfico donde se representa la concentración de insulina plasmática en ayunas frente a la concentración de glucosa en ayunas que se esperaría obtener en los diferentes grados de deficiencia secretora de la célula beta y de resistencia a la insulina (63). De esta forma se puede estimar, gracias al gráfico, el grado de resistencia a la insulina y la función de la célula beta que se esperaría tuviera cualquier paciente conociendo su glucemia e insulinemia.

Estos modelos han sido utilizados para calcularse a partir de las distintas combinaciones de glicemia frente a insulina plasmática (64, 65) en estado fisiológico de los diversos procesos del organismo implicados en la regulación del metabolismo de la glucosa (66, 67). Como han señalado recientemente Wallace y cols. (10) la curva original de respuesta de la célula beta se realizó basándose en una serie de suposiciones sobre el estado metabólico del individuo. Estos modelos se obtuvieron experimentalmente a partir de estudios realizados tanto en animales como en humanos (10).

En un individuo que estuviese completamente sano, con un índice de masa corporal normal y sin antecedentes familiares de diabetes mellitus, se presume que el HOMA-B se situaría alrededor del 100% y el HOMA-IR estaría muy cercano a 1. Valores por encima de 1 representarán un nivel creciente de resistencia a la insulina. Sin embargo, cada estudio debe

establecer su propio valor de normalidad para el HOMA-IR en una población de sujetos normoglicémicos. Por ejemplo, como pudo comprobarse en un estudio realizado en San Antonio (Texas, EE.UU.) (68), se han encontrado diferencias significativas en la resistencia a la insulina medida mediante el HOMA entre mexicanos y blancos no hispanos, tanto en individuos sanos como en pacientes con intolerancia a la glucosa o con diabetes. Esto evitaría posibles errores cuando se comparan estudios procedentes de diferentes áreas.

Recientemente, los mismos autores que propusieron el uso del HOMA como medida de la resistencia a la insulina y la funcionalidad de la célula beta han corregido dichos modelos matemáticos, ya que los creadores del HOMA son conscientes de que las ecuaciones originales del HOMA-IR y HOMA-B pueden sistemáticamente infravalorar la sensibilidad a la insulina y sobreestimar la función de la célula beta. Una de las causas fundamentales por las que se produce este error es que el modelo HOMA fue calibrado con los métodos de análisis de insulina utilizados en 1970, y estos métodos han cambiado de forma considerable en las últimas décadas (10).

Los nuevos modelos que proponen (HOMA2) se alejan de la relación lineal entre glucosa e insulina y ofrecen modelos más complejos elaborados con un programa informático (69).

En el HOMA2 se han introducido una serie de modificaciones, como por ejemplo el incremento de la resistencia hepática, el incremento de la curva de secreción de insulina para unas concentraciones de glucosa por encima de 180 mg/dL, la contribución de la proinsulina circulante y las pérdidas renales de glucemia. El HOMA2 daría un valor de sensibilidad a la

insulina, en vez del de resistencia a la insulina (HOMA2 %S, donde el 100% es el valor normal), y una valoración de la función de la célula beta (%B) (68, 69).

Los cambios introducidos hacen que este nuevo modelo pueda usarse para determinar la sensibilidad a la insulina y la función de la célula beta en un rango de 1-300 UI/L para la insulinemia y de 20-450 mg/dL para la glucemia. Es decir, ajustan el modelo para su utilización en situaciones de hiperinsulinemia y/o hiperglucemia bastante elevadas (68). También realizan cambios teniendo en cuenta la mejora experimentada en los distintos métodos analíticos empleados para medir la insulina y el péptido-C plasmático (67).

Una forma de obtener una mayor validez del HOMA original es calcularlo con la media de varias determinaciones basales. Cuando se utiliza el modelo HOMA original, el uso de una única medida basal aporta un coeficiente de variación intraindividual del 10,3% para el HOMA-IR y del 7,7% para el HOMA-B (10). Cuando se utiliza la media de tres determinaciones basales de glucosa e insulina, estos coeficientes de variación disminuyen al 5,8 y el 4,4%, respectivamente. Sin embargo, estas diferencias en los coeficientes de variación no se observan cuando se utiliza el nuevo HOMA2 corregido ($r= 0,99$; $p= 0,0001$) (10).

El HOMA es un índice que puede utilizarse en estudios clínicos y epidemiológicos para la descripción del metabolismo hidrocarbonado, e incluso en sujetos con diferente grado de tolerancia a la glucosa. Su empleo en numerosos estudios lo ha convertido en uno de los principales índices para medir la resistencia a la insulina y, en menor medida, la funcionalidad de la célula beta. Estos índices se han utilizado también para predecir una posible alteración

futura de la tolerancia a la glucosa. Por ejemplo, se ha comprobado que un HOMA-IR alto y un HOMA-B bajo se asocian a un incremento de la prevalencia de intolerancia hidrogenada y diabetes en diferentes etnias (68, 69).

Los índices HOMA-IR y HOMA-B deben utilizarse conjuntamente para evitar interpretaciones erróneas, especialmente en el caso del HOMA-B. Esto es debido a la relación existente entre la resistencia a la insulina y la función de la célula beta. Por ejemplo, si la resistencia a la insulina baja, la función de la célula beta disminuye también. Sin embargo, la medida aislada de este HOMA-B se podría interpretar como un fallo en la función de la célula beta (10).

Las fórmulas propuestas para el cálculo del HOMA-IR y HOMA-B son:

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulina en ayunas } (\mu\text{UI/mL}) \times \text{glucosa en ayunas (mmol/L)} / 22,5$$

$$\text{HOMA-B} = 20 \times \text{insulina en ayunas } (\mu\text{UI/mL}) / (\text{glucosa en ayunas [mmol/L]} - 3,5)$$

En los últimos años, este método ha sido utilizado en varios estudios clínicos y epidemiológicos, utilizando en todos ellos individuos sanos para establecer rangos de normalidad (10, 64, 67).

JUSTIFICACIÓN

Como anteriormente fue mencionado, el impacto de las enfermedades disglucémicas es importante para los sistemas de salud de todos los países del mundo, más aun para aquellos en vías de desarrollo tal como es el Ecuador, por los altos gastos y los escasos recursos (2).

Tradicionalmente los países andinos, más específicamente en la sierra, se consume el *Lupinus mutabilis* no solo por su bajo costo, sino por su alto contenido nutricional de proteínas, grasas, carbohidratos y minerales, los cuales pueden sustituir a alimentos principales como la carne, huevos y leche. Se lo asocia con maíz, ceviche, ají, entre otros que son muy populares entre la población (19).

La evidencia actual indica que el efecto hipoglicémico del lupino se puede deber a dos compuestos diferentes del grano, el alcaloide que puede actuar estimulando la secreción de insulina, y su contenido proteínico del cual su mecanismo de acción no ha sido establecido (4).

Aunque este efecto ha sido descrito en modelos animales con diabetes y pocas observaciones clínicas en humanos hay una falta de conocimiento en cuanto a la forma, especie y dosis de *Lupinus* que ofrezca el mejor efecto hipoglicémico posible (18).

Por ello nuestra propuesta es establecer la eficacia de *Lupinus mutabilis* como un agente hipoglicémico en dos grupos de pacientes, sanos y disglucémicos.

Si se encuentra un efecto hipoglicémico importante se puede usar en estrategias de prevención primaria, secundaria y terciaria para la diabetes tipo II.

Para prevención primaria, la estrategia es promover el consumo en la población general. Como prevención secundaria, la estrategia es promover su uso en personas con alto riesgo de desarrollar diabetes, hipertensión tales como lo son las que padecen de síndrome metabólico, y aquellas con antecedentes patológicos familiares de parientes en primer grado con diabetes. Y como prevención terciaria, el *Lupinus mutabilis* puede ser usado como un complemento al tratamiento farmacológico actual de la diabetes tipo II, para disminuir la dosis, toxicidad y costo de dichos tratamientos o en casos de diabetes leve como tratamiento único.

Consecuentemente, es importante establecer la forma ideal de consumo y dosis de *Lupinus mutabilis* para alcanzar el efecto hipoglicémico en términos de secreción de insulina.

HIPÓTESIS

La administración oral de *Lupinus mutabilis* tendrá una respuesta hipoglicémica en pacientes sanos y en pacientes disglucémicos. A mayor dosis mayor efecto y la preparación cruda tendrá mayor efecto.

Hi: La administración de *Lupinus mutabilis* provoca un efecto hipoglicémico en pacientes sanos y disglucémicos.

Ho: La administración de *Lupinus mutabilis* no provoca un efecto hipoglicémicos en pacientes sanos y disglucémicos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Establecer la eficacia de *Lupinus mutabilis* como agente hipoglicémico en sujetos sanos y disglucémicos.

Objetivos Específicos

1. Identificar la mejor preparación de *Lupinus mutabilis* asociada al mayor efecto hipoglicémico.
2. Determinar la dosis de *Lupinus mutabilis* que produzca el mayor efecto hipoglicémico.
3. Evaluar el efecto hipoglicémico, por medio de análisis sanguíneo de glucosa e insulina, y la determinación del HOMA (Homeostatic Model Assesment) de la resistencia de la insulina, en las dos poblaciones tras la administración de *Lupinus mutabilis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

El Comité de protección de sujetos humanos de la Universidad San Francisco de Quito, Quito Ecuador, aprobó este estudio. Cada participante firmó un consentimiento informado posterior a recibir la explicación del estudio y sus posibles consecuencias (ver Anexos).

Participantes y diseño del estudio

Un ensayo clínico fase II fue conducido en dos diferentes poblaciones.

El primer grupo fue constituido por individuos jóvenes normosómicos. La mayoría de ellos fueron estudiantes voluntarios de tercer año de Medicina.

El segundo grupo fue formado por voluntarios con niveles de glucosa mayor a 100 mg/dL. La mayoría de voluntarios de este segundo grupo fueron ya sea familiares en primer grado de pacientes con Diabetes tipo II o sujetos con sobrepeso u obesidad, quienes fueron reclutados en la unidad de Endocrinología del centro de salud (Unidad Municipal de Salud del Norte).

Para comparación con cada una de las poblaciones indicadas se conformó un grupo de control el cual recibió soya cruda.

Los sujetos que cumplieron con los criterios de inclusión fueron asignados aleatoriamente en proporción de tres a uno para recibir *Lupinus* y soya respectivamente.

Fuente de Lupinus mutabilis y Soya

Lupinus mutabilis es una de las variedades más abundantes y una leguminosa muy popular consumida en el Ecuador. *Lupinus mutabilis* línea 450 fue cosechada entre Septiembre y Octubre del 2007 en Cotopaxi, la cual es una provincial del Ecuador (INIAP Ecuador).

Los *L. mutabilis* fueron cosechados a mano cuando el grano tuvo aproximadamente 17% de humedad. Los granos fueron deshidratados sobre una plataforma de cemento por aproximadamente 48 horas hasta alcanzar 13% de agua. Posteriormente fueron colocados en sacos y almacenados en una ambiente seco a temperatura de 17 – 20°C. Después de molerlo hasta realizar un polvo de 300 micrones (realizado en la instalación del Laboratorio CC en Ambato, Ecuador) *L. mutabilis* fue encapsulado en cápsulas de gelatina por dicho laboratorio. No se añadió rellenos ni aglutinantes al polvo.

Los granos de soya se compraron en una supermercado local y fueron procesados en una forma similar a la de *L. mutabilis*.

Dosis de Lupinus mutabilis

L. mutabilis o soya crudos fueron administrados en cápsulas de gelatina conteniendo 400mg de polvo de lupinus o 300mg de soya molida.

Las cápsulas fueron idénticas en su presentación y fueron amablemente preparadas por (CC-Laboratorios, Quito - Ecuador).

Cantidades similares de los dos preparados fueron administradas según el peso de los voluntarios.

Para estimar la dosis de *L. mutabilis*, la dosis terapéutica (75 a 600mg/día) y la tóxica (25mg/kg) fueron consideradas (7, 8).

De esta manera, se estimó que 3,125 mg/Kg peso era seguro para el ensayo. La cantidad de granos que contienen 3,125 mg del alcaloide fue de 98, 4 gramos.

La cantidad de alcaloide presente en *L. mutabilis* crudo fue medido previamente como se describe anteriormente y está indicado en la Tabla 1 (70).

Tabla 1. Contenido de Alcaloides de *Lupinus mutabilis*.

Type of Sample		
Grano crudo con cáscara	3,26+/-0,135	Contenido en porcentaje (% P/P*)
Grano cocido con cáscara	0,75 +/- 0,02	
Grano cocido sin cáscara	0,3034 +/- 0,008	
Agua usada para cocinar el grano crudo	2,09	(% V/V**)

*P/P: peso/peso

** V/V: volumen/volumen

Medidas antropométricas

Para determinar el peso y la altura de cada participante se utilizaron escalas clínicas estandarizadas. Dichas variantes fueron tomadas con los participantes usando ropa liviana, sin zapatos (13). La medida de cintura fue realizada con una cinta métrica de plástico con ropa liviana. Con el sujeto de pie la medida se realizó en el pliegue entre la última costilla y la cresta iliaca pasando por el ombligo. Las medidas fueron tomadas al final de la espiración no forzada. Se tomó una segunda medida y el promedio de estas fue registrado.

Glucosa, insulina y el Modelo para la determinación del índice de resistencia a insulina según el HOMA (homeostasis model assessment-estimated insulin resistance HOMA, por sus siglas en inglés)

La glucosa sérica fue medida usando el método de glucosa oxidasa (Roche - Diagnóstico) usando el sistema analizador automático Hitachi Roche - 917.

La insulina sérica fue determinada usando inmunoensayo electroquímioiluminicencia (ECLIA por sus siglas en inglés) siguiendo las instrucciones del fabricante (Roche/Hitachi, Quito-Ecuador) y la emisión quimioiluminicente fue medida usando un sistema analítico automático ELECSYS 2010 (Roche Diagnostics, Quito - Ecuador).

Las determinaciones de glucosa e insulina fueron llevadas a cabo en el Laboratorio NetLab, el cual mantiene sistemas de control de calidad internos y externos (Colegio de Patólogos Americanos, Sociedad Brasileira de Patólogos Clínicos, SBOC).

Los valores del HOMA 2 fueron calculados usando una fórmula modificada de Wallace et al, Glucosa plasmática preprandial (mg/dL) multiplicado por insulina sérica preprandial (mU/ml) y dividida para 405 (10).

De tal modo: $HOMA\ IR = \text{glucosa en ayunas} \times \text{Insulina en ayunas} \times 0,0024666$
Interpretándose: Rango normal: 2,1-2,7. Alteración tolerancia: 4,3-5,2. Diabetes tipo 2: 8,3-9,5.

El mismo cálculo fue realizado usando los valores de glucosa e insulina obtenidos a los 60 y 90 minutos posteriores a la ingesta de *Lupinus* o soya.

Muestras de sangre

Las muestras de sangre en ayunas fueron tomadas por personal calificado en la mañana entre 8am, y 10am luego de un ayuno de 12 horas de los participantes. Las muestras fueron centrifugadas por dos horas y alicuotadas. En adición a la muestra basal, dos muestras fueron tomadas a los 60 y 90 minutos posteriores al tratamiento. Los efectos hipoglicémicos del alcaloide del *Lupinus* fueron observados en menos de 2 horas de su administración (6).

Tratamientos

Basados en las dosis tóxicas reportadas de los alcaloides de *L mutabilis* (25 mg/Kg) una dosis de 3.1 mg/kg peso fue considerada segura por lo que fue usada en este estudio.

El grupo de control recibió soya en una cantidad que corresponda a la de *Lupinus*.

Estadísticas

Las estadísticas descriptivas tales como la media, desviación estándar y porcentajes fueron calculados. Dado la naturaleza de estos datos se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas.

La prueba de Kruskal Wallis fue usada para determinar la significancia para la diferencia entre los grupos. La prueba de Wilcoxon fue utilizada para valorar las diferencias dentro de los grupos de tratamiento.

RESULTADOS

Los datos indican que no hubo diferencias estadísticamente significantes entre los grupos normoglicémicos y disglucémicos en las variables demográficas/antropométricas. Sin embargo, hubo diferencias estadísticamente significantes entre los grupos normoglicémicos y disglucémicos en todas las variables indicadas en la Tabla 2.

Tabla 2. Variables Demográficas Comparadas por Grupos

	Tratamiento	Edad (años)	Género Femenino (%)	Peso (Kg.)	Altura (mts.)	IMC (Kg./mts ²)	Cintura (cm.)
Normoglicémicos	<i>L. mutabilis</i>	21,8±2,6	4/16 (25)	64,8±11,2	1,71±0,1	22,1±2,9	77,5±8,1
	Soy	23,8±0,8	2/5 (40)	68,2±21,0	1,73±0,1	22,5±4,4	79±14,6
Disglucémicos	<i>L. mutabilis</i>	55,8±12,0	12/17 (70,6)	74,9±17	1,54±0,01	31,5±6,2	98±13
	Soy	58,4±4,9	5/7 (71,4)	87,3±17	1,56±0,01	36,1±6,5	111,2±18,4

Efecto de Lupinus mutabilis en la glucosa e insulina sanguínea en voluntarios sanos

Veintiún voluntarios sanos fueron asignados aleatoriamente a consumir lupinus (N=16) o soya (N=5). Los sujetos fueron admitidos en el Hospital de los Valles después de una noche en ayuno.

Luego de realizar una Historia clínica breve y de la toma de medidas antropométricas se tomó la primera muestra de sangre. Subsecuentemente, la dosis calculada (referirse a Sujetos y métodos) de *L mutabilis* o soya fueron administrados a cada participante.

Posterior al tratamiento se tomaron muestras de sangre a los 60 y a los 90 minutos. Las muestras fueron procesadas como ya se indicó y la glucosa e insulina fueron medidas.

La Tabla 3 muestra la concentración media de estos parámetros antes y después del tratamiento con *L mutabilis* o soya.

Tabla 3. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes normoglicémicos tratados con *Lupinus* o soya.

Tratamiento	GLUCOSA 0 MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 60 MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 90 MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	<i>P</i> – value 0 vs. 60 min	<i>P</i> – value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=16)	82,8 ± 6,2	81,3 ± 6,6	80,3 ± 5,2	0.36	0.08
Soya (N=5)	83,4 ± 5,8	80,0 ± 9,3	81,4 ± 9,7	0.35	0.89
	INSULINA 0 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 60 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 90 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	<i>P</i> – value 0 vs. 60 min	<i>P</i> – value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=16)	7,3 ± 3,7	7,8 ± 3,6	6,5 ± 4	0.44	0.37
Soya (N=5)	10,4 ± 9,7	10,5 ± 9,6	6,8 ± 6,8	1.00	0.14

Los datos de dicha tabla indican que el consumo de *L mutabilis* o soya no inducen cambios estadísticamente significativos en la glucosa o insulina después de los 60 y 90 minutos de tratamiento dentro del grupo de voluntarios sanos.

Posteriormente, el potencial efecto hipoglicémico de *L. mutabilis* fue evaluado en voluntarios con concentraciones elevadas de glucosa preprandial que no reciben ningún tipo de tratamiento hipoglicémico.

Efecto de Lupinus mutabilis en la glucosa e insulina sanguínea en voluntarios disglucémicos

Los voluntarios para esta fase del estudio fueron parientes en primer grado de pacientes con Diabetes o con sobrepeso u obesidad. La mayoría de los participantes fueron reclutados en una Unidad endocrinológica. Veinticuatro voluntarios fueron asignados aleatoriamente para consumir *L. mutabilis* (N=17) o soya (N=7) y fueron tratados similarmente que el grupo de voluntarios sanos que eran normoglicémicos tal como se describe previamente.

Las comparaciones dentro de los grupos indican que el consumo de *L mutabilis* disminuye la concentración de glucosa sanguínea a los 60 minutos, pero la disminución no fue estadísticamente significativa. Sin embargo, la ingesta de *L mutabilis* produjo un descenso significativo de la insulina sérica a los 90 minutos del tratamiento.

No se observaron otros cambios estadísticamente significativos posterior al tratamiento con *L. mutabilis*. Por otra parte la ingesta de soya no causó ningún cambio ni en la glucosa o insulina durante el estudio, como se observa en la Tabla 4.

Tabla 4. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes disglucémicos tratados con *Lupinus* o soya.

Tratamiento	GLUCOSA 0 MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 60MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 90MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	P – value 0 vs. 60 min	P – value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=17)	107,5 \pm 14,4	103,4 \pm 7,2	105,3 \pm 6,8	0,08	0,51
Soya (N=7)	102,3 \pm 6,4	100,6 \pm 4,8	102,9 \pm 7,0	0,35	0,92
	INSULINA 0 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 60 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 90 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	P – value 0 vs. 60 min	P – value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=17)	13,3 \pm 16,0	9,9 \pm 8,4	9,3 \pm 7,7	0,12	0,00
Soy (N=7)	15,7 \pm 8,9	18,4 \pm 9,2	11,7 \pm 7,0	0,06	0,18

Un análisis de cerca de los datos indican que la mayor variabilidad en las concentraciones de glucosa e insulina se observaron en individuos que consumieron *L. mutabilis* y en quienes la concentración de glucosa era mayor de 100 mg/dL.

El análisis estadístico de las variaciones en la glucosa e insulina sanguínea en sujetos con una glucosa mayor a 100 mg/dL se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Comparación de la concentración de insulina y glucosa sanguíneas en pacientes disglucémicos tratados con *Lupinus* o soya con nivel basal de glucosa ≥ 100 mg/dL.

Tratamiento	GLUCOSA 0 MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 60MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	GLUCOSA 90MIN $\mu \pm DE$ (mg/dL)	<i>P</i> - value 0 vs. 60 min	<i>P</i> - value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=12)	114,2 \pm 11,6	105,4 \pm 5,6	107,8 \pm 5,6	0,00	0,03
Soya (N=5)	105,2 \pm 5,0	102,4 \pm 4,3	104,2 \pm 6,7	0,28	0,46
	INSULINA 0 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 60 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	INSULINA 90 MIN $\mu U \pm DE$ (mg/dL)	<i>P</i> - value 0 vs. 60 min	<i>P</i> - value 0 vs. 90 min
<i>Lupinus</i> (N=14)	15,1 \pm 18,6	11,0 \pm 9,6	10,0 \pm 8,9	0,15	0,00
Soya (N=5)	12,2 \pm 5,5	14,4 \pm 5,2	8,4 \pm 4,8	0,23	0,23

Dicha tabla muestra que estos sujetos tuvieron una disminución significativa de la concentración de glucosa a los 60 y 90 minutos del tratamiento, además las concentraciones de de insulina también disminuyeron significativamente en comparación de los niveles basales a los 90 minutos.

El consumo de soya no provocó cambios en los niveles de glucosa ni de insulina, como se demuestra en la Figura 1 paneles C y D.

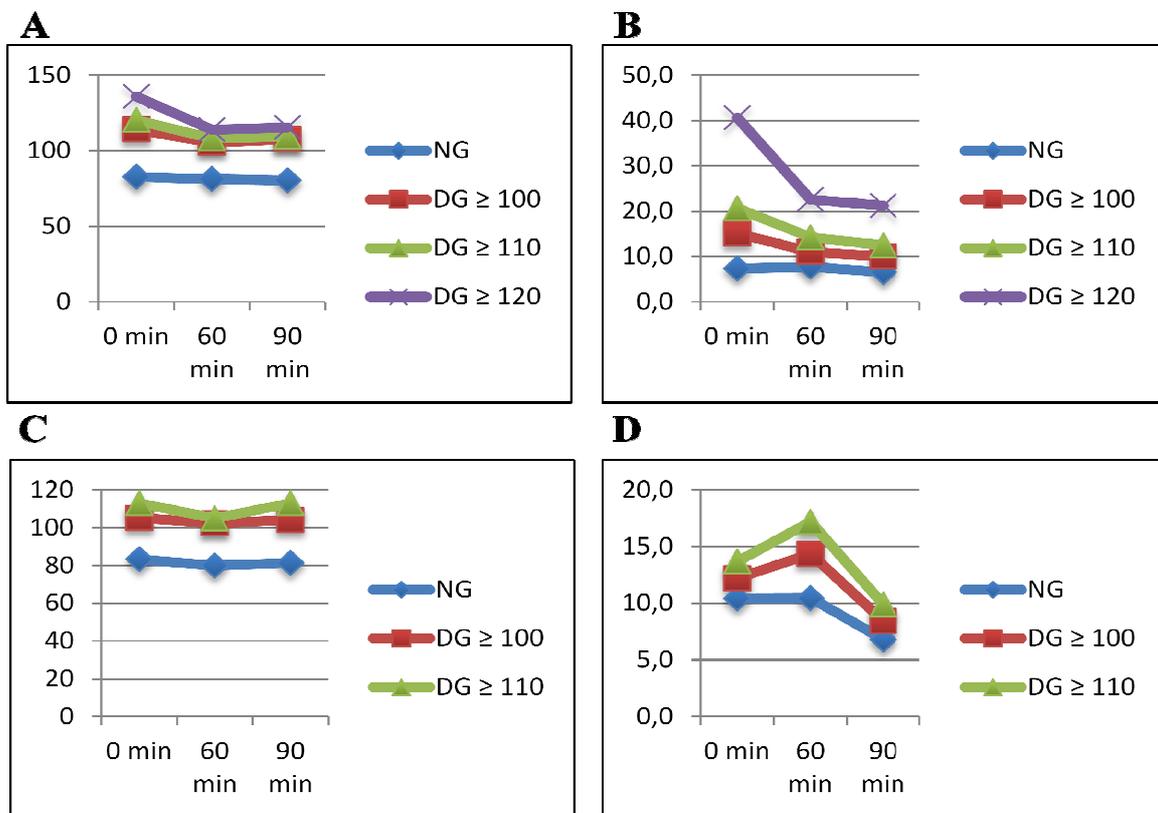


Figura 1. Niveles sanguíneos de glucosa e insulina en voluntarios tratados con *Lupinus* o soya. Panel A glucosa y B insulina, Grupo de *Lupinus*. Panel C glucosa y D insulina, Grupo de soya. NG = normoglicémico; DG = disglucémico

Diferencias entre los grupos de tratamiento

Las comparaciones realizadas entre los grupos que consumieron *L mutabilis* con los que consumieron soya muestran que no hay diferencias estadísticamente significativas en los niveles de glucosa.

Sin embargo, es notorio que en individuos con disglucemia severa que consumieron *L mutabilis* hubo una disminución significativa en los niveles de glucosa a los 90 minutos, como lo demuestra la Figura 1 panel A, mientras que en el grupo que consumió soya no la hubo, Figura 1 panel C.

Los datos de concentración de insulina muestran que solo en el grupo disglucémico hubo una diferencia significativa entre los tratamientos de *L. mutabilis* y soya a los 60 minutos ($p = 0.039$).

La figura 1 panel B vs. D indican que en individuos normoglicémicos hubo cambios mínimos en la concentración de insulina luego de la ingesta de *L. mutabilis* o soya, mientras que en los voluntarios disglucémicos las concentraciones de insulina disminuyeron con el consumo de *L. mutabilis* mientras que la concentración de insulina en el grupo de la soya aumentó. Es más, hubo un efecto inhibitorio progresivo de *L. mutabilis* en la insulina sérica que fue dependiente de la concentración basal de glucosa. Mientras mas alto el nivel de glucosa basal mayor fue el efecto inhibitorio de *L. mutabilis* en el nivel de insulina a los 60 y 90 minutos post tratamiento.

Para evaluar los cambios en la resistencia a la insulina en los grupos de tratamiento se utilizó el *Homeostatic model assessment* (HOMA). El HOMA indica los grados de resistencia de insulina (IR) basados en los niveles de glucosa e insulina en ayunas (Wallace et al., 2004).

Se conoce que solo las concentraciones en ayunas de glucosa e insulina se usan para estimar el HOMA. Sin embargo, para valorar el efecto potencial del consumo de *L. mutabilis* en la resistencia a la insulina el HOMA 2 fue también calculado a los 60 y 90 minutos posteriores al tratamiento. Valores de HOMA-IR mayores a 4,3 son anormales e indican intolerancia a la glucosa o Diabetes tipo II.

Los datos indican que en individuos normoglicémicos los valores de HOMA fueron mantenidos en el rango normal posterior al consumo de *Lupinus* o soya, como demuestra la Figura 2 paneles A y C.

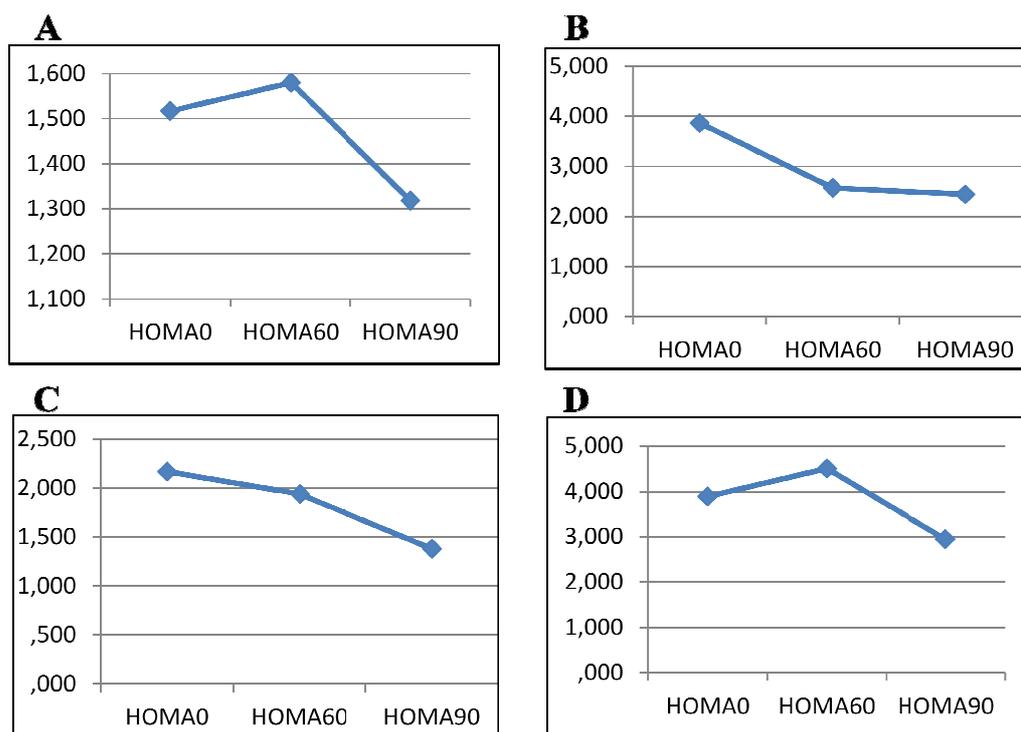


Figura 2. HOMA en voluntarios tratados con *Lupinus* o soya. Panel A sujetos normoglicémicos, grupo de *Lupinus*. Panel B sujetos disglicémicos, grupo de *Lupinus*. Panel C sujetos normoglicémicos, grupo de soya. Panel D sujetos disglicémicos, grupo de soya.

Por otra parte, en individuos disglicémicos que consumieron *L. mutabilis* hubo una disminución en el HOMA-IR a los 60 y 90 minutos, Figura 2 panel B.

En el grupo disglucémico de *L. mutabilis* el valor significativo de HOMA-IR fue de un franco valor basal anormal a valores normales a los 60 y 90 minutos del tratamiento, Figura 2 panel B.

Además, en sujetos disglucémicos que consumieron soya mostró inicialmente un aumento luego de los 60 minutos y subsecuente una disminución a los 90 minutos en los valores HOMA-IR, Figura 2 panel D. En este último grupo, HOMA-IR siempre se mantuvo en el rango anormal.

Algunos pacientes que recibieron *L. mutabilis* experimentaron mareo, hipotensión y visión borrosa.

10 de 33 sujetos que consumieron *L. mutabilis* reportaron mareo transitorio. En el grupo de normo-glicémicos 2 de 21 (9.5%) y en el grupo disglucémico 8 de 24 (30.3%).

2 de los individuos con disglucemia que reportaron mareo presentaron hipotensión y 1 de ellos visión borrosa.

Ninguno de los voluntarios que consumieron soya reportaron algún efecto adverso.

DISCUSIÓN

Los datos presentados muestran que el consumo de *L. mutabilis* por individuos jóvenes sanos de peso normal no cambió significativamente los niveles de glucosa e insulina sanguíneos.

Por otra parte, el consumo de dosis similares de *L. mutabilis* por individuos disglucémicos (glucosa en ayunas > 100 mg/dL) disminuyeron significativamente los niveles de glucosa e insulina sanguínea.

El efecto de *L. mutabilis* fue mayor en aquellos pacientes con niveles elevados de glucosa basal.

Los efectos inhibitorios de *L. mutabilis* no se observaron en los grupos de control que consumieron soya. Además, una reducción significativa en los niveles de insulina se observaron en el grupo de *L. mutabilis* comparado con el grupo de soya a los 60 minutos del tratamiento.

Solo el tratamiento con *L. mutabilis* mejoró la resistencia a la insulina en los sujetos disglucémicos mientras que los fueron tratados con soya, no. Estos datos demuestran que el consumo de *L. mutabilis* tiene efectos metabólicos importantes.

Trabajos previos in vitro y en vivo indican que los alcaloides de *lupinus spp* causan efectos metabólicos importantes, los cuales concuerdan con el presente repote. Así, García Lopez et al

reporta que los alcaloides quinolizidínicos del *lupinus spp* inducen la liberación de insulina de los islotes pancreáticos de ratas normales (4). Este efecto secretagogo fue mayor en islotes cultivados con concentraciones altas de glucosa que en islotes cultivados con concentraciones bajas. Sin embargo, algunos alcaloides, como el 2-tionoesparteina, inducen a la secreción de insulina incluso en aquellos islotes cultivados en medios con concentraciones bajas de glucosa. Y, alcaloides como la lupanina el alcaloide más abundante de *L. mutabilis*, solo induce a la liberación de insulina por los islotes que son cultivados en concentraciones altas de glucosa (4).

En el presente estudio, los alcaloides de *L. mutabilis*, incluyendo la lupanina, disminuyeron los niveles de glucosa sanguínea únicamente en individuos con niveles altos de glucosa.

Esta observación fue evidente en un voluntario con glucosa en ayunas de 143 mg/dL en el cuál su glicemia cayó a 112 mg/dL a los 90 minutos del consumo de *Lupinus*. Esto representa una disminución del 22% de glucosa en sangre.

En un modelo en vivo de diabetes inducida por estreptozotocina la inyección intraperitoneal de alcaloides quinolizidínicos provocaron un descenso en las concentraciones de glucosa (5). En dicho estudio no todos los alcaloides mostraron el mismo efecto hipoglicémico. De esta forma, en animales con diabetes tratados únicamente con lupanina no hubo una disminución en la glucosa sanguínea, mientras que en los tratados con 2-tionoesparteina hubo una disminución importante en la glucemia a los 90 y 120 minutos posterior a la administración del alcaloide (5). Esta disminución de la glucosa fue similar a la observada posterior al

tratamiento con glibenclamida, una droga comúnmente usada para disminuir la glucemia. Sin embargo, la administración de alcaloides quinolizidínicos a ratas no diabéticas no provocaron cambios en las concentraciones de glucosa (5).

Con respecto a la insulina solo la administración de 2-tionoespartaina aumentó significativamente los niveles plasmáticos de insulina en animales no diabéticos, en aquel estudio el tratamiento con el alcaloide aumentó los niveles de insulina sanguíneos aunque el aumento no fue significativo (5).

Estudios clínicos en voluntarios sanos o en individuos con Diabetes tipo II han demostrado que la administración intravenosa de alcaloides de *lupinus spp* disminuyen la glucemia y aumentan la insulina. Así, la administración de sulfato de esparteína (240 mg IV) disminuye la glicemia a los 20 minutos de la infusión en pacientes sanos (8).

La disminución de la glucosa estuvo acompañada con un incremento de la insulina sérica que también ocurrió a los 20 minutos de la infusión. Estos resultados no concuerdan con el modelo animal de diabetes discutido anteriormente donde luego de la administración del alcaloide no hubo cambios en los niveles de glucosa ni de insulina en animales que no desarrollaron diabetes (5).

Los resultados presentados en este estudio indican que la administración oral de *L. mutabilis* crudo no afecta a los niveles de glucosa o insulina en voluntarios sanos. Los cambios limitados observados en la glucosa e insulina sanguínea pueden deberse al hecho de que los

participantes voluntarios fueron jóvenes sanos. En sujetos sanos las concentraciones de glucosa se regulan normalmente, manteniendo rangos constantes de glucosa entre 70 a 100 mg/dL.

Por otro lado, Paolisso G. et al, han reportado que la administración intravenosa de sulfato de esparteína (240 mg IV) a sujetos con Diabetes tipo II disminuye la glucemia y aumenta la insulina (6). En dicho estudio, cambios en la glucosa e insulina fueron evidentes a los 40 minutos de infusión intravenosa del alcaloide. En el presente estudio, hubo también una disminución en la glucosa en los voluntarios disglucémicos posterior a los 60 minutos del consumo de lupinus. En cuanto a la insulina, en contraste a las observaciones de Paolisso G. et al, en el presente estudio no hubo un aumento en los niveles de insulina, por el contrario hubo una disminución significativa de la hormona a los 90 minutos del tratamiento.

Una potencial explicación a estas diferencias puede ser el hecho que en el presente estudio la insulina fue medida únicamente a los 60 y a los 90 minutos después de la ingesta de *L. mutabilis* mientras que Paolisso et al midió la insulina cada 10 minutos durante una hora. Esto les permitió medir el pico máximo de insulina posterior a la liberación desde las células pancreáticas (6). Además, el tipo de tratamiento usados en el presente y los estudios indicados pueden explicar los diferentes resultados en los niveles de insulina. En los estudios indicados anteriormente con individuos sanos así como en pacientes con Diabetes tipo II se usaron alcaloides purificados de *lupinus spp* vía intravenosa (6, 8), mientras que en el presente estudio granos de *L. mutabilis* crudo fueron administrados vía oral. Los alcaloides purificados y el *Lupinus* crudo pueden tener diferente farmacocinética.

El grano de *Lupinus* crudo contiene varios alcaloides y micro y macronutrientes que pueden modular la actividad secretagoga de los alcaloides, el efecto potencial en los receptores de insulina, y la vida media de la insulina (4).

La insulina es metabolizada en el hígado después de su liberación del páncreas en un tiempo relativamente corto, aproximadamente 3.5 minutos. La insulina que alcanza la periferia, músculos y tejido adiposo, después de unirse a su receptor se internaliza por las células y subsecuentemente degradadas (71). Durante este proceso las células blanco son estimuladas para permitir la captación de glucosa a través del transportador de glucosa GLUT-4. Ambos eventos, la captación de insulina y el transporte de glucosa dentro de las células pueden explicar las observaciones presentes de la disminución de glucosa e insulina posterior al consumo de *L. mutabilis*.

Además, la mejoría del HOMA-IR observado en sujetos con disglucemia que tomaron *L. mutabilis* puede ser también el resultado de la disminución de los niveles de glucosa e insulina sanguíneas (10).

No hubo efectos adversos después de la ingesta de *L. mutabilis* en los voluntarios sanos. Algunos individuos con disglucemia mostraron mareos transitorios, hipotensión y visión borrosa. Estos efectos adversos han sido reportados en individuos con polimorfismos de la enzima “hidroxilasa debrisoquina” que es responsable del metabolismo del alcaloide esparteina (72). De este modo se requiere estudiar el efecto de los alcaloides aislados, para determinar su posible acción y mecanismo (73).

Limitaciones del Estudio

En el presente estudio encontramos hallazgos que son estadísticamente significativos, tales como el efecto hipoglicémico en cuanto a la reducción de glucosa e insulina en pacientes disglucémicos, debido al valor $p < 0,05$ obtenidos, lo que significa que es menor la probabilidad de que los resultados obtenidos se deban al azar y mayor evidencia hay en contra de la hipótesis nula.

Una de las limitaciones del estudio es la carencia de estimación de intervalos de confianza, los cuales podrían facilitar la interpretación de los resultados en términos de magnitud y relevancia clínica, proporcionándonos una idea de la precisión con la que se ha efectuado la estimación de la magnitud y de la dirección del efecto. Dado la naturaleza inicial del estudio como “piloto”, no se dispuso de suficiente número de pacientes para obtener hallazgos significativos en todos los grupos, por lo que carece de un análisis adecuado del poder estadístico de la investigación. Sin embargo, la capacidad del estudio para encontrar diferencias entre los grupos de soya y *Lupinus* en disglucémicos, si es significativa.

De este modo es recomendable evaluar a posteriori la potencia del efecto hipoglicémico de *L mutabilis*, con un tamaño de muestra mayor, realizando mediciones continuas de glucosa e insulina, con el fin de discernir si el estudio posee el poder necesario para detectar una diferencia o un efecto relevante entre los grupos.

CONCLUSIONES

Debido a la necesidad de crear terapias alternas que ofrezcan más beneficios, menores efectos adversos y de menor precio para el tratamiento de enfermedades hiperglicémicas prevalentes en nuestro país que causan problemas al sistema de salud, se desarrolló la idea de emplear recursos naturales de fácil acceso para nuestra población.

Por esto, respondiendo a la pregunta formulada en nuestro estudio si el efecto hipoglicemiante es significativo tras la administración oral de *Lupinus mutabilis* en pacientes sanos y en pacientes con disglucemia podemos, según los resultados, concluir que el preparado en forma cruda, a dosis no tóxicas, según el peso del participante, en el caso del grupo normoglicémico no produce alteraciones ni en la glicemia e insulina medidas post tratamiento en diferentes tiempos, ni en la evaluación de resistencia a insulina según el HOMA (Homeostatic Model Assesment), probablemente por la adecuada regulación de glucosa e insulina en dichos sujetos.

Sin embargo, se encontraron resultados positivos en el segundo grupo de estudio, aquellos con disglucemia, en los que se encuentra disminución en la glucosa e insulina post tratamiento a dosis similares, el efecto de *L. mutabilis* fue mayor en aquellos pacientes con niveles elevados de glucosa basal.

Solo el tratamiento con *L. mutabilis* mejoró la resistencia a la insulina en los sujetos disglucémicos, lo que demuestra que el consumo de *L. mutabilis* tiene efectos metabólicos

importantes. Principalmente debido a los alcaloides quinolizidínicos del *lupinus spp* inducen la liberación de insulina de los islotes pancreáticos tanto en modelos animales y en humanos.

En estudios con individuos sanos así como en pacientes con Diabetes tipo II se usaron alcaloides purificados de *lupinus spp* vía intravenosa, mientras que en el presente estudio granos de *L. mutabilis* crudo fueron administrados vía oral. Los alcaloides purificados y el lupinus crudo pueden tener diferente farmacocinética y modular la actividad secretagoga, el efecto potencial en los receptores de insulina, y la vida media de la insulina.

Por último, la anormalidad del HOMA-IR en sujetos con disglucemia que tomaron *L. mutabilis*, mejoró como resultado de la disminución de los niveles de glucosa e insulina sanguíneas.

Los efectos inhibitorios de *L. mutabilis* no se observaron en los grupos de control que consumieron soya.

Lo anteriormente mencionado nos abre las puertas a un campo de investigación promisorio para la mejora del sistema de salud en nuestro país.

RECOMENDACIONES

El consumo de *Lupinus* crudo sin supervisión médica debe ser evadido para evitar la potencial toxicidad y efectos adversos indeseables.

Se requieren estudios adicionales para determinar si dosis menores de *Lupinus mutabilis* disminuyen los niveles de glucosa e insulina en sangre.

Hasta el momento, hay evidencia que el efecto dura al menos 90 minutos, que fue el tiempo en el que se midieron los últimos valores en este estudio, por lo que se recomienda estudios que midan niveles a largo plazo y determinar la vida media de los alcaloides

Estudios futuros de la farmacocinética de *L. mutabilis* y sus componentes podrán esclarecer su efecto en las células pancreáticas así como en las células blanco de la insulina.

Se requieren estudios que midan los niveles de glucosa e insulina en menos tiempo para realizar comparaciones con estudios ya mencionados.

Estudios que comparen los efectos del *Lupinus* crudo con el efecto estimado de alcaloides aislados también se necesitan.

BIBLIOGRAFÍA

1. Smyth, S. Heron, A. "Diabetes and obesity: the twin epidemics". Nat Med. 2006 12:75-80.
2. Yach, D. Stuckler, D. Brownell, K. "Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes". Nat Med. 2006 12:62-66.
3. Pearson, E. "Pharmacogenetics and future strategies in treating hyperglycaemia in diabetes". Front Biosci. 2009 14:4348-62.
4. García López, P. "Quinolizidine alkaloids isolated from *Lupinus* species enhance insulin secretion". Eur J Pharmacol. 2004 504(1-2):139-42.
5. Bobkiewicz-Kozłowska, T. "Hypoglycaemic effect of quinolizidine alkaloids--lupanine and 2-thionosparteine on non-diabetic and streptozotocin-induced diabetic rats". Eur J Pharmacol. 2007 Jun 22;565 (1-3):240-4.
6. Paolisso, G. Sgambato, S. Passariello. "Plasma glucose lowering effect of sparteine sulphate infusion in non-insulin dependent (type 2) diabetic subjects". Eur J Clin Pharmacol. 1988;34(3):227-32
7. Australia New Zealand Food Authority November 2001. Lupin Alkaloids In Food A Toxicological Review And Risk Assessment Technical Report Series No. 3. (<http://www.anzfa.gov.au>)
8. Sgambato, S. Paolisso. "Effect of sparteine sulphate upon basal and nutrient-induced insulin and glucagon secretion in normal man". Eur J Clin Pharmacol. 1987;32(5):477-80
9. Jarrín, P. "Caracterización y tratamiento del agua del desamargado del chocho (*Lupinus mutabilis* Sweet)" INIAP. (2003) 24
10. Wallace, T. Levy, J. Matthews, D. "Use and abuse of HOMA modeling". Diabetes Care. 2004 27:1487-95.

11. Eberwine, D. "Globesidad: Una epidemia en apogeo". Perspectivas de Salud. (2002) (7)
12. Castro, J., Fornasini, M., Acosta, M. "Prevalencia y factores de riesgo de sobrepeso en colegialas de 12 a 19 años en una región semiurbana del Ecuador". Revista Panamericana de Salud Pública. (2003) 277-284
13. Yepez, R. Carrasco, F. Baldeón, M. "Prevalence of overweight and obesity in Ecuadorian adolescent students in the urban area". Arch Latinoam Nutr. (2008) 139-143.
14. Alberti, K., Zimmet, P. "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications". Diabetic Medicine. (1998)
15. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Día Mundial de la Diabetes. 2010. 6 marzo 2010 <http://www.msp.gov.ec/index.php?option=com_content&task=view&id=306&Itemid=213>.
16. Teas, J., Baldeon, M., Chiriboga, D., y cols. Could dietary seaweed reverse the metabolic syndrome?. Asia Pac J Clin Nutr (2009);18 (2): 145-157
17. Hossain, P., Kavar, P., El Nahas, M. "Obesity and Diabetes in the Developing World - A Growing Challenge" NEJM. (2007) 213-215
18. Knecht K., Nguyen, H., Aufer, A., Kinder, D. "Effects of Extracts of Lupine Seed on Blood Glucose Levels in Glucose Resistant Mice". Journal of Herbal Pharmacotherapy (2006) 89-104
19. Jacobsen, S. "El tarwi (Lupinus mutabilis Sweet.) y sus parientes silvestres". Botánica Económica de los Andes Centrales USMA (2006) 458-482
20. Atkinson, M., Maclaren, N. "The pathogenesis of insulin dependent Diabetes Mellitus" New. Engl. J. Med. (1994) 1428-1436
21. Sacks, D., MacDonald, "The pathogenesis of type 2 Diabetes Mellitus". AJCP (1996) 149-57

22. Daskalopoulou, S., Atrios, V., Kolovou, G., Anagnostopoulou, K., Mikhailidis, D. "Definitions of metabolic síndrome: Where are we now?". Curr Vasc Pharmacol (2006) 185-197
23. Grundy, S., Brewer, H., Cleeman, J., Smith, S., Lenfant, C. "Definition of Metabolic Syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition". Circulation (2004) 551-556.
24. Grundy, S., Cleeman, J., Daniela, S., et al. "Diagnosis and Management of the Metabolic Syndrome. AHA/NHLBI Scientific Statement". Circulation (2005) 2735-2752
25. Haffner, S., Miettinen, H. "Insulin resistance implications for type II diabetes mellitus and coronary heart disease". Am J Med (1997) 152-162.
26. Genuth, S. "Implications of the United Kingdom Prospective Diabetes Study". Diabetes Journal.org. ADA, 10 enero 2002. Web. 4 Marzo 2010.
27. Nathan, D. "Diabetes Preventioin Program (DPP)". diabetes.niddk.nih.gov. The National Diabetes Information Clear-inghouse, Octubre 2008. Web. 6 Marzo 2010
28. Castañeda, B. "Evaluación del Efecto Antiinflamatorio del Extracto Acuoso de las Semillas de *Lupinus mutabilis* Sweet (Tarwi, Chocho), en Animales de Experimentación.". Horizonte Médico USMP (2002) 54-70.
29. Gross, R., E. von Baer, F. Koch, R. Marquard, L. "Chemical composition of a new variety of the Andean lupin (*Lupinus mutabilis* cv. Inti) with low alkaloid content ". J. Food Comp. Anal. (1988) 353-361.
30. Chambi, N. Así nomás nos curamos. Puno: Asociación Chuyma de Apoyo, 1997.
31. Málaga, I. "Evaluación del Valor Nutritivo Relativo (VNR) y Metionina disponible en *Lupinus mutabilis*". Informe #7 Instituto de Nutrición-Proyecto Lupino. Pago 142-162. Lima Perú. 1981

32. Valette, G. Manual de Farmacodinamia. Editorial Toray-Masson S.A Barcelona. 68-75. 1992.
33. Ávila, C. "Alcaloides del *Lupinus mutabilis* (desamargado del tarwi) sobre los ácaros de la sarna de las alpacas". Instituto de Investigaciones para el Desarrollo Social del Altiplano. Universidad Nacional Técnica del Altiplano. Puno-Perú .1982.
34. Boza, H. "Alcaloides de *Lupinus mutabilis* Sweet en Control de ectoparásitos del ganado" Tesis de ingeniero Zootecnista. Universidad Nacional San Antonio Abad del Cuzco.1981.
35. Taha, A. "Studies on Sudanese Medicinal Plants. II. Evaluation of an Extract of *Lupinus termis* Seeds in Chronic Eczema". J. Nat. Prod. (1981) 179–183
36. Arévalo R, Horna, C . "Estudio Fitoquímico y Ensayo Antiinflamatorio del extracto de raíz y Rizoma de la Especie *Euphorbia HiperCIFolia* (Lecherita) en animales de Experimentación *Oryctolages Cuniculus*". Tes. Bach. (1985)
37. Sirtori, C., Manzoni, M., et al., "Proteins of White Lupin Seed, a Naturally Isoflavone-Poor Legume, Reduce Cholesterolemia in Rats and Increase LDL Receptor Activity in HepG2 Cells". J. Nutr. (2004) 18-23
38. **Martins, J., Riottot, M., De Abreu, M., Viegas-Crespo, A., et al.**, "Cholesterol-lowering effects of dietary blue lupin (*Lupinus angustifolius* L.) in intact and ileorectal anastomosed pigs". Journal of Lipid Research, (2005) 46: 1539-1547
39. Fuertes, C. "Flavonoides y Alcaloides de *Lupinus ballianus* con actividad antibacteriana y antifúngica". Ciencia e Investigación. (1998) 71-80.
40. Lampart-Szczapa, E., Siger, A., Trojanowska, K., *et al.* "Chemical composition and antibacterial activities of lupin seeds extracts". Nahrung (2003) 47(5): 286-90.
41. Resta, D. "Evaluation of total quinolizidine alkaloids content in lupin flours, lupin-based ingredients, and foods". Molecular Nutrition & Food Research (2008) 490-495.
42. Moreno, A. "Lupine inhalation induced asthma in a child". Pediatr Allergy Immunol (2005) 542-544

43. Crespo, J., Rodríguez, J., Vives, R., et al. "Occupational IgE-mediated allergy after exposure to lupine seed flour". J Allergy Clin Immunol (2001) 108 (2): 295-297.
44. Matheu, V., De Barrio, M., Sierra, Z., et al. "Lupine-induced anaphylaxis". Ann Allergy Asthma Immunol (1999) 83 (5): 406-408.
45. Moneret-Vautrin, D. "Cross-allergenicity of peanut and lupine: The risk of lupine allergy in patients allergic to peanuts". The Journal of Allergy and Clinical Immunology. (1999) 883-888.
46. Novembre, E., Moriondo, M., Bernardini, R., et al. "Lupin allergy in a child". J Allergy Clin Immunol (1999) 103 (6): 1214-1216.
47. Rojas, J. "Esparteína y Lupanina, dos Alcaloides Quinolizidínicos de las especies *Lupinus eremonomos* y *L. meridanus*". M. Rev. De la Fac. de Farmacia de Venezuela. (1989) 21-27.
48. Hatzold, T. "Quinolizidine alkaloids in seeds of *Lupinus mutabilis*". J. Agric. Food Chem (1983) 934-938.
49. Ahmed, R., Esmail, E. "Influence of dietary lupin seed mixed diet on serum cholesterol level in normal and diabetic rats". European Journal of Pharmacology. (2007) 240-244
50. Bever B, Zahnd G. "Plants with oral hypoglycemic action". Quart J Crude Drug Res (1979) 17 : 13996.
51. Mansour, H., Newairy, A., Yousef, M., Sheweita, S. "Biochemical study on the effects of some Egyptian herbs in alloxan-induced diabetic rats". Toxicology (2002) 221-228.
52. Sheweita, S., Newairy, A., Mansour, H., Yousef, M., "Effect of some hypoglycemic herbs on the activity of phase I and II drug-metabolizing enzymes in alloxan-induced diabetic rats". Toxicology (2002) 131-139.
53. Mandarino, L., Gerich, J. "Prolonged sulfonylureas administration decrease insulin resistance and increase insulin secretion in non-insulin dependent diabetes mellitus.

- Evidence for improved insulin action at postreceptor site in hepatic as well as extra-hepatic tissue". Diabetes Care (1985) 89-90.
54. Rudenski, A., Matthews, D., Levy, J. "Understanding «insulin resistance»: both glucose resistance and insulin resistance are required to model human diabetes". Metabolism. (1991) 908-917.
55. Porte, D. "Beta-cells in type II diabetes mellitus". Diabetes Banting lecture. (1991;) 166-180.
56. DeFronzo, R., Ferrannini, E. "Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia, and atherosclerotic cardiovascular disease". Diabetes Care. (1991) 173-194.
57. Hosker, J., Matthews, D., Rudenski, A. "Continuous infusion of glucose with model assessment: measurement of insulin resistance and beta-cell function in man". Diabetologia. (1985) 401-411.
58. Bonora, E., Targher, G., Alberiche, M., Bonadonna, R., Saggiani, F., Zenere, M., et al. "Homeostasis model assessment closely mirrors the glucose clamp technique in the assessment of insulin sensitivity: studies in subjects with various degrees of glucose tolerance and insulin sensitivity". Diabetes Care. (2000) 57-63.
59. Turner, R., Rudenski, A., Hosker, J. "CIGMA as a tool in the study of NIDDM". Prog Clin Biol Res. (1988) 13-26.
60. Ferrannini, E., Mari, A. "How to measure insulin sensitivity". J Hypertens. (1998) 895-906.
61. Petrus, D., Jackson, M., Kemnitz, J., Finegood, D., Panciera, D. "Assessing insulin sensitivity in the cat: evaluation of the hyperinsulinemic euglycemic clamp and the minimal model analysis". Res Vet Sci. (1998) 179-181.
62. Matthews, D., Hosker, J., Rudenski, A. "Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man". Diabetologia. (1985) 412-419.

63. Levy, J., Matthews, D., Hermans, M. "Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program". Diabetes Care. (1998) 2191-2192.
64. Brun, J., Raynaud, E., Mercier, J. "Homeostasis model assessment and related simplified evaluations of insulin sensitivity from fasting insulin and glucose". Diabetes Care. (2000) 1037-1038.
65. Rudenski, A., Hadden, D., Atkinson, A., Kennedy, L., Matthews, D., Merrett, J., et al. "Natural history of pancreatic islet B-cell function in type 2 diabetes mellitus studied over six years by homeostasis model assessment". Diabet Med. (1988) 36-41.
66. Levy, J. "Evaluation of insulin sensitivity: the HOMA and CIGMA models". Journ Annu Diabetol Hotel Dieu. (1998) 179-192.
67. Fukushima, M., Taniguchi, A., Sakai, M. "Homeostasis model assessment as a clinical index of insulin resistance. Comparison with the minimal model analysis". Diabetes Care. (1999) 1911-1912.
68. Haffner, S., Miettinen, H., Stern, M. "The homeostasis model in the San Antonio Heart Study". Diabetes Care. (1997) 1087-1092.
69. Matsumoto, K., Miyake, S., Yano, M., Ueki, Y., Yamaguchi, Y., Akazawa, S., et al. "Glucose tolerance, insulin secretion, and insulin sensitivity in nonobese and obese Japanese subjects". Diabetes Care. (1997) 1562-1568.
70. Von Baer, D., Reimerdes, E. "Methoden zur Bestimmung der Chinolizidin-Alkaloid In: *Lupinus mutabilis*". Forsch (1979) 27-31.
71. Kolman, P., Pica, A., Carvou, N., Boyde, A., Cockcroft, S., Loesch, A., Pizzey, A., Simeoni, M., Capasso, G., Unwin, R. "Insulin uptake across the luminal membrane of the rat proximal tubule in vivo and in vitro". Am J Physiol Renal Physiol. (2009) 1227-1237.
72. Relling, M. "Polymorphic drug metabolism". Clin Pharm. (1989) 852-63
73. Petterson, D., Greirson, B., Allen, D., Harris, D. "Disposition of lupanine and 13-hydroxylupanine in man". Xenobiotica. (1994) 933-941

ÍNDICE

A	
alcaloides quinolizidinicos	11
C	
<i>clamp</i> euglicémico	16
D	
diabetes	7
patogenia	7
prevención	8
<i>diseño del estudio</i>	26
<i>Dosis de Lupinus mutabilis</i>	27
E	
<i>Efecto de Lupinus mutabilis</i>	
voluntarios disglucémicos	32
voluntarios sanos	31
<i>Estadísticas</i>	30
F	
<i>Fuente de Lupinus mutabilis y Soya</i>	27
G	
glucosa	
determinación	29
H	
HOMA	
definición	18
fórmulas cálculo	21
valores estudio	37
HOMA 2	
cálculo	29
HOMA2	
utilidad	19
HOMA-B	18
HOMA-IR	18
Homeostatic Model Assessment (HOMA)	17
I	
insulina	
determinación	29
L	
<i>Lupinus</i>	
usos medicinales	10
<i>Lupinus mutabilis</i>	9
actividad hipoglicémica	13
investigación científica	10
M	
Medicina Alternativa	9
<i>Medidas antropométricas</i>	28
<i>Muestras de sangre</i>	30
R	
regulación glucosa	15
resistencia insulínica	15
T	
<i>Tratamientos</i>	30

ANEXOS

1. Consentimiento Informado para Participar en una Investigación Clínica

¿Tiene el *Lupinus mutabilis* (chocho) un efecto significativo en la reducción del azúcar en la sangre?

Se le solicita que participe como voluntario para una investigación destinada a estudiar los efectos de *Lupinus* (chocho) como hipoglicemiante (reduce azúcar en sangre) en sujetos sanos.

Usted es un participante idóneo para la investigación ya que según su perfil médico previamente realizado, Ud. es un sujeto sano, corresponde al grupo de edad en estudio, sin antecedentes de enfermedades que se correlacionen con problemas de azúcar en la sangre, además, su Índice de Masa Corporal (IMC) y su glucosa se encuentran en los valores normales.

Objetivo del Estudio: El objetivo de esta investigación es comprobar si el consumo de *Lupinus* en diferentes preparados y dosis puede reducir el azúcar de la sangre. Hay estudios que afirman su acción sin embargo se desconoce el preparado y la dosis ideal para causar efecto en los humanos. Los preparados que se utilizarán en el presente estudio ya han sido analizados sus componentes y se utilizarán dosis no tóxicas.

Procedimiento: En vista de que este es un estudio aleatorizado (su asignación al grupo de tratamiento será únicamente producto del azar), Ud. podría recibir chocho o podría recibir maíz. Durante su participación en el estudio Ud. estará supervisado y controlado por personal médico calificado.

Si Ud. desea puede abandonar su participación en el estudio en cualquier momento, sin que esto represente ningún perjuicio o penalidad para Ud. Se estima que su participación en el estudio tendrá una duración de aproximadamente 2 horas.

Riesgos y Molestias: Con el propósito de monitorizar los posibles cambios de glucosa en la sangre se le realizarán 3 tomas (pinchazos). No se prevé una disminución brusca de la glicemia que podría causar manifestaciones, en caso de que esto sucediera se le administrará glucosa por vía oral para aliviar dichos síntomas.

Durante su participación se le realizarán las siguientes mediciones y pruebas:

- Medición de peso y altura para calcular su índice de masa corporal
- Medición de su diámetro de cintura
- Obtención de 1 muestra de sangre en ayuno y 2 después de ingerir el tratamiento asignado (chocho o maíz en cápsulas) a los 60 y 90 minutos.
- Durante el tiempo de espera de la acción del preparado no debe ingerir ningún tipo de alimento.
- Llenar un cuestionario auto administrado de máximo 10 minutos sobre su vida cotidiana y la medicación que pudiera tomar

- **Ud. podría ser excluido del estudio si NO** cumple con los procedimientos del estudio.

Costos: La participación en este estudio no implicará para usted ningún costo. Todos los exámenes y estudios que este trabajo involucra son realizados con fines meramente investigativos y serán gratuitos para usted.

Beneficios Potenciales: Si bien no hay ningún beneficio directo por su participación en el estudio, según los resultados obtenidos las preparaciones de *Lupinus* podrían ser empleadas en la prevención o tratamiento de enfermedades como Síndrome Metabólico y Diabetes Mellitus.

Confidencialidad: Todos sus datos personales que se obtengan de su participación en este estudio serán estrictamente confidenciales. En todos los registros del estudio usted será identificado por un código, la información obtenida a partir de sus muestras de sangre y de los cuestionarios realizados serán analizados únicamente por los investigadores a cargo de este estudio quienes tendrán conocimiento de su nombre. Su nombre no será utilizado en ninguna publicación o informe. La información en papel o computarizada será almacenada en un sitio totalmente seguro.

Luego de la firma de este formulario le será entregada una copia para que Ud. la conserve.

Código del participante

2. Consentimiento para participar:

¿Tiene el *lupinus* (chocho) un efecto significativo en la reducción del azúcar en la sangre?

He leído el consentimiento informado para participar del presente estudio, o ha sido leído para mí por: _____ . Todos los puntos que no he entendido han sido explicados y clarificados por: _____ , y mis consultas han sido correspondientemente contestadas por: _____ . Certifico que estoy / no estoy (hacer un círculo donde corresponda) participando actualmente en otros estudios investigativos, y que he conversado sobre los posibles efectos que esta actividad puede traer aparejada, con los directores a cargo de este estudio. En total conocimiento de las implicaciones de este acto, acepto voluntariamente ser partícipe del presente estudio, a través de la Universidad San Francisco de Quito. En caso de cualquier inquietud o reclamo contactar al Dr. Mauricio Espinel Director del Comité de Bioética de la Universidad San Francisco de Quito al teléfono 297-1975.

Reconozco que me ha sido entregada una copia de mi Consentimiento Informado para mi archivo personal. El original será conservado por los investigadores.

Nombre y Apellido del Participante:

Lugar de nacimiento:

Domicilio: _____

No. Teléfono: _____

Firma del Participante

Firma del Investigador

Código del participante

--

3. Datos del paciente

Edad = años

Peso = kg.

Talla = m.

IMC =

Diámetro cintura = cm.

Presión Arterial = / mmHg

Tiene usted alguna enfermedad de importancia? Cuáles?

Toma algún tipo de medicación?

Tiene antecedentes en su familia de hipoglicemia, diabetes?

Hace cuántas horas fue su última comida?

ESPACIO PARA INVESTIGADORES NO LLENAR POR FAVOR

MEDICIONES

	0'	60'	90'
GLUCOSA mg/dl			
INSULINA			

