



Valoración del efecto lipolítico y antioxidante del extracto etanólico de las hojas *Bauhinia variegata* Linn en un modelo experimental de diabetes inducida *Caenorhabditis elegans*



YULIETH ALEJANDRA CASTAÑEDA CHAVEZ
DANIELA ALEJANDRA CORREALES MOLANO

Trabajo de Grado para optar por el título Profesional en Bacteriología y Laboratorista Clínico

Asesora:

RUTH MELIDA SANCHEZ MORA MSc, PhD

UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
PROGRAMA DE BACTERIOLOGÍA



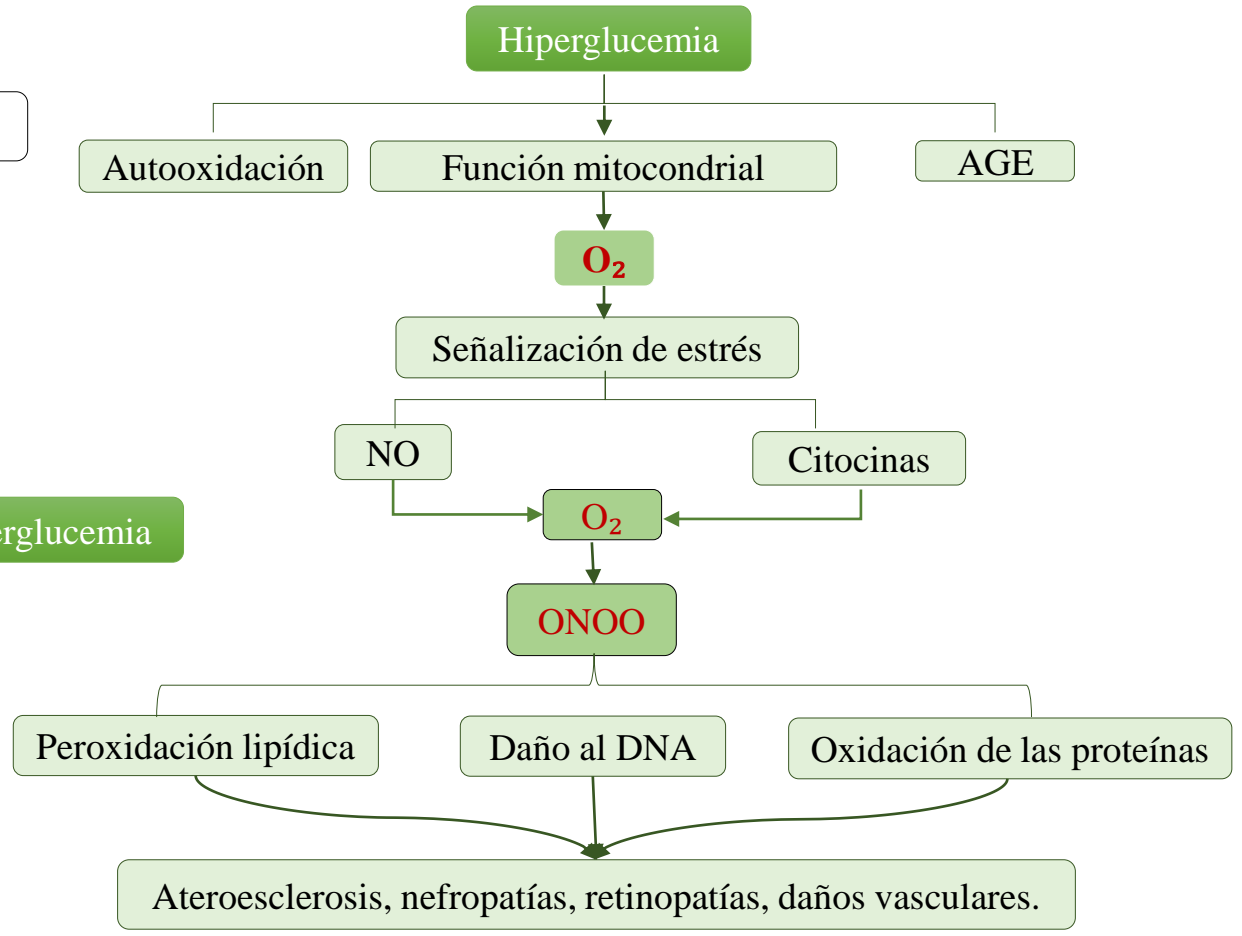
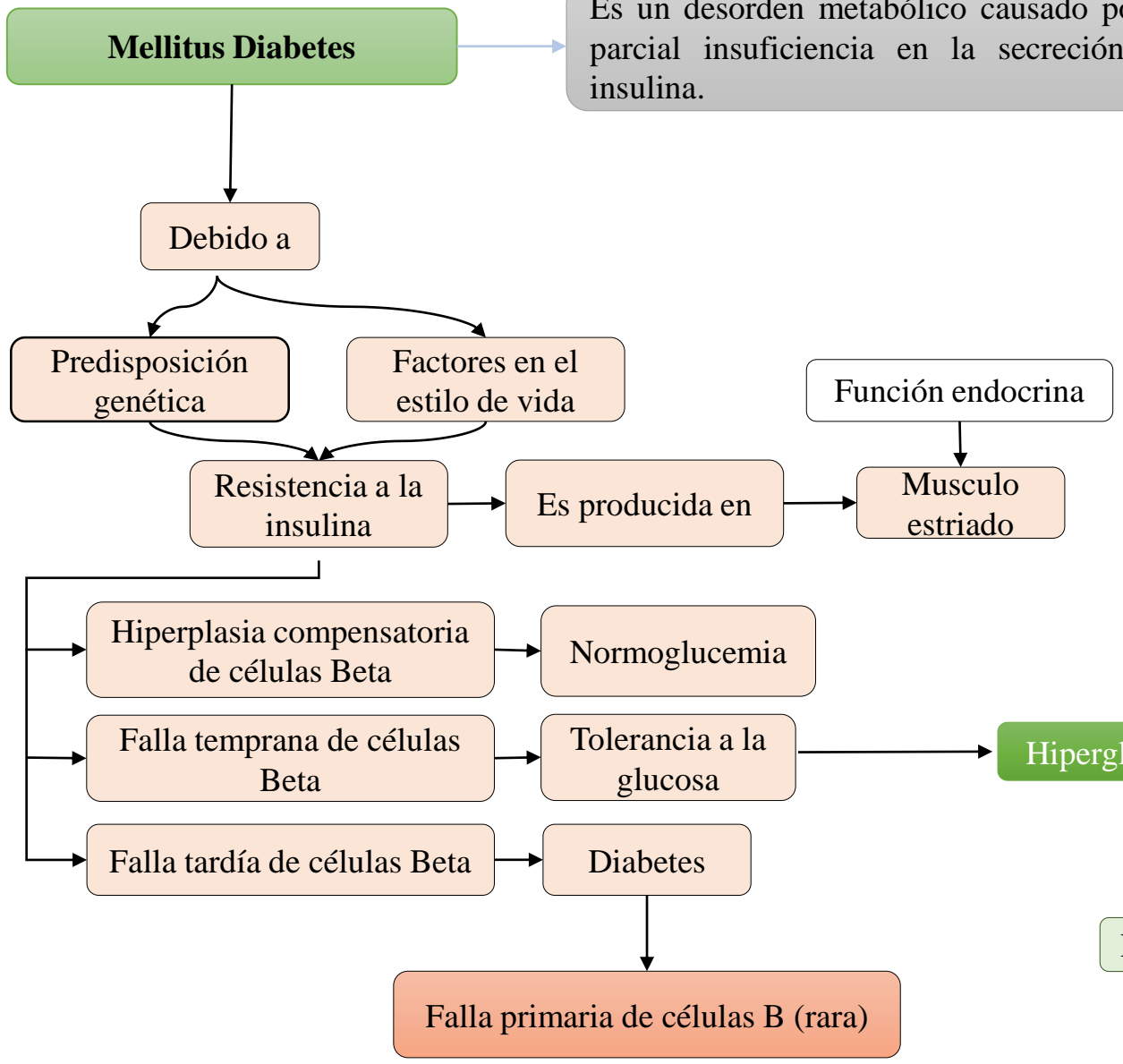
A vertical list of seven items, each preceded by a solid green circle and enclosed in a white arrow-shaped box pointing to the right. The items are: Introducción, Antecedentes, Objetivos, Diseño Metodológico, Metodología, Resultados y Discusión, and Conclusiones.

- Introducción
- Antecedentes
- Objetivos
- Diseño Metodológico
- Metodología
- Resultados y Discusión
- Conclusiones

Es un desorden metabólico causado por una completa o parcial insuficiencia en la secreción o acción de la insulina.

Caracterizada por la desregulación

- Carbohidratos
- Proteínas
- Lípidos

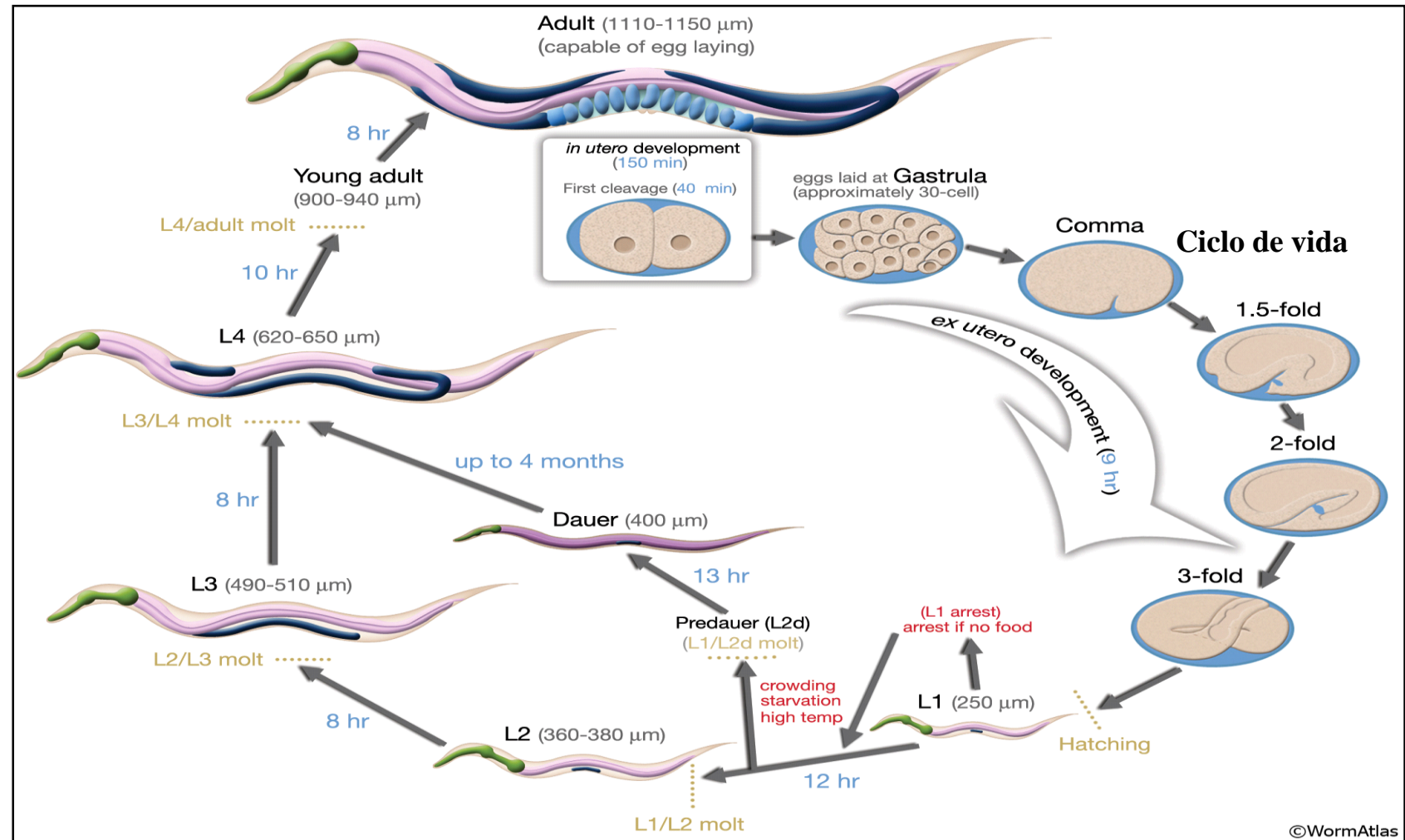




<https://caramelosblog.es/tag/caenorhabditis-elegans/>

- Posee receptores DAF-2 y DAF-16 que son homólogos del IGF-1 y FOXO
- Es transparente, hermafrodita y posee un ciclo de vida corto.

Reino	Animalia
Phylum	Nematoda
Clase	Secernentea
Orden	Rhabditia
Familia	Rhabditidae
Genero	Caenorhabditis
Especie	C. elegans



Murphy CT, Hu PJ Insulina / señalización del factor de crecimiento similar a la insulina en *C. elegans*.

Bauhinia variegata Linn

INTRODUCCIÓN



Fuente: <https://www.jardineriaon.com/bauhinia-variegata.html>

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Fabales
Familia	Fabaceae
Genero	<i>Bauhinia</i>
Especie	<i>B. Variegata</i> Linn

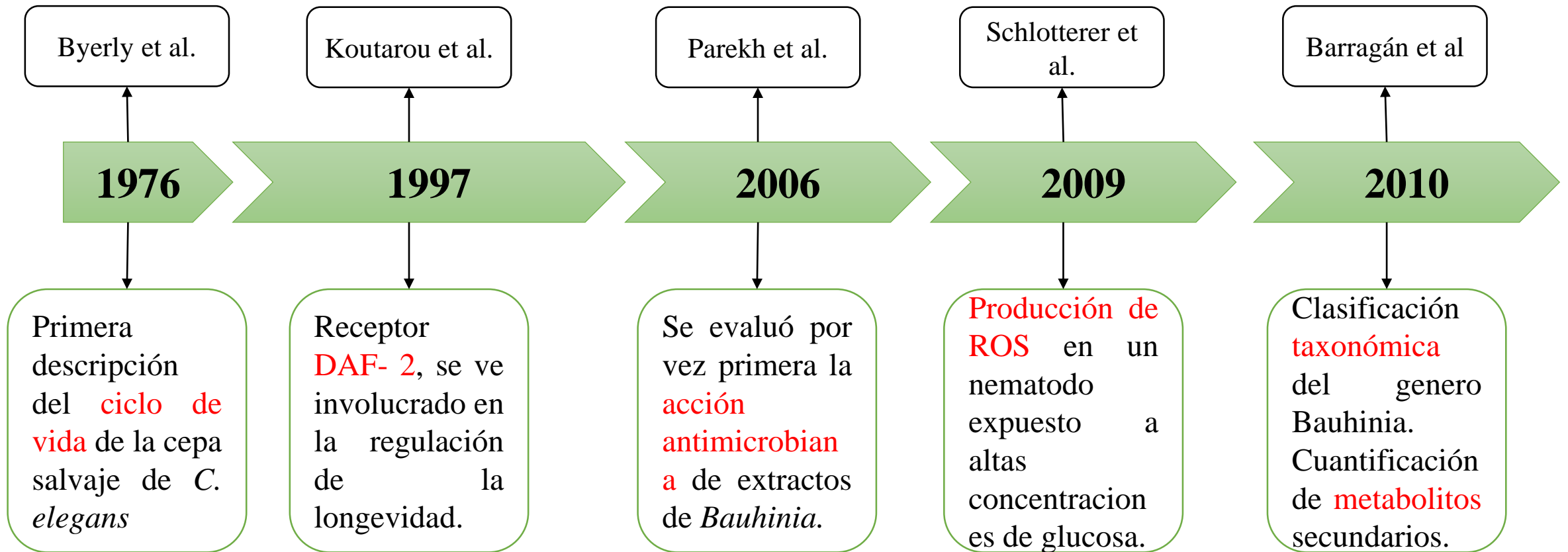
Bauhinia variegata Linn (Pata de vaca) es una planta con flor.

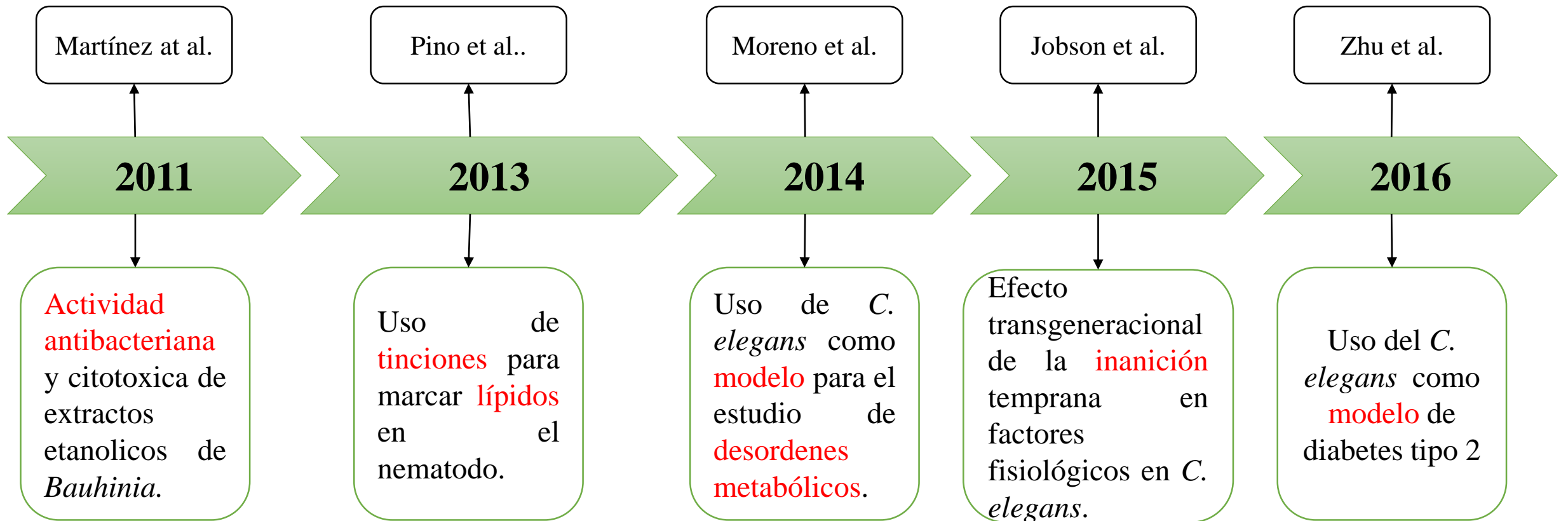
Es originaria del sur de Asia. De fácil crecimiento.

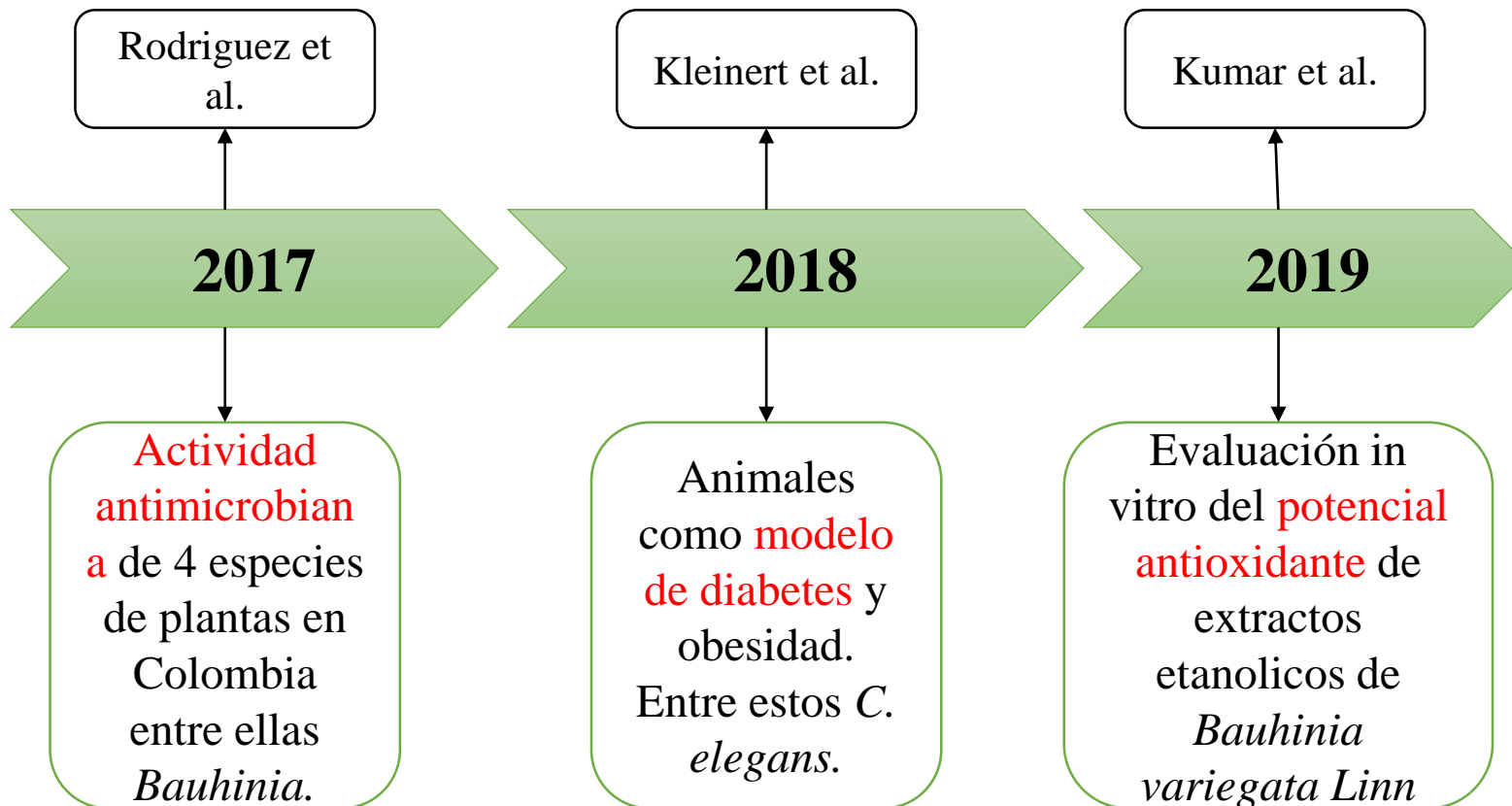
Muy común en climas tropicales y subtropicales.

Posee varios componentes medicinales entre ellos:

Antibacterianos
Antioxidantes
Antitumorales
Hipoglicemiantes







Objetivo general

Evaluar el efecto lipolítico y antioxidante de la planta *Bauhinia variegata* Linn sobre el modelo experimental de diabetes inducido *Caenorhabditis elegans*.

Objetivos específicos

- Identificar fitocompuestos presentes en el extracto etanólico de las hojas *Bauhinia variegata* Linn.
- Caracterizar fenotípica y fisiológicamente el modelo experimental de diabetes inducida *C. elegans*.
- Determinar el efecto lipolítico y antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Bauhinia variegata* Linn en el modelo de diabetes inducido *C. elegans*.

Diseño metodológico

Tipo de investigación: Descriptivo experimental, no aleatorio.

Universo: Nematodo *Caenorhabditis elegans*

Población: Cepa salvaje N2

Muestra: Cepa salvaje donada por la Universidad Mayor de Chile.

Extracto etanólico

Procedimiento realizado en la Universidad Nacional de Colombia

METODOLOGÍA



Recolección de material vegetal



Secado del material vegetal



Material vegetal seco



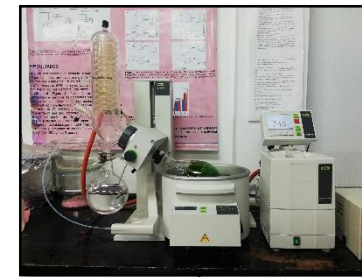
Material vegetal seco y molido



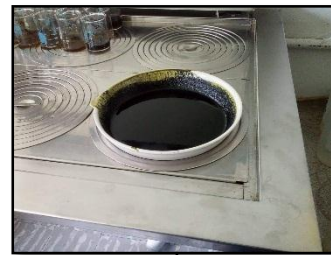
Material vegetal en etanol al 96%



Percolador con etanol y material vegetal



Rotaevaporación



Secado del extracto a baño maría.



Extracto terminado



Extracto terminado se diluyo en DMSO

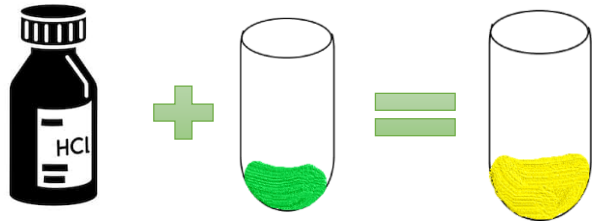
0,1 mg/mL

1 mg/mL

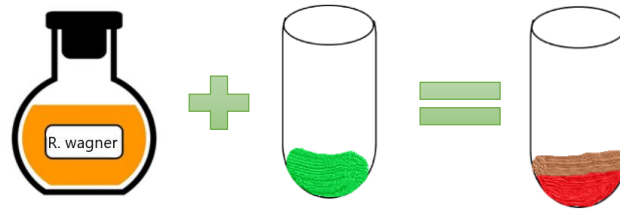
10 mg/mL

Prueba en tubo

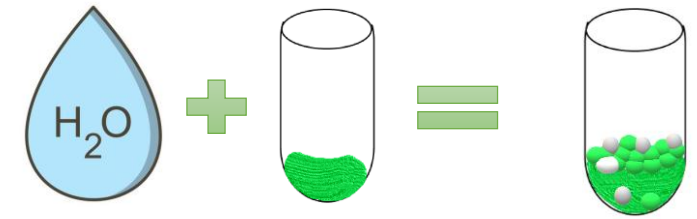
Quinonas.



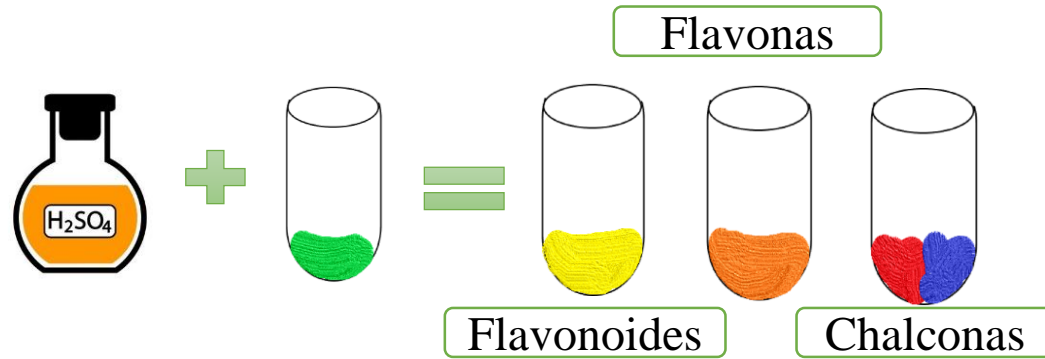
Alcaloides.



Saponinas.

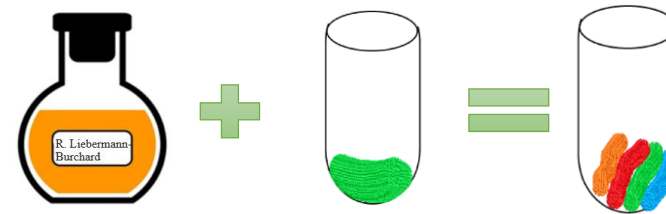


Flavonoides.



Flavonas

Terpenos.



Identificación de fitocompuestos

METODOLOGÍA

Procedimiento realizado en la Universidad Nacional de Colombia

Cromatografía en capa fina.

Fase móvil.

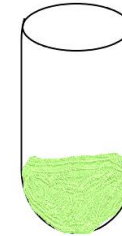
Ciclo hexano:
acetato de etilo

n-Hexano: acetato de etilo:
ácido fórmico: ácido acético

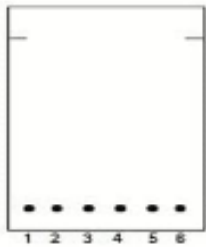
Terpenos



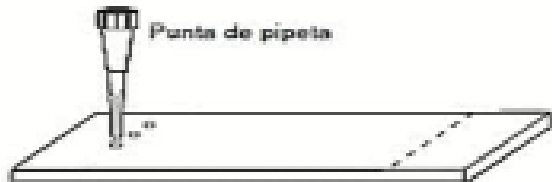
Flavonoides.



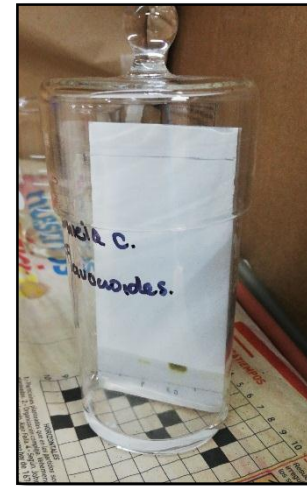
Extracto diluido en
cloroformo.



Placa de sílice



Siembra en la placa.



Corrido de la placa



Revelado

Caracterización fisiológica

METODOLOGÍA

Sincronización.

Nematodos

Solución M9

Centrifugar

Solución bleaching

Centrifugar

Solución M9

Medio con *E. coli* OP50

Reproducción.

Larvas L4

Sincronización

Día 1

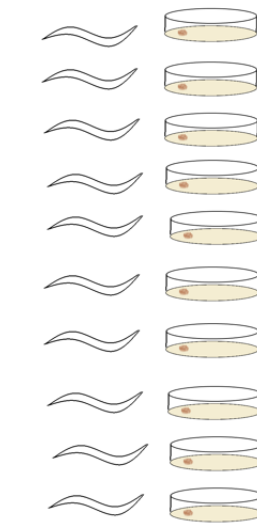
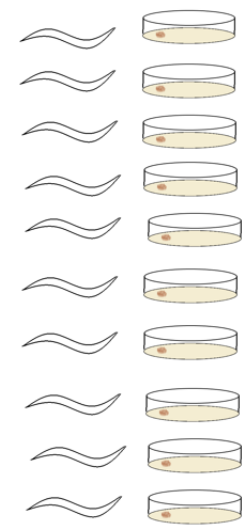
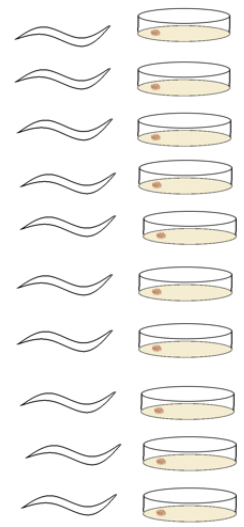
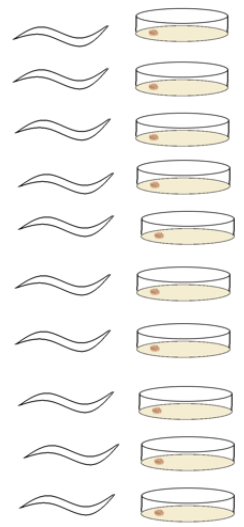
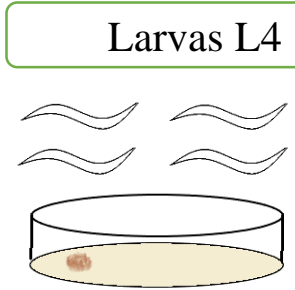
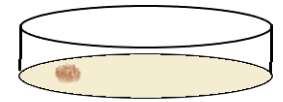
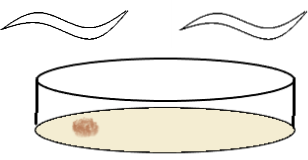
Día 2

Día 3

Día 4

Pase diario de 10 nematodos a una placa nueva

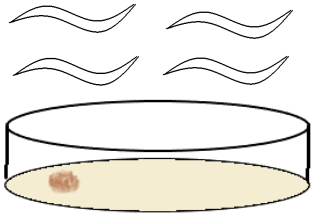
Se hace un conteo diario de la progenie que hay en cada caja



Caracterización fisiológica

METODOLOGÍA

Movilidad



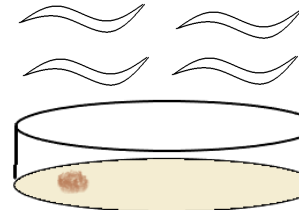
Nematodos con 4 días de adultez

Sincronización



Se mide cantidad de movimientos en forma de "S" en 20 seg

Longitud



Nematodos con 3 días de adultez

Sincronización



Hidrocloruro de levamisol



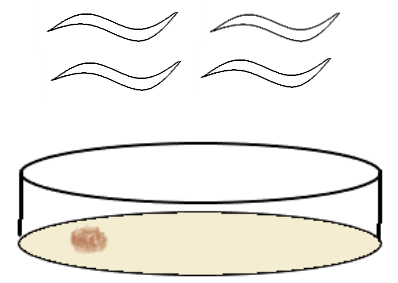
Microscopio de reglilla



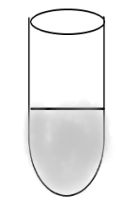
Tinción de lípidos

METODOLOGÍA

Sincronización



Nematodos con 4 días de
adultez



Lavado con PBS
1X



Centrifugar



Descartar el
sobrenadante.



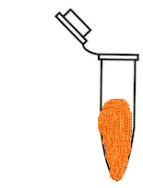
Fijar con isopropanol
por 30 min



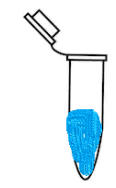
Lavado con
PBS 1X



Centrifugar



Sudan III



Azul de Nilo

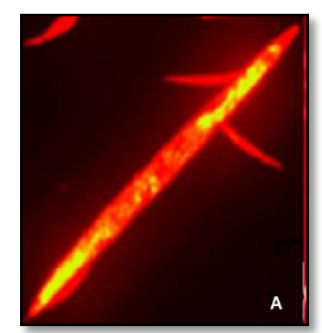
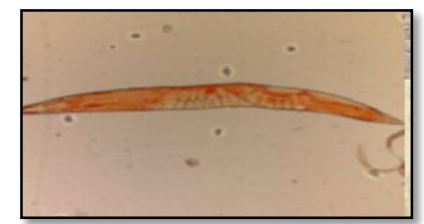


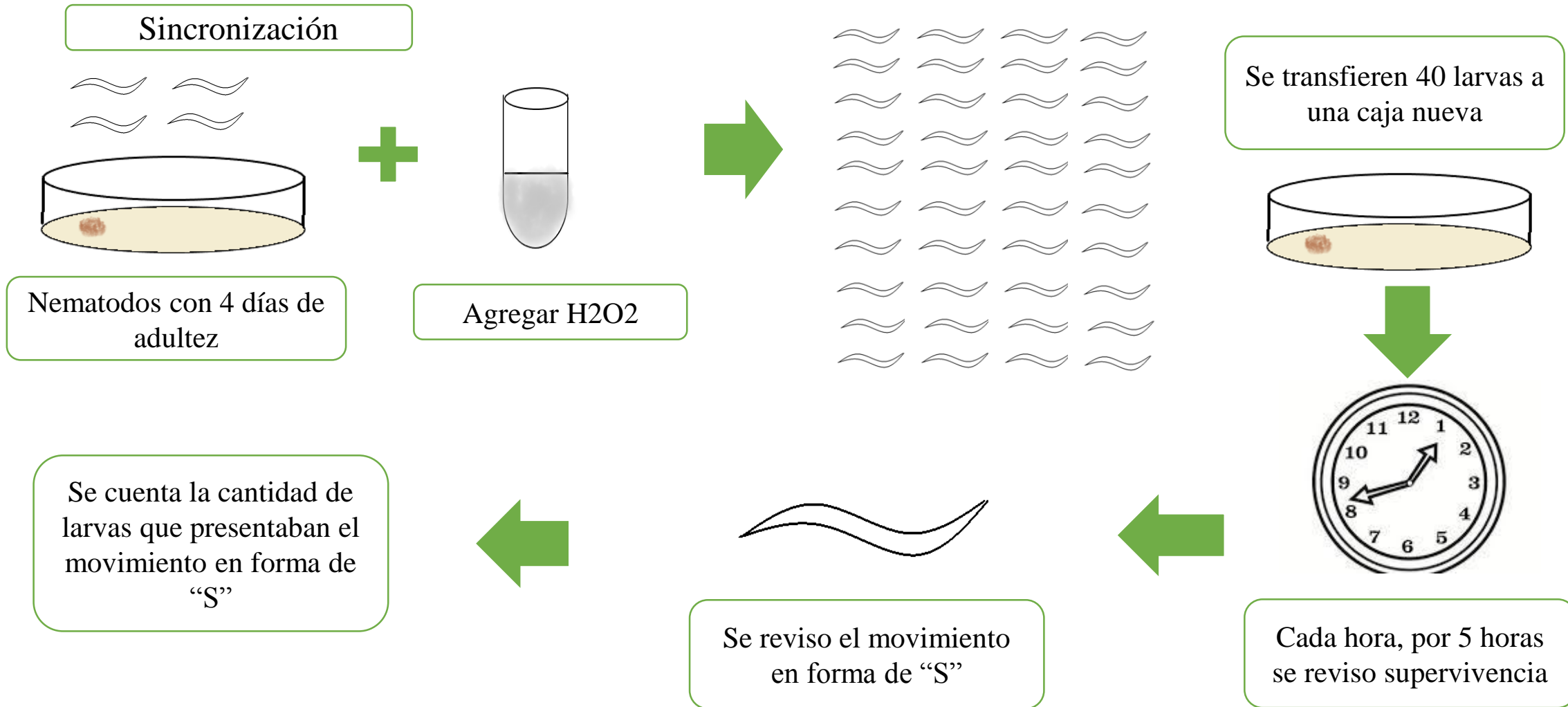
Lavado con
PBS 1X



Centrifugar

Se añade la tinción y se deja reposar
por 1 hora.





Identificación de fitocompuestos

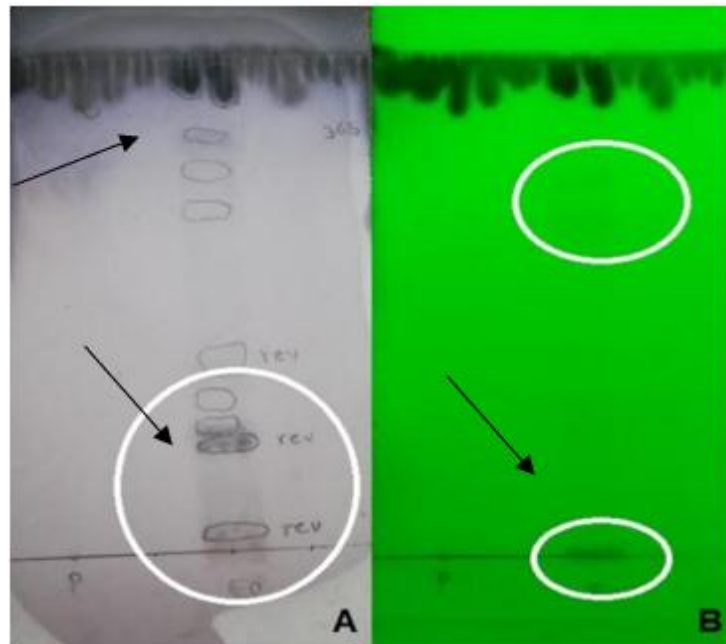
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Metabolito secundario	Resultado
Terpenos	+
Quinonas	-
Flavonoides	+
Alcaloides	+
Saponinas	+

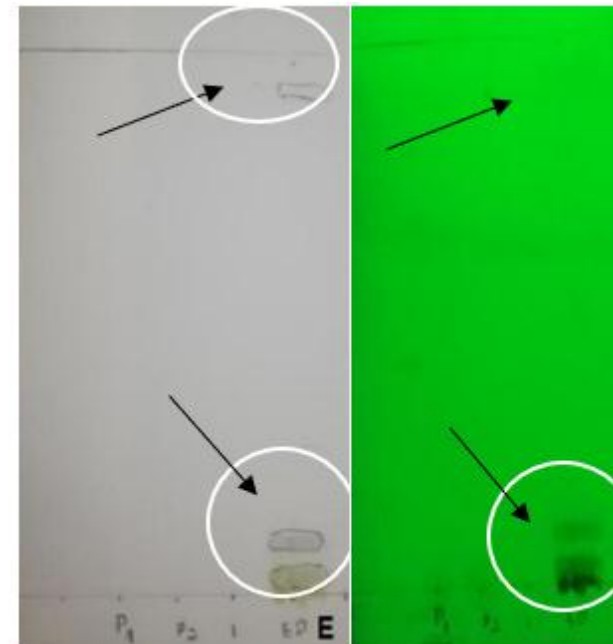
Ortiz H, 2009

Los flavonoides son los encargados de la actividad antioxidante de la planta, y los terpenos de la actividad lipolítica e hipoglucemiante.

Terpenos

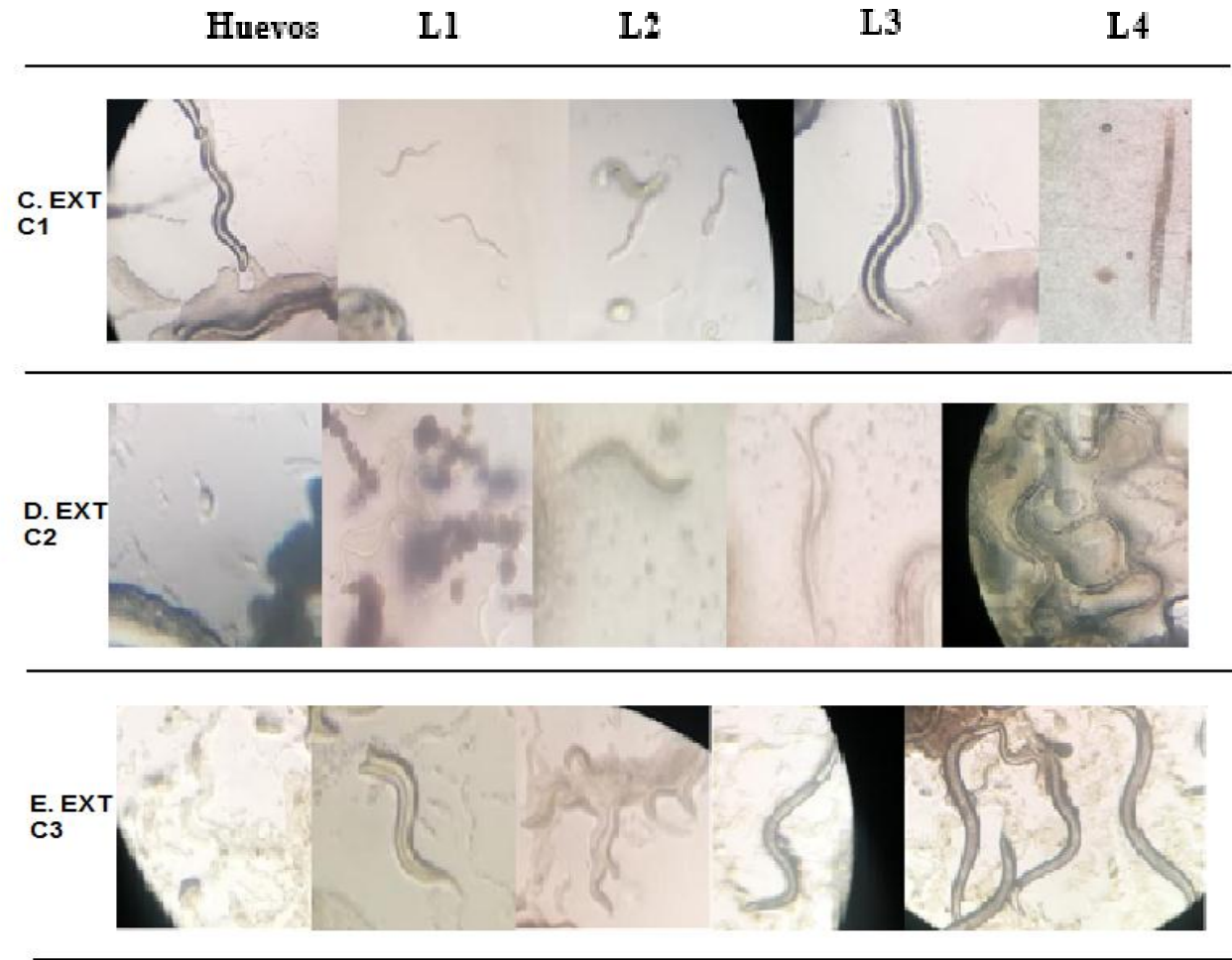
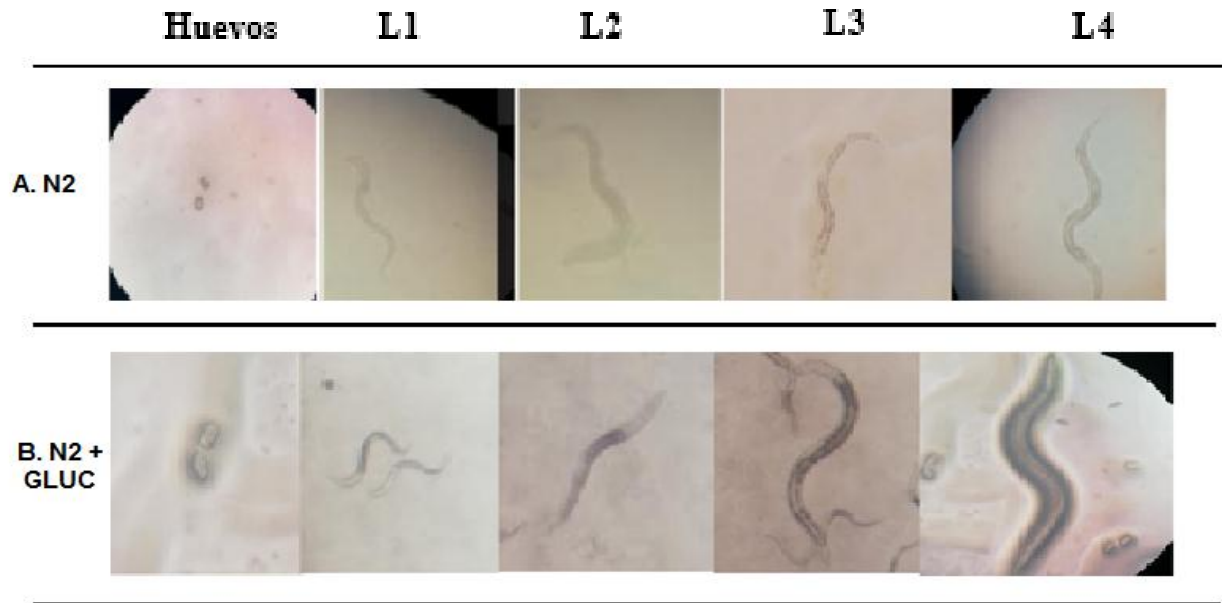


Flavonoides

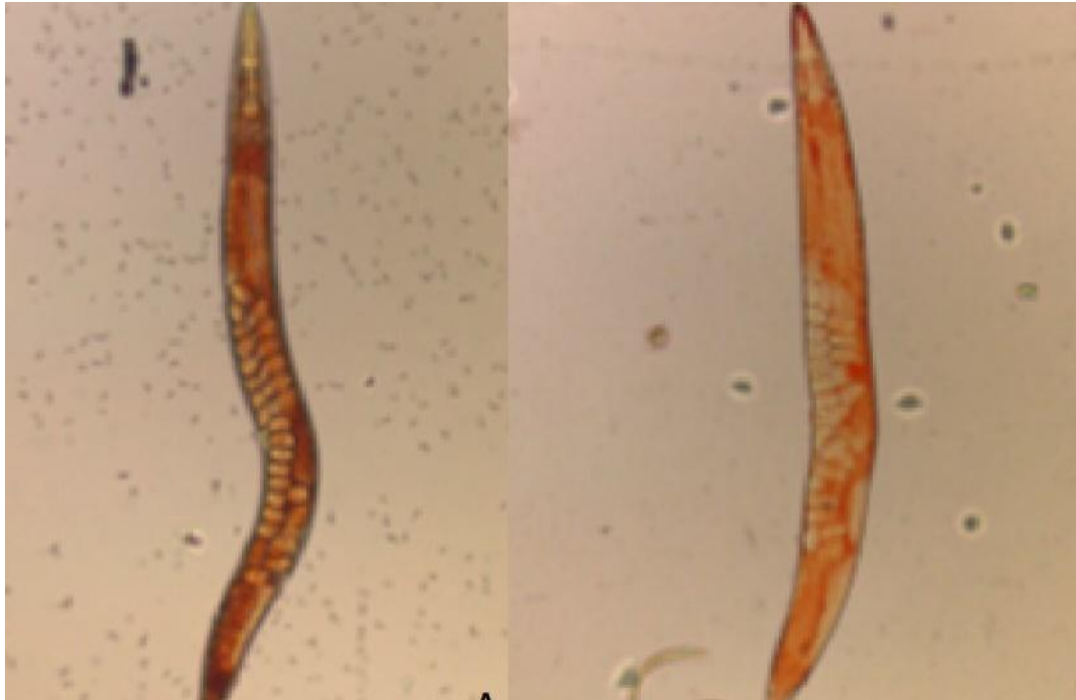


Estadios larvarios

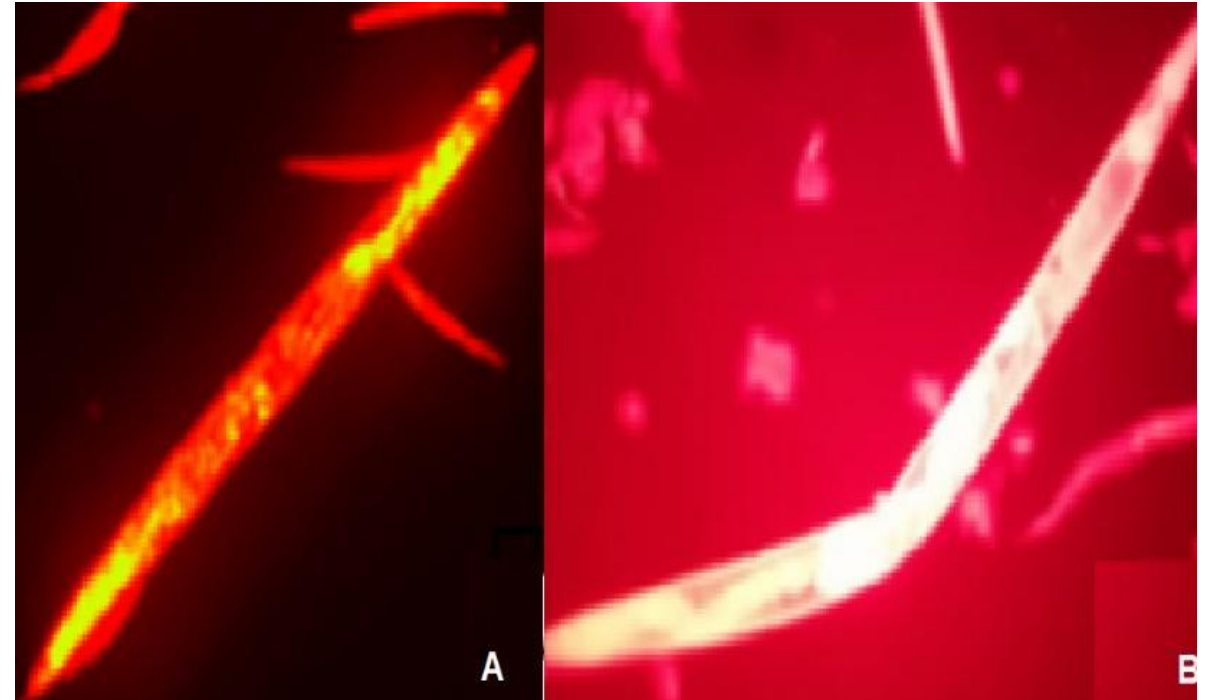
RESULTADOS Y DISCUSIÓN



Sudan III



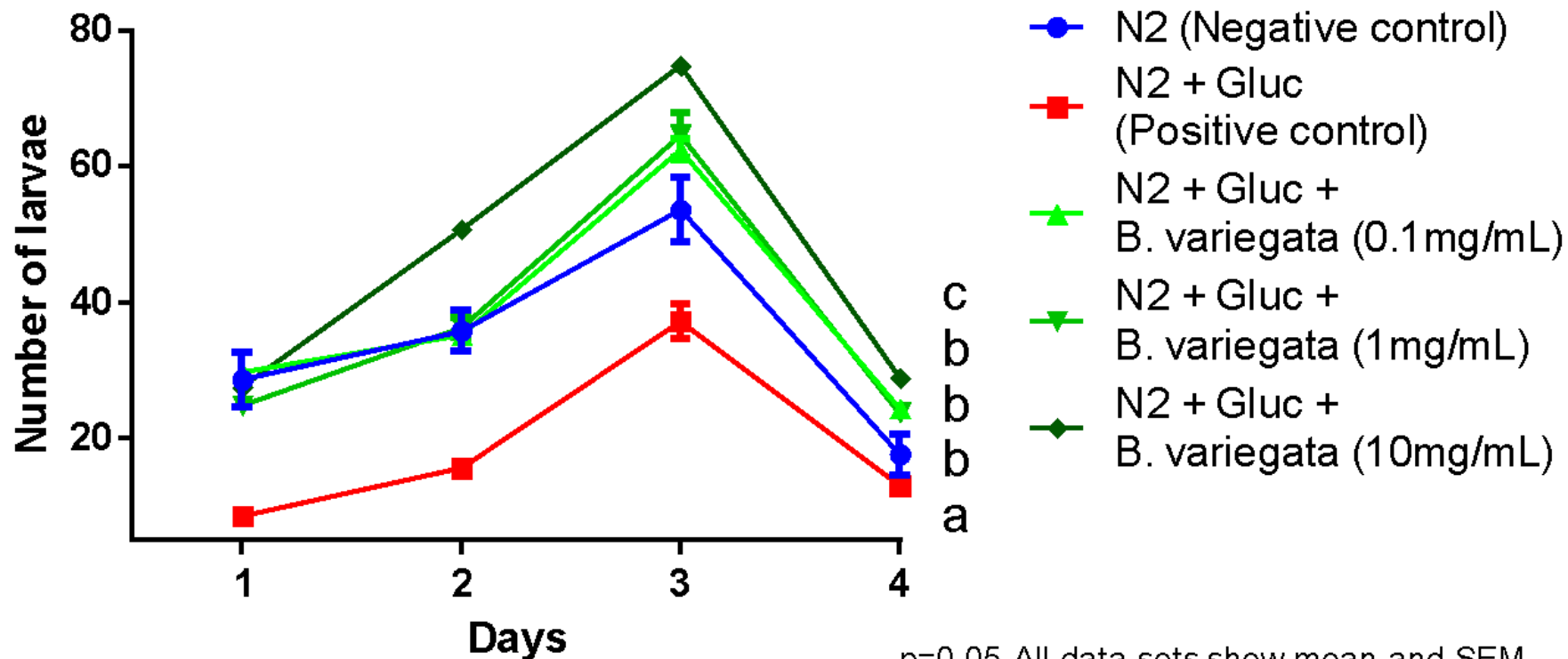
Azul de Nilo



Caracterización fisiológica

Reproducción

Repro



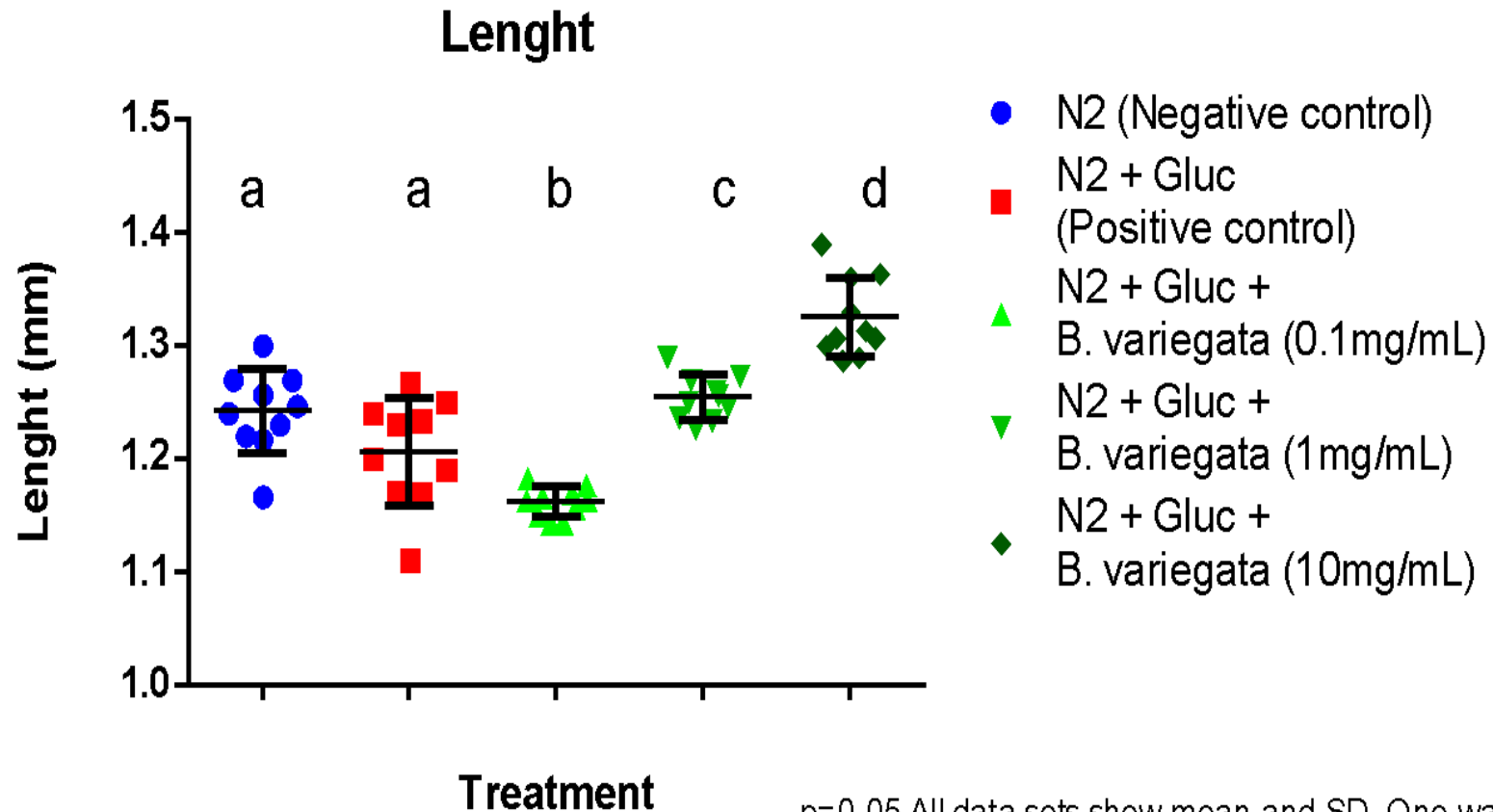
p=0,05 All data sets show mean and SEM. 2way ANOVA and Dunnett's multiple comparisons tests were made. Each data set was compared against N2 + Gluc.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cervantes V, 2013

La capacidad reproductiva se ve afectada en humanos al aumentar las concentración circulante de glucosa.

Longitud

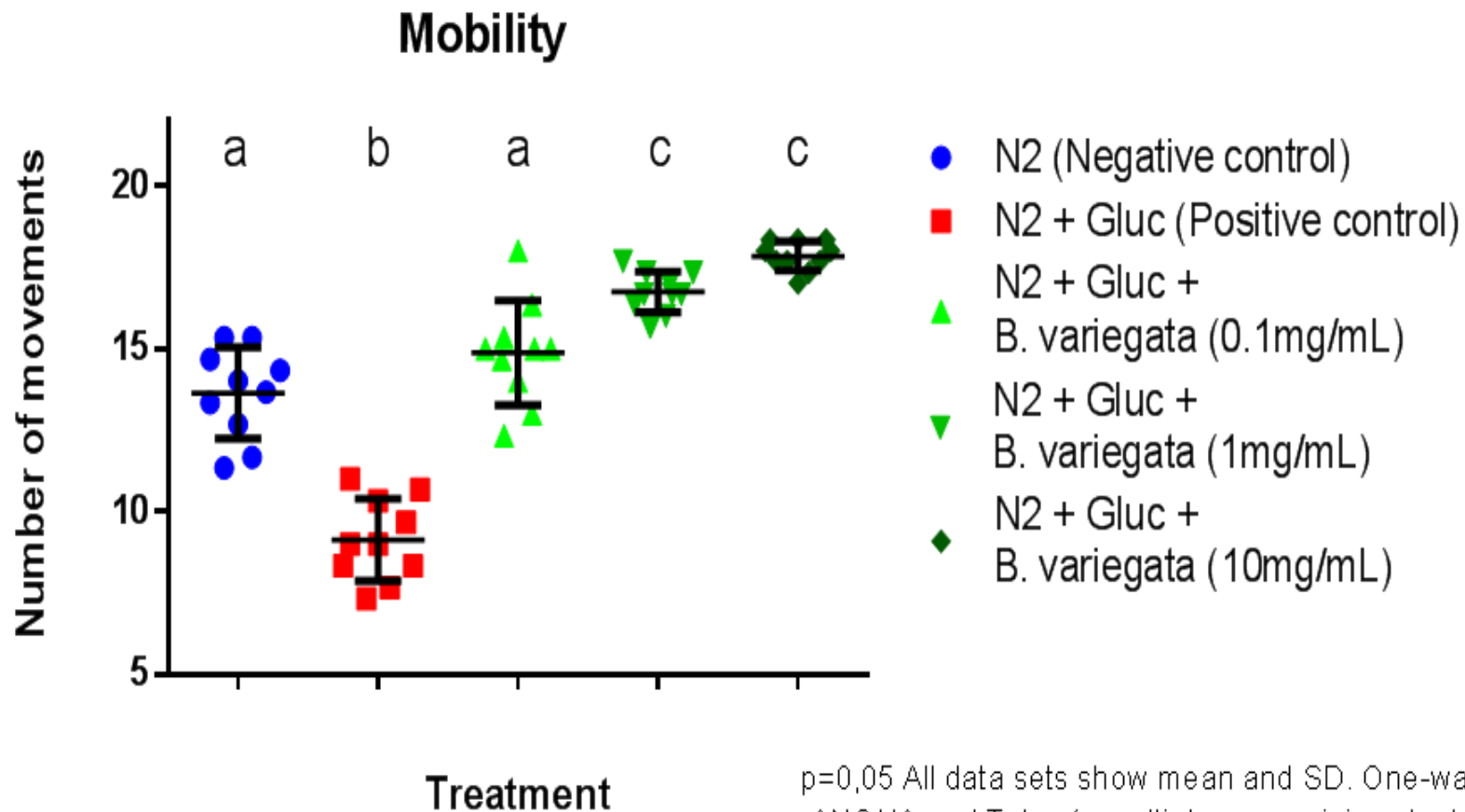


$p=0,05$ All data sets show mean and SD. One-way ANOVA and Dunnett's multiple comparisons tests were made. Each data set was compared against N2 + Gluc.

Bylerly L, 2009

El tamaño de la larva se ve afectado al aumentar las concentración circulante de glucosa.

Movilidad



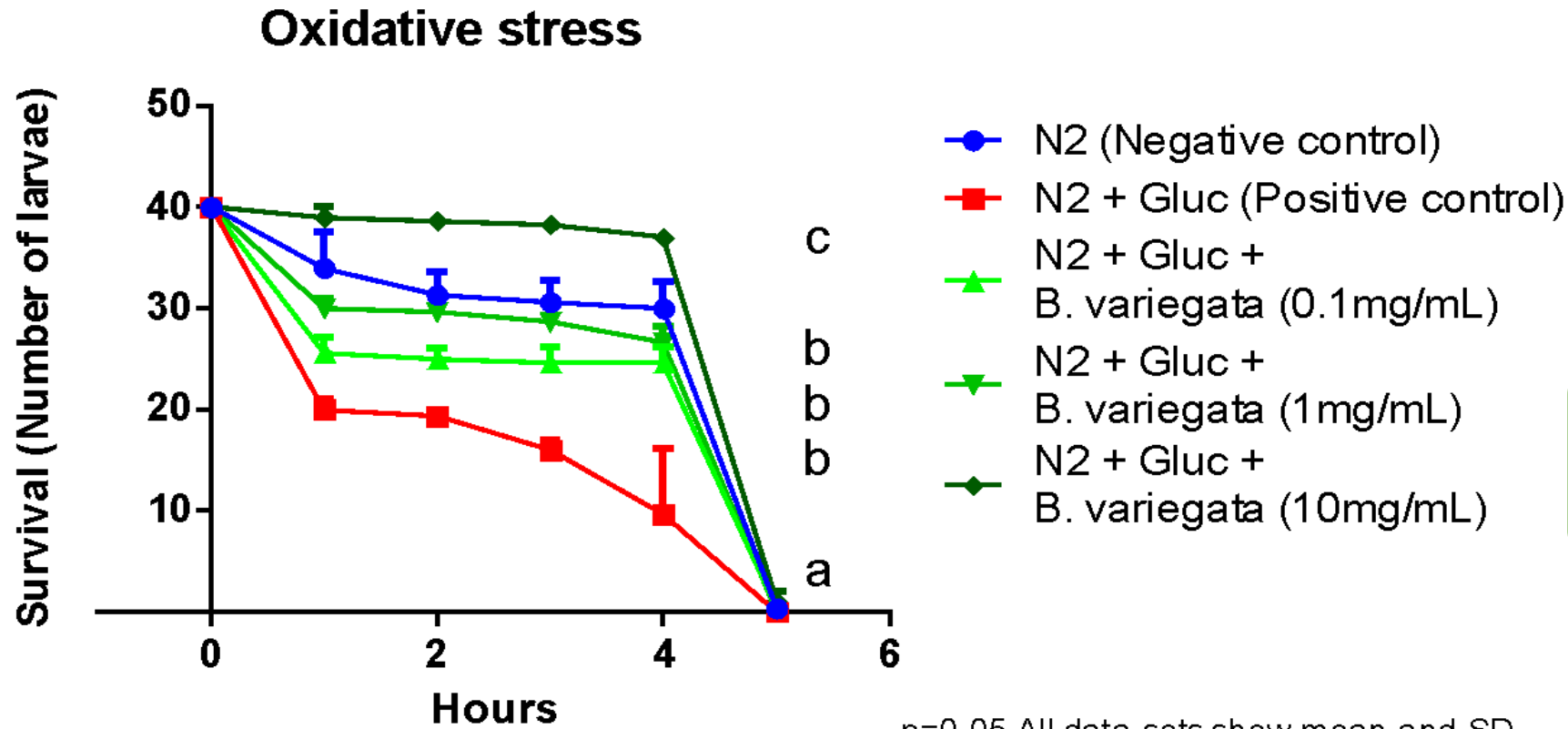
$p=0,05$ All data sets show mean and SD. One-way ANOVA and Tukey's multiple comparisons tests were made. Each data set was compared against N2 + Gluc.

Bylerly L, 2009

La movilidad de la larva se ve afectado al aumentar las concentración circulante de glucosa.

Calderón J, 2013

Al exponer a la larva a concentraciones de un extracto con efecto hipoglicemiante, aumenta la movilidad y la longitud de la larva.

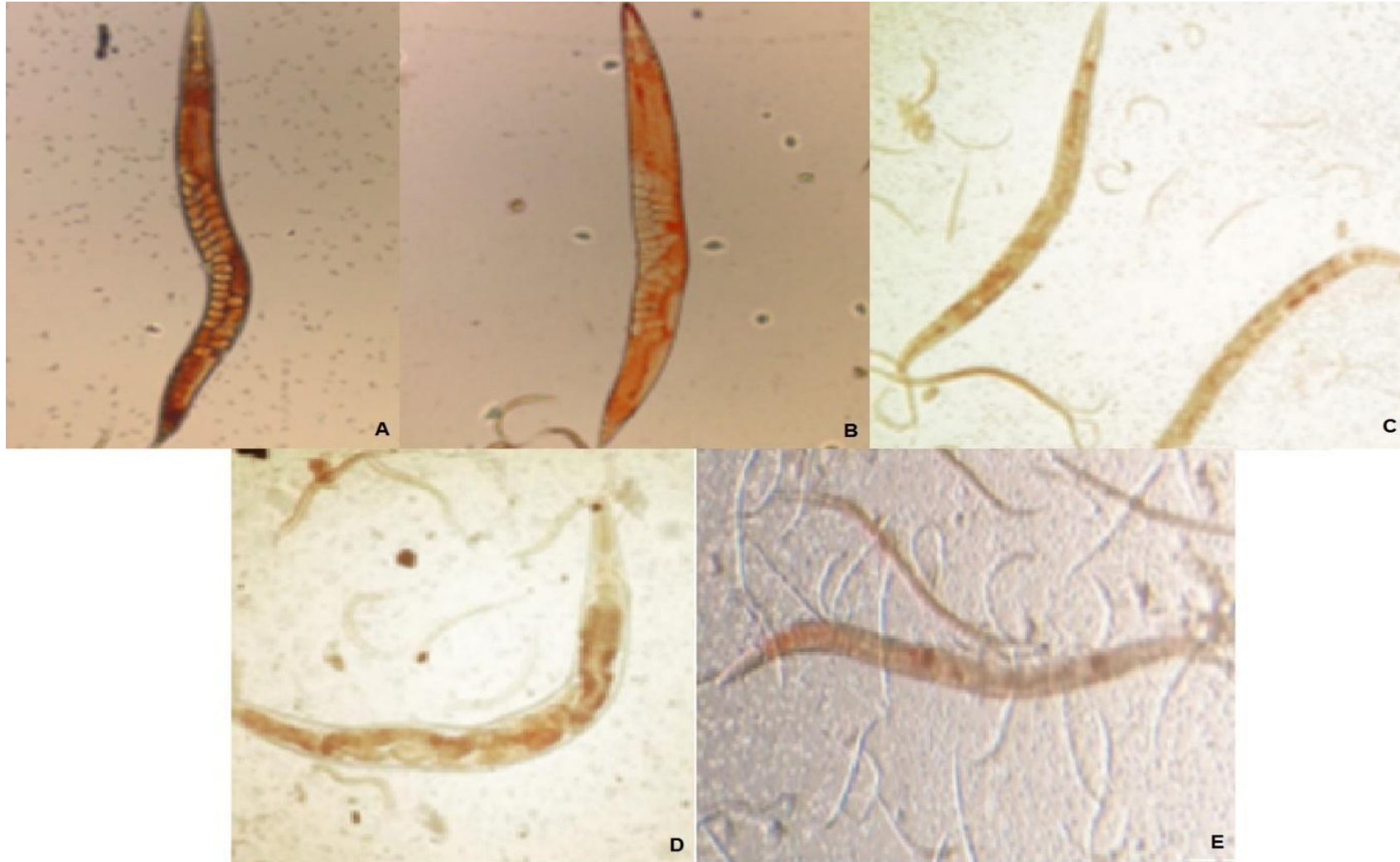


p=0,05 All data sets show mean and SD.
2way ANOVA and Dunnett's multiple comparisons tests were made. Each data set was compared against N2 + Gluc.

Calderón, 2013

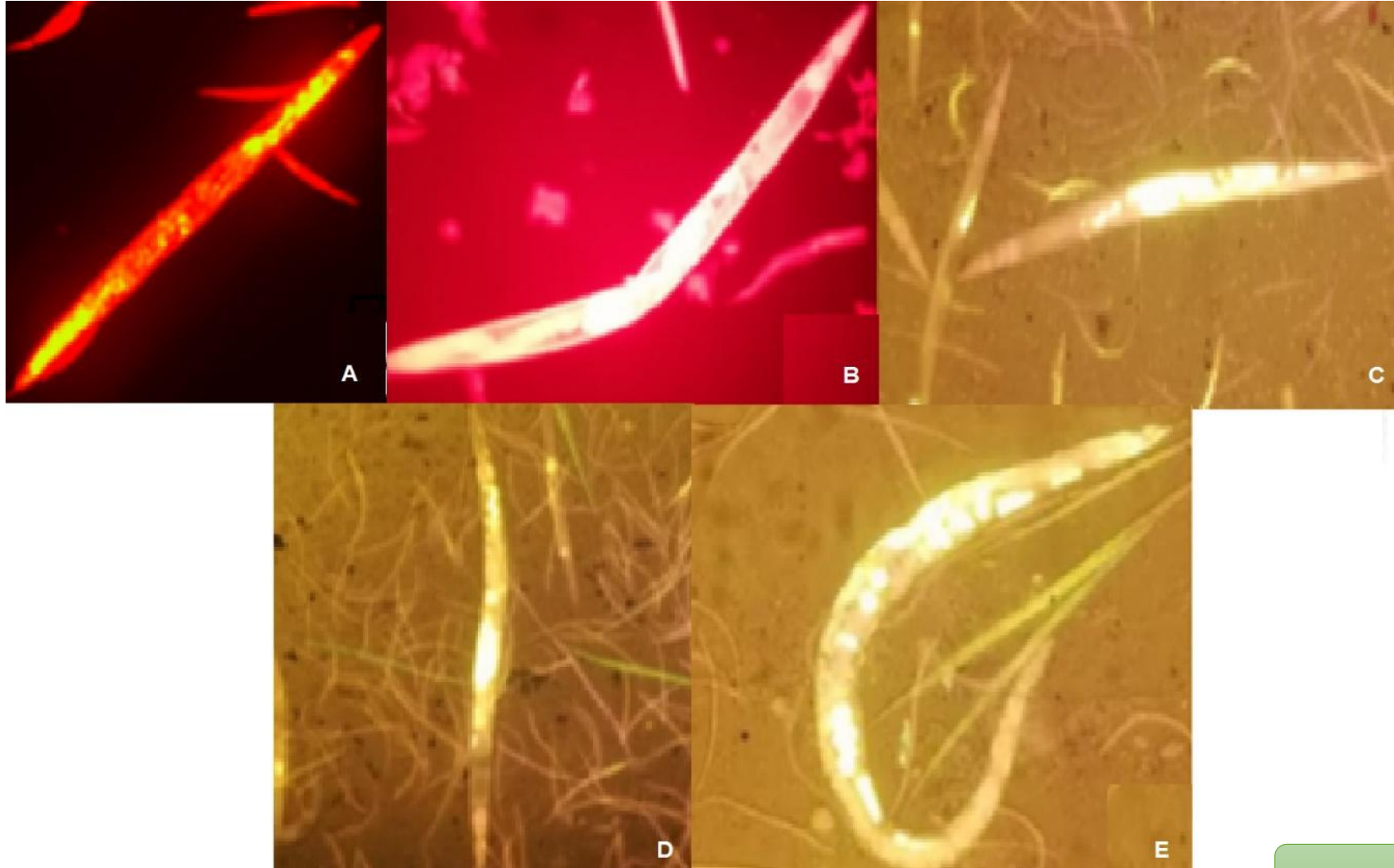
Los niveles altos de glucosa circulante en el nematodo y humanos desencadena la producción excesiva de ROS

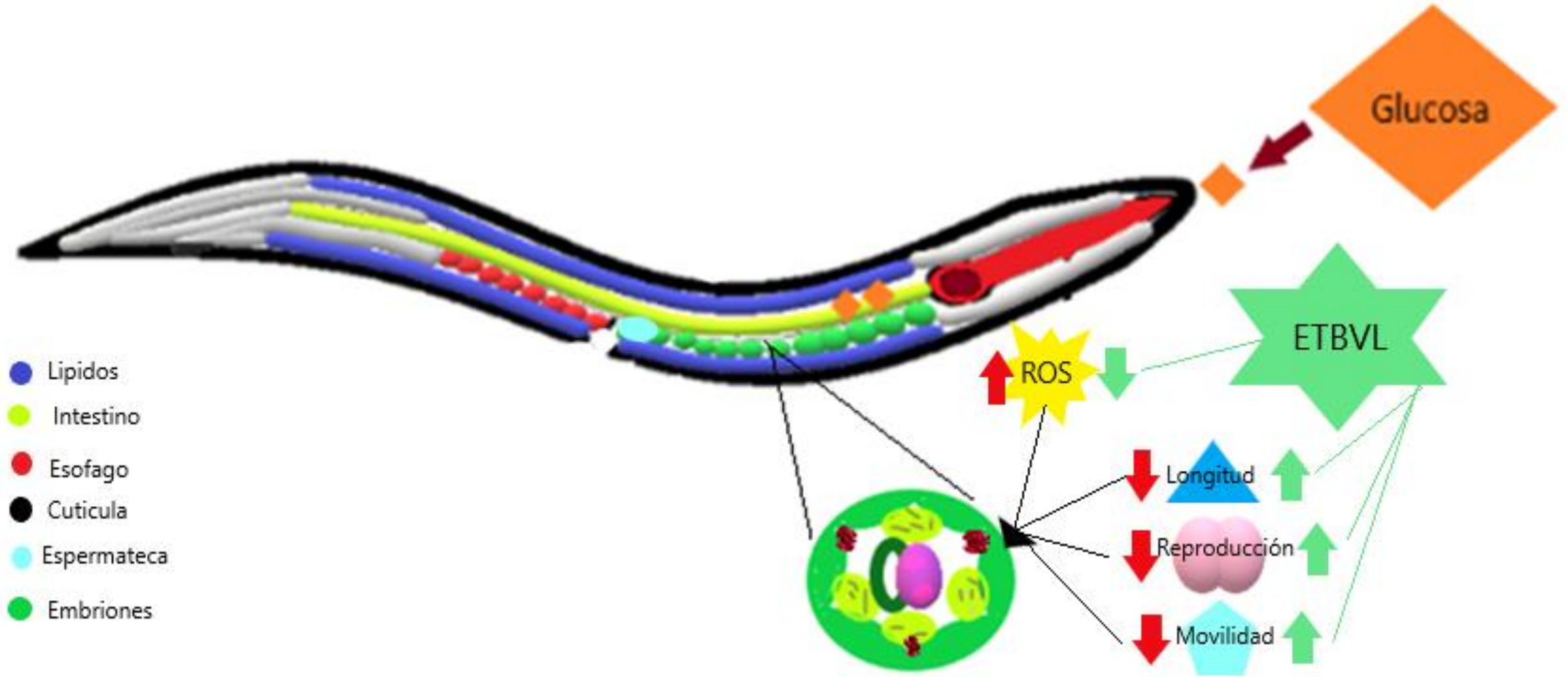
Sudan III



Tinción de lípidos

Azul de Nilo





- El extracto etanólico de las hojas de *B. variegata Linn*, posee **flavonoides y terpenos** fitocompuestos que poseen actividad **hipoglicemiante y antioxidante** de la planta.
- Los nematodos expuestos a dietas altas en **glucosa**, disminuyeron **la capacidad de poner huevos, moverse y su longitud**. Adicional a esto incrementaron los agregados de lípidos en el cuerpo del nematodo.
- **El extracto etanólico de *B. variegata Linn***, mejoro las actividades fisiológicas del nematodo expuesto a altas concentraciones de glucosa, **aumentaron la postura de huevos, la movilidad y la longitud de la larva**; además se **observo una disminución en cuanto al acumulo de lípidos en el cuerpo del nematodo**.
- **Los nematodos** alimentados con una dieta **rica en glucosa mostraron una mayor mortalidad de larvas**, sin embargo después de la exposición al extracto **etanólico** de *B. variegata Linn* se encontraron un mayor numero de larvas que soportan la producción de ROS, lo que sugiere una actividad antioxidante del extracto.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

SEDE BOGOTÁ
FACULTAD DE CIENCIAS
INSTITUTO DE CIENCIAS NATURALES
HERBARIO NACIONAL COLOMBIANO (COL)

COL – 71
Bogotá D.C., 26 de septiembre de 2019

Señores
DANIELA CORREALES
Ciudad

Asunto: **Identificación Taxonómica.**

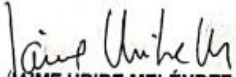
Cordial Saludo,

Me permito dar respuesta a su solicitud referente a la identificación taxonómica de la(s) muestra(s) botánica(s):

☞ Nombre: *Bauhinia* aff. *Variegata* L.
☞ Familia: FABACEAE
☞ No. COL: 612117
☞ Colector: Daniela Corrales & Edwin Molano
No. Colecta: 1
Determinó: Garzón- Ladino, C. /2019

Permiso de recolecta / Permiso de Investigación: No aplica. Planta cultivada.

Esta certificación no es válida para trámites ante el INVIMA o el ICA. El (Los) pliego(s) testigo(s) quedará(n) como muestra permanente en nuestro herbario.


Prof. **JAIME URIBE MELÉNDEZ**
Director
Herbario Nacional Colombiano –COL
Universidad Nacional de Colombia
E-mail: herbacol_fcbog@unal.edu.co

**Second Latin American Worm Meeting
February 19-21- 2020
Rosario- Argentina**



Rosario, February 21, 2020

We certify that **Daniela Alejandra Correales Molano** participated in the Second Latin American *C.elegans* Meeting held in Rosario, Argentina from February 19th to 21st 2020, presenting the poster "**Assessment of the lipolytic and antioxidant effect of the ethanol extract of the leaves of *Bauhinia variegata* Linn in experimental model of induced diabetes *Caenorhabditis elegans***"

Diego de Mendoza
Scientific Committee

XVII ENCUENTRO REGIONAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN

La Red Colombiana de Semilleros de Investigación
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Otorga certificado a:
Yulieth Alejandra Castañeda

Con cedula de ciudadanía 1.233.496.858
en calidad de: **Ponente**

Por su participación en el XVII Encuentro Regional de Semilleros de Investigación, Nodo - Bogotá - Cundinamarca, en la Fundación Universidad Autónoma de Colombia durante los días 8, 9 y 10 de mayo de 2019.

German Eduardo Vargas Zapata
Coordinador RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Carlos Edwin Carranza Gutierrez
Tesorero RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

XVII ENCUENTRO REGIONAL DE SEMILLEROS DE INVESTIGACIÓN

La Red Colombiana de Semilleros de Investigación
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Otorga certificado a:
Daniela Alejandra Correales Molano

Con cedula de ciudadanía 1.026.299.948
en calidad de: **Ponente**

Por su participación en el XVII Encuentro Regional de Semilleros de Investigación, Nodo - Bogotá - Cundinamarca, en la Fundación Universidad Autónoma de Colombia durante los días 8, 9 y 10 de mayo de 2019.

German Eduardo Vargas Zapata
Coordinador RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Carlos Edwin Carranza Gutierrez
Tesorero RedCOLSI
Nodo Bogotá - Cundinamarca

Gracias!!

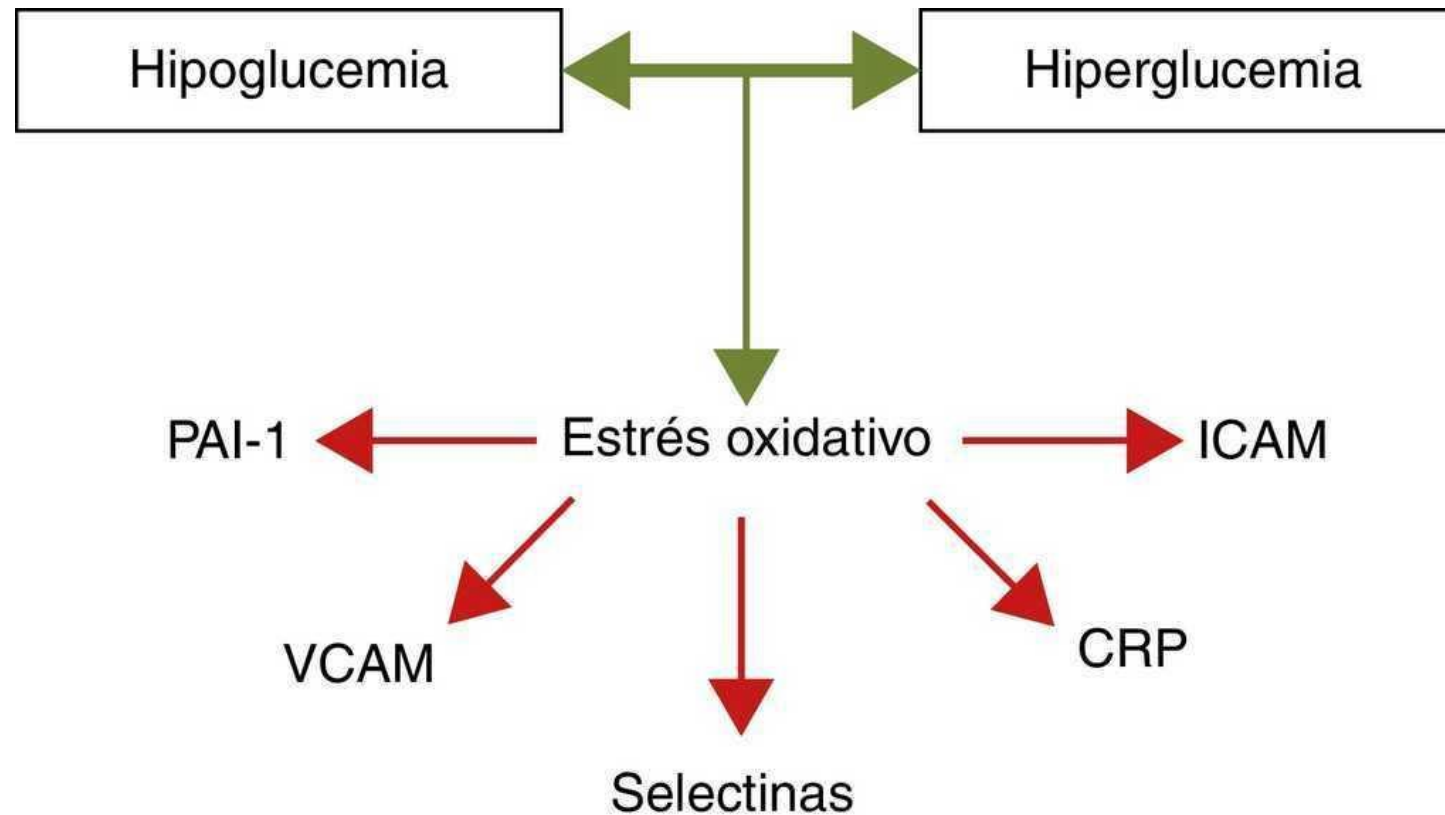
Queremos agradecer primeramente a nuestras familias por el apoyo brindado durante todo este proceso, sin ellos no hubiéramos terminado.

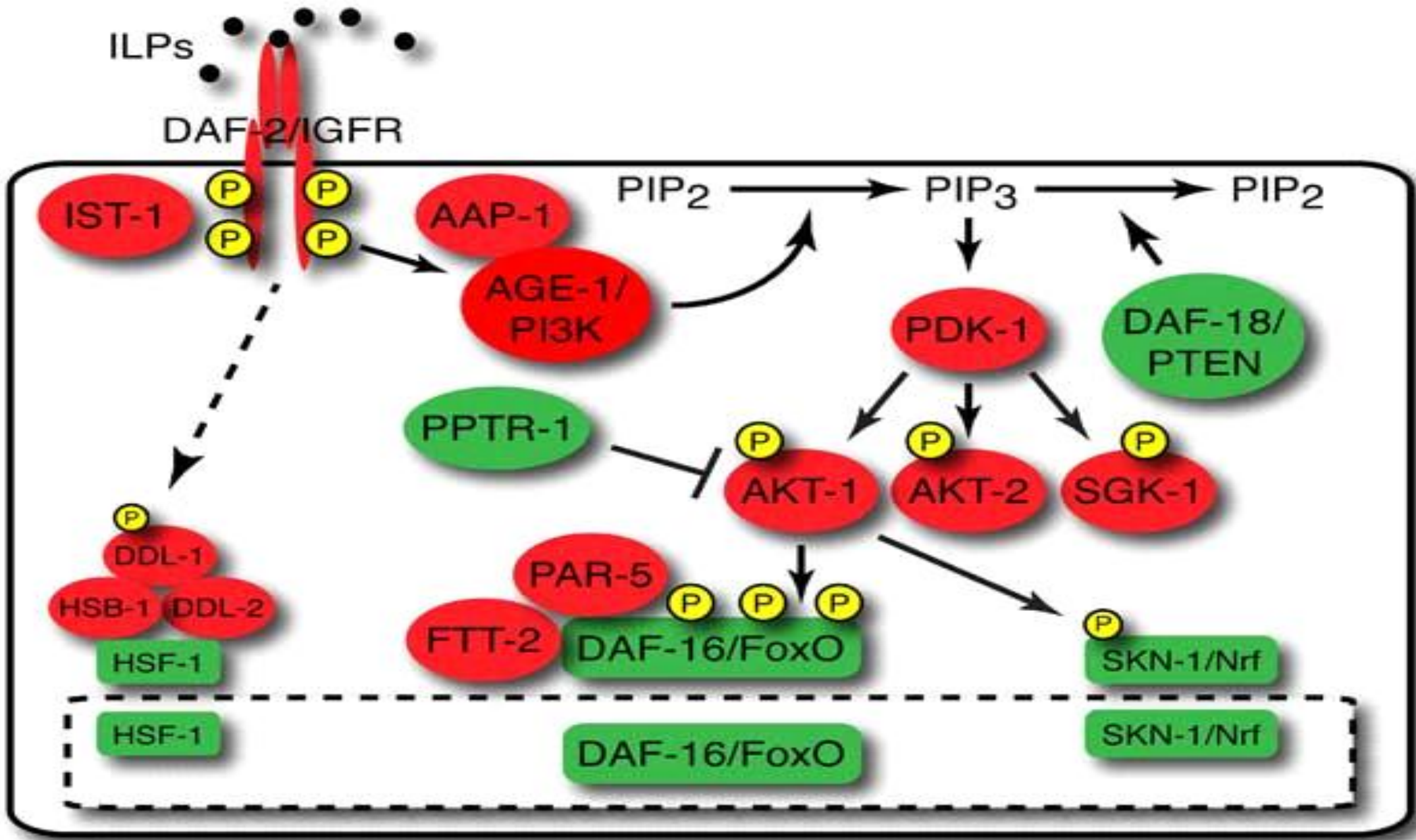
Agradecer a la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca por brindarnos las herramientas para culminar esta etapa, a la Universidad Nacional de Colombia y a la FUCS por abrirnos sus puertas para desarrollar allí parte de nuestro trabajo.

A la profesora Ruth Sánchez, sin su apoyo y su constante acompañamiento no hubiéramos logrado terminar.

El estrés oxidativo surge por el aumento de ROS/RNS y una disminución de la habilidad de protección antioxidante

En diabetes la hiperglucemia puede conducir a un incremento en las vías de la autooxidación, el sorbitol, los productos de glicación avanzada y la cadena respiratoria, todas ellas llevan a generar el radical O₂.





Murphy CT, Hu PJ Insulina / señalización del factor de crecimiento similar a la insulina en *C. elegans*