

## **ESTUDIO DE PROPIEDADES MEDICINALES DE LA MIEL DE MELIPONAS EN EL TRATAMIENTO OFTALMOLÓGICO EN RATAS**

María del Lujan Pedraza Artusso<sup>1</sup>, Alicia Suarez Corchon<sup>2</sup>, José María De Luca<sup>3</sup>, Guillermo Bagnis Ataniya<sup>2</sup>, Débora Soledad Cots Negri<sup>2,4</sup>, Amada Pucciarelli<sup>5</sup>, Aida Andrea Bozzo Chiavassa<sup>2</sup>, Fabrisio Eduardo Alustiza Fedorak<sup>2,4</sup>.

Correo electrónico del primer autor: [lujanpedraza@hotmail.com](mailto:lujanpedraza@hotmail.com)

<sup>1</sup> becaria CEDIT

<sup>2</sup> Docente Fac. Agronomía y Veterinaria, UNRC.

<sup>3</sup> Docente Fac. Cs. Economicas, UNaM.

<sup>4</sup> Becario CONICET

<sup>5</sup> Docente Fac. Cs. Exactas, Bioquímica y Farmacia, UNaM.

### **RESUMEN**

La miel de Yateí, el producto de las abejas meliponas *Tetragnostica angustula*, con propiedades medicamentosas de interés. El Objetivo de este proyecto fue comprobar si la miel de Yateí disminuye la opacidad del cristalino causada por diabetes inducida en ratas, previniendo la formación de cataratas. Se trabajo con 22 ratas albinas cepa Wistar a las que se administro estreptozotocina (dos dosis de 40 mg/Kg) para inducir diabetes. Grupos experimentales, tratando solamente el ojo derecho (OD); grupo 1 (n=6) tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de Yateí, grupo 2 (n=6) tratamiento desde el inicio de la formación de las cataratas con miel de Yateí, grupo 3 (n=5) tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de Yateí, grupo 4 (n=5) tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de *A. mellifera*. Se dosaron los niveles de glucemia mediante glucometer y la formación de cataratas mediante observación oftalmoscópica de las pupilas dilatadas. Se observo que la droga resulto efectiva en la inducción de la diabetes, registrando niveles de glucemia entre 342 y 573 mg/dl y glucosuria +++1000. Las observaciones oftálmicas mostraron que la miel de Yateí no detiene la evolución de las cataratas, pero se observo fue menos avanzada comparando el ojo tratado (OD) con el que no recibió tratamiento (OI). La miel de *Appis mellifera*, no mostro efecto alguno. Estos resultados preliminares nos permiten inferir que la miel de Yateí retarda el desarrollo de las cataratas

### **INTRODUCCIÓN**

La miel es el producto más importante de las abejas sin aguijón (meliponas). Sus características organolépticas dependen del contenido de azúcares totales, de su madurez y de la presencia de compuestos activos tales como: glicósidos, aminoácidos, isoprenoides, alcaloides, flavonoides, ácidos orgánicos y cumarinas, entre otros compuestos fenólicos; los cuales aportan propiedades especiales y definen el **flavor** de este producto (Salamanca Grosso, 2001). La miel de yateí difiere ampliamente de la miel producida por *Apis mellífera*, siendo menos viscosa, menos dulce y más ácida. La composición de la miel puede variar dependiendo de la flora, ubicación, la temporada de cosecha, la gestión y sobre todo la especie de abeja que produjo la miel.

La diabetes es una enfermedad metabólica relativamente común alrededor del mundo. En décadas recientes se realizaron estudios de prevalencia a nivel mundial de la enfermedad detectando una población que padece de esta dolencia de alrededor de 347 millones de personas (OMS, 2012).

La inducción de diabetes experimental en modelos animales es posible mediante métodos como la remoción del páncreas, inyección de drogas como el aloxán o la estreptozotocina. En el caso de la remoción del páncreas, se generan algunos problemas derivados de la cirugía como intolerancia y desordenes metabólicos e intestinales. En cuanto a la utilización de drogas como la estreptozotocina, que **tiene la capacidad de inflamar y degenerar las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans**. Este último método resulta más efectivo, menos cruento y más económico, además de mejor aceptado bioéticamente (Akbarzadeh *et al.*, 2007).

En los estadios diabéticos no se produce suficiente insulina y ello eleva la glucosa sanguínea, lo cual causa un incremento de la glucosa en el cristalino ocular (Spiro, 1976), donde puede penetrar por posible difusión (Pettersson & Delamere, 1992). Este elevado nivel de glucosa ocasionaría la glicosilación de las proteínas lenticulares y pérdida de la transparencia del cristalino, proceso que también se ha utilizado para explicar el envejecimiento de proteínas de larga duración (Monnier & Cerami, 1979).

La miel de Yateí es conocida amplia y popularmente, desde la época de los aborígenes guaraníes, por sus propiedades medicinales. Localmente es utilizada como terapéutica en afecciones de garganta, bronquios, pulmón; se aplica en los ojos para tratar las cataratas y la conjuntivitis; como así también en la piel para la cura de heridas. La aplicación de la miel de *Tetragonisca* sp. en Guatemala, México y Venezuela, se emplea primordialmente para tratar las cataratas, además, como

fertilizante femenino y en desórdenes gastrointestinales. Las propiedades anticataratas, por la acción de flavonoides, de la miel de meliponas se estudiaron en un modelo experimental de producción de cataratas osmóticas en cristalino de ovejas. La inhibición significativa de cataratas causada por cuatro derivados de luteolina *in vitro* puede considerarse como una prueba preliminar de las propiedades anticataratas de mieles de abejas sin aguijón. (Vit, 2002). La miel de *Tetragonisca angustula*, tienen la aceptación popular de curar las cataratas en Brasil, Venezuela y Argentina; sin embargo, no se ha evaluado científicamente tal propiedad curativa. Los flavonoides son los agentes más estudiados que podrían inhibir cataratas según la teoría osmótica (Kador, 1983). Estudios preliminares realizados en Venezuela permitieron encontrar que la luteolina y sus derivados son muy frecuentes en mieles de abejas sin aguijón (Vit, 1997), y posiblemente sean principios activos en la creencia popular de las mieles anticatarata. Además del efecto inhibitor de la aldosa reductasa, los flavonoides podrían actuar como antioxidantes (Michael, 2000). Posiblemente, se trate de un efecto sinérgico entre la catarata osmótica y la oxidativa (Zatechka, 1999).

Actualmente no existe suficiente información calificada a cerca de las propiedades medicinales de la miel de Yateí, ni de sus propiedades oftalmológicas. Esto motiva la realización del presente trabajo.

El Objetivo de este proyecto es comprobar si la miel de Yateí disminuye la opacidad del cristalino causada por diabetes inducida en ratas, previniendo la formación de cataratas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Muestras de miel**

Para realizar los muestreos se consideraron principalmente los factores climáticos y de asepsia, las muestras se tomaron con guantes y jeringas estériles directamente de la colmena. A las muestras obtenidas se les realizaron análisis microbiológicos y bromatológicos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos y Biotecnología "Dr. Fernando O. Benassi" de la Facultad de Ciencias Exactas Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Misiones.

### **Modelo Murino: Inducción de la diabetes**

Se trabajo con ratas albinas de cepa Wistar adultas (n=22), distribuidas en cuatro grupos experimentales de la siguiente manera:

- Grupo 1: tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de Yateí (n=6 ratas adultas).
- Grupo 2: tratamiento desde el inicio de la formación de las cataratas con miel de Yateí (n=6 ratas adultas).
- Grupo 3: tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de Yateí (n=5 ratas jóvenes).
- Grupo 4: tratamiento desde el inicio de la diabetes con miel de *A. mellifera* (n=5 ratas jóvenes).

Los animales se alojaron en cajas, se mantuvieron en condiciones estándar de bioterio (Temperatura  $22\pm 4^{\circ}\text{C}$ , fotoperiodo 16 horas luz/8 horas oscuridad) con acceso a agua y alimento *ad libitum*. En diferentes periodos de tiempo, se midió el peso corporal, la concentración de glucosa sanguínea y se observaron los cristalinios de los animales con oftalmoscopio.

### **Inducción de Diabetes**

Para inducir la diabetes, las ratas fueron inyectadas con estreptozotocina (Sigma Aldrich®) según el modelo propuesto por Vit (2002), modificado brevemente, la aplicación se realizó vía intraperitoneal (IP), la droga fue diluida en tampón citrato de sodio 0.2M pH 4.5 inmediatamente antes de su uso y mantenida en hielo y protegida de la luz hasta el momento de inyectar, a una dosis de 80 mg/kg de peso. La dosis fue distribuida en dos inyecciones de 40 mg/kg de peso cada una, separadas una de otra por un periodo de una semana, de acuerdo a lo sugerido por Akbarzadeh *et al.*, (2007).

### **Observaciones del cristalino**

El diagnóstico de las cataratas se realizó mediante un examen oftalmológico estándar, para el cual, se dilataron ambas pupilas de los animales mediante la aplicación de Alcon Mydril-Tropicamida (Laboratorios Alcon®). Los niveles de opacidad del cristalino, se clasificaron con cruces, siguiendo el siguiente criterio: incipiente (-), inmadura (+), moderada (++), grave (+++).

### **Glucosa sanguínea**

En los mismos periodos de tiempo en los que se tomó el peso corporal de los animales, se dosaron los niveles de glucosa sanguínea por sangrado de colas laceradas de los animales. El análisis se realizó utilizando un glucometer clásico (Accu-chek®) utilizado rutinariamente por pacientes diabéticos.

### **Diseño Experimental:**

A las ratas de los grupos 1 y 3 se les aplicó 1 gota de miel pura de Yateí en el ojo derecho 1 vez al día mediante gotero. Las ratas del grupo 2 recibieron el mismo tratamiento, pero a partir del momento indicado como inicio de la formación de cataratas. Los animales del grupo 4 recibieron un tratamiento similar pero con miel

de *A mellifera* en lugar de miel de Yateí desde el inicio de la diabetes. En todas las ratas de todos los grupos se dejó el ojo izquierdo sin recibir tratamiento alguno como control negativo.

A lo largo de los ensayos los animales fueron manipulados siguiendo las guías de bienestar animal de la UNRC e internacionales.

### **Análisis Histopatológico**

Luego del sacrificio los globos oculares, páncreas, riñón e hígado se fijaron con formol tamponado y se siguieron los pasos de microscopía óptica convencional. Se realizaron cortes alternados de 4 a 7  $\mu\text{m}$  con micrótomo Reicher-Young 2035 que fueron montados en portaobjetos, teñidos y posteriormente analizados para determinar las lesiones de cristalino y retinopatías.

### **Levantamiento de Imágenes crudas y Procesamiento de Imágenes**

De cada corte histológico se digitalizaron imágenes, constituyéndose un banco de imágenes crudas. Para ello se utilizó un microscopio Zeiss Axiophot con cámara digital AxioVision Zeiss y software asociados.

### **Análisis estadístico.**

Se utilizó el Software InfoStat versión que permite el ajuste de modelos mixtos y el SAS 9.1. Se realizó un análisis descriptivo exploratorio. Para la comparación de medias entre los grupos tratados con miel de Yateí o de Apis se utilizó el análisis de la varianza (ANOVA) de una vía, con test a posteriori de Tuckey, con diferencias consideradas significativas si  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

El análisis microbiológico y fisicoquímico de las muestras de miel de Yateí y de *Apis mellifera*, que se utilizó para realizar los ensayos, dio como resultado que tanto la miel de *A. mellifera* como la de Yateí son aptas para el consumo, de acuerdo a los parámetros de referencia (Tabla 1). Esta aptitud permite también su utilización en los ensayos con los animales experimentales.

Se logró establecer el modelo murino, a las ratas se les administró la estreptozotocina en dos dosis de 40 mg/kg de animal, con un intervalo de 1 semana entre una y otra dosis. En ninguno de los animales se observaron reacciones adversas, del tipo alérgico y/o inflamatorio, causadas por la aplicación de la droga por vía IP. Sin embargo, en los grupos 3 y 4, constituido por ratas jóvenes, se realizó una tercera aplicación de la droga de 40 mg/kg de animal a los

15 días posteriores a la última aplicación, ya que no se logró inducir la diabetes con solamente dos aplicaciones.

Como se observa en la Tabla 2 los valores de glucemia determinados muestran que la droga hizo efecto, dando valores comparables a los de un animal diabético. Se pueden observar las diferencias entre los valores de dosaje de glucemia previos a la administración de la droga, comparados con los encontrados al final del ensayo, son marcadamente diferentes lo que indicaría la diabetes.

Se puso a los animales en jaulas metabólicas, con agua *ad libitum*, pero sin alimento y durante 4 horas, a los fines de coleccionar muestras de orina para hacer un análisis de las mismas y una relación con la diuresis. El análisis de orina completa ayuda a corroborar el diagnóstico de diabetes. En la Tabla 3 se muestran los resultados del urianálisis. Como puede observarse se concuerdan con el diagnóstico de diabetes, vistos fundamentalmente por la presencia de altos niveles de glucosa en orina (+++1000) en todos los casos, se vio también altos niveles de proteinuria, que marcaría daño renal, y presencia de sangre en casi todas las muestras. En ninguna de las ratas se observó leucosuria, urobilinógeno ni cetonas.

La reducción en el número de animales en los grupos 1, 2 y 4, durante el ensayo, fue debida a la muerte de tres ratas a causa del gran deterioro sufrido como consecuencia de la diabetes, de dos de estos animales se lograron enucleares los ojos para análisis histopatológico, no así el resto de los órganos abdominales tomados en los otros animales. En la Tabla 4 se muestran los resultados de las observaciones oftálmicas.

Los presentes hallazgos muestran que la miel de Yateí no detiene la evolución de las cataratas, pero se puede observar que la formación de la catarata fue menos avanzada comparando el ojo tratado (OD) con el que no recibió tratamiento (OI). En cuanto al efecto de la miel de *Apis mellifera*, no se observó efecto alguno al comparar el ojo tratado con el que no recibió tratamiento. Por lo que inferimos que la miel de Yateí es más efectiva que la de *A. mellifera*, a pesar de no frenar completamente el desarrollo de las cataratas.

Los hallazgos histopatológicos muestran alteraciones a nivel pancreático y renal compatibles con el modelo de ratas diabéticas propuesto. Se observó una marcada alteración a nivel de corteza renal con glomérulos atrofiados y espacios de ultrafiltración dañados, túbulos contorneados proximales con epitelios alterados y marcada presencia de proteínas en túbulos colectores, además de hiperemia. A nivel pancreático se observaron alteraciones en los islotes, hiperemia en todo el órgano y acinos de estructura no homogénea (Figura 1). No se detectaron alteraciones hepáticas por la administración de la droga. En cuanto al análisis de los

globos oculares, se pudo observar una marcada alteración del cristalino, tanto a nivel epitelial con hiperplasia epitelial y modificaciones hidrópicas, como a nivel de las fibras con alteraciones en su organización y agregados proteicos (Figura 2 y 3). A nivel de retina se pudo observar alteraciones de la organización de los fotorreceptores causadas por la diabetes (retinopatía). Sin embargo, la retinopatía no se observó en los ojos tratados con miel de Yateí (Figuras 4 y 5).

## **DISCUSION**

Los presentes resultados son una contribución para la validación de protocolos experimentales de bioensayos que permitan estudiar tratamientos anticataratas como la aplicación de miel de Yateí. Esta miel tiene la aceptación popular de curar las cataratas en Brasil y Venezuela y ha sido también utilizada con fines oftalmológicos por la comunidad aborigen guaraní en la provincia de Misiones (Argentina); a pesar de no haberse estudiado científicamente sus propiedades curativas.

Los flavonoides son los agentes más estudiados que podrían inhibir cataratas según la teoría osmótica, (Kador, 1983). Estudios preliminares realizados en Venezuela permitieron encontrar que la luteolina y sus derivados son muy frecuentes en mieles de abejas sin aguijón (Vit *et al.*, 1997) y posiblemente sean principios activos en la creencia popular de las mieles anticataratas. Además del efecto inhibidos de la aldosa reductasa, los flavonoides podrían actuar como antioxidantes (Michael *et al.*, 2000).

En cuanto al modelo experimental, se vio que el efecto de la estreptozotocina en la inducción de la diabetes fue el esperado en las ratas adultas, mientras que no se vio el mismo efecto en los grupos constituidos por animales jóvenes. Esto probablemente se deba a que los animales jóvenes, a los que se les indujo la diabetes a los dos meses de vida, muestran mayor resistencia a la droga. Para lograr la diabetes fue necesaria la aplicación de una tercera inyección de la droga. Esta observación es coincidente con lo reportado por Akbarzadeh *et al.*, (2007) quienes trabajaron con ratas de 90 días de vida en adelante. Sin embargo, se logro el modelo de ratas diabéticas, los valores de glucemia y las alteraciones en los análisis de orina lo demuestran. Estos resultados son coincidentes con lo reportado por Akbarzadeh *et al.*, (2007) y por Vit *et al.*, (2002) quienes observaron hallazgos similares en orina.

Los análisis histopatológicos refuerzan los parámetros bioquímicos del modelo, observándose el desarrollo de las alteraciones esperadas a nivel pancreático, renal y oftálmico. Con el marcado desarrollo de cataratas y retinopatías asociadas a la diabetes. Sin embargo, resulto alentados observar que las alteraciones a nivel de

retina no fueron tales en los ojos de los animales que recibieron miel de Yateí tanto jóvenes como gerontes. Este efecto beneficioso de la miel es una de las perspectivas para continuar investigando.

## **CONCLUSIONES**

Con los presentes resultados se pudo observar que la miel de meliponas puede ser una opción para prolongar el tiempo de aparición de las cataratas, como así también hacer más lenta su evolución. Lo observado en el modelo propuesto es que la miel no detiene por completo la evolución de las cataratas. En cuanto a las retinopatías asociadas a la diabetes, hemos visto que la miel de Yateí podría evitar las alteraciones de los fotorreceptores, sin embargo es necesario continuar con estudios más exhaustivos para comprobar este efecto.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Michael R., Vrensen G., van Marle J., Löfgren S., Söderberg P. 2000. Repair in the rat lens after threshold ultraviolet radiation injury. *Investigative Ophthalmology & Visual Science* 41 (1): 204-212.
- Monnier V., Cerami A. 1981. Nonenzymatic browning *in vivo*: possible process for aging of longlived proteins. *Science* 211; 491-493.
- OMS 2004. World Health Organization; <http://www.who.int/medacenter/factsheets/fs/138/en/Page1-3>
- Patterson C., Delamere N. 1992. The lens. Pp. 348-390. En: Ed. W.M. Hart Jr. *Adler's Physiology of the Eye*. 9th. Edition. Ed. Mosby; St. Louis; USA; 521 p.
- Salamanca Grosso G., Henao Rojas C., Moreno G., Luna A. 2001. Características microbiológicas de las mieles tropicales de *Apis mellifera* [gsalaman@angel.ut.edu.co](mailto:gsalaman@angel.ut.edu.co)
- Spiro R. 1976. Search for a biochemical basis of diabetes microangiopathy. *Diabetologia* 12: 1-14.

- Vit P., De Jesus R., Gudiño M., Jacob T. 2002. Inducción de cataratas experimentales en ratas diabetizadas con estreptozotocina. *Revista de la Facultad de Farmacia* 43: 15-18.
  
- Vit P., Soler C., Tomás-Barberán F. 1997. Phenolic profiles of *Apis mellifera* and *Melipona* spp. honeys from Venezuela. *Zeitung für Lebensmittel Unters Forschung* 204: 43-47.
  
- Zatechka D., Kador P., Lou H. 1999. Disruption of lens signal transduction cascades under diabetic conditions. US-Japan CCRG Meeting, November 13-17; Kona, Hawaii; p. 69.

## ANEXOS

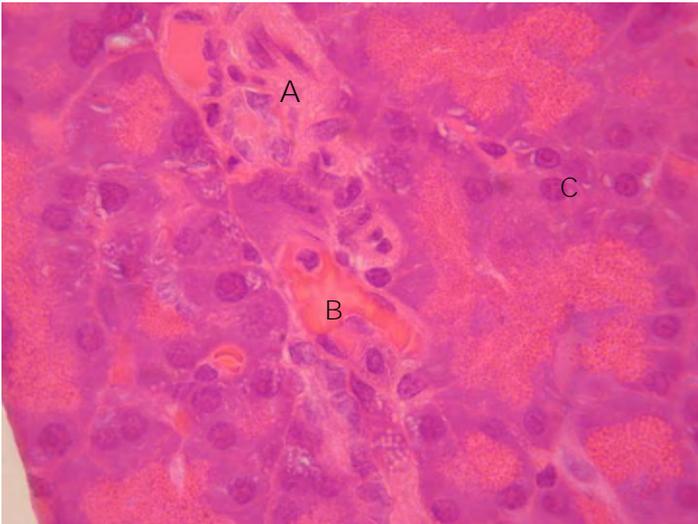


Figura 1: Páncreas H/E 1000X. A islote pancreático. B vaso sanguíneo. C acinos pancreáticos.

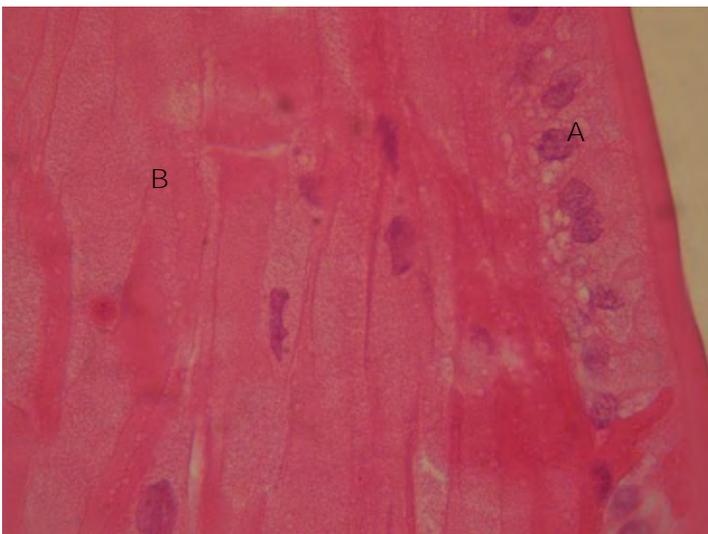


Figura 2: Cristalino H/E 1000X. A epitelio. B fibras cristalinas.

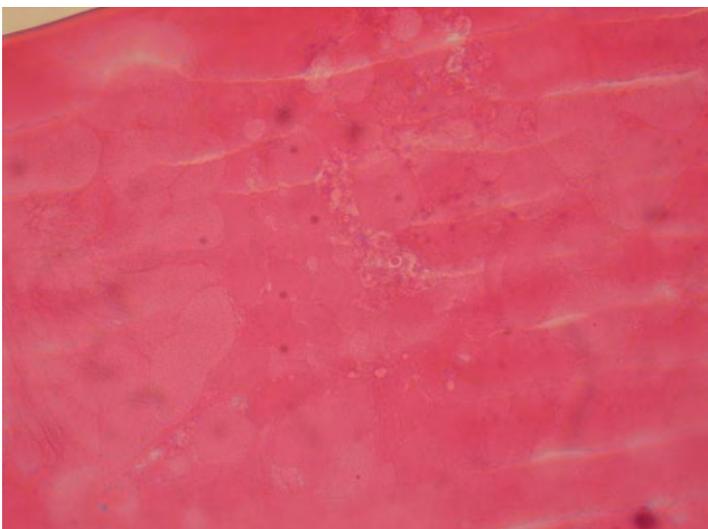


Figura 3: Cristalino H/E 1000X. Estructura alterada de las fibras cristalinas.

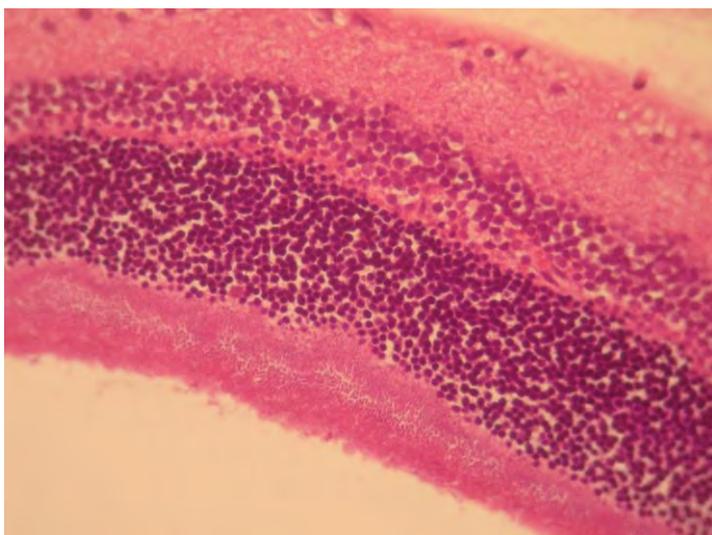


Figura 4: Retina H/E 400X. Estructura normal de la retina, ojos tratados con miel de Yateí.

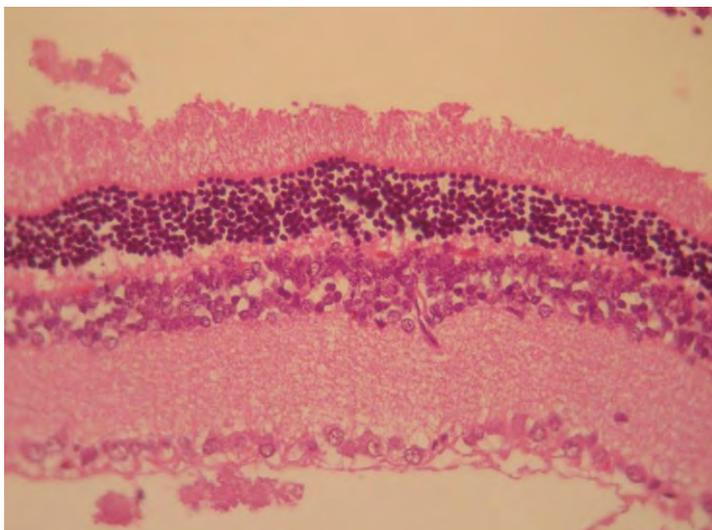


Figura 5: Retina H/E 400X. Retinopatía observada en los ojos no tratados con miel de Yateí.

**Tabla 1:** Análisis microbiológico y fisicoquímico de muestras de miel de Yateí y de *Apis mellifera*.

| Recuento                             | Unidades           | Miel Yateí | Miel Apis | Valores limite   |
|--------------------------------------|--------------------|------------|-----------|------------------|
| MAMT                                 | UFC/g              | 10         | 15        | $<1 \times 10^4$ |
| Coliformes totales                   | NMP/g              | <3         | <3        | <3               |
| Coliformes fecales                   | NMP/g              | <3         | <3        | <3               |
| <i>Escherichia coli</i>              | Presencia/Ausencia | Ausencia   | Ausencia  | Ausencia         |
| Enterococos                          | NMP/g              | <3         | <3        | -----            |
| <i>Staphylococcus aureus</i> cog (+) | UFC/g              | Ausencia   | Ausencia  | Ausencia         |
| Hongos y Levaduras                   | UFC/g              | 90         | 40        | $<1 \times 10^2$ |
| <i>Clostridium spp.</i>              | Presencia/         | Ausencia   | Ausencia  | Ausencia         |

|                        |                        |          |          |          |
|------------------------|------------------------|----------|----------|----------|
|                        | Ausencia               |          |          |          |
| <i>Bacillus spp.</i>   | UFC/g                  | Ausencia | Ausencia | -----    |
| <i>Salmonella spp.</i> | Presencia/<br>Ausencia | Ausencia | Ausencia | Ausencia |
| pH                     |                        | 4.15     | 4.25     |          |

MAMT: Microorganismos Aerobios Mesófilos Totales, UFC/g: Unidades Formadoras de Colonia/gramo, NMP/g: Numero Más Probable/gramo.

**Tabla 2:** valores promedio de glucemia al inicio y final del ensayo de cada grupo.

|                                 | <b>Grupo 1</b>      | <b>Grupo 2</b>      | <b>Grupo 3</b>      | <b>Grupo 4</b>      |
|---------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| <b>Glucemia inicial (mg/dl)</b> | 102±13 <sup>a</sup> | 121±5 <sup>a</sup>  | 105±13 <sup>a</sup> | 109±9 <sup>a</sup>  |
| <b>Glucemia final (mg/dl)</b>   | 421±98 <sup>b</sup> | 342±38 <sup>b</sup> | 494±15 <sup>b</sup> | 573±23 <sup>b</sup> |

Valor promedio±1DE. Letras distintas <sup>a, b</sup> indican diferencias significativas en la misma columna, ANOVA .

**Tabla 3:** valores promedio de urianálisis final de las ratas.

| <b>Determinaciones</b> | <b>Grupo 1</b> | <b>Grupo 2</b> | <b>Grupo 3</b> | <b>Grupo 4</b> |
|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| <b>Nitritos</b>        | +              | +              | +              | +              |
| <b>Proteínas</b>       | >2000          | >2000          | >2000          | >2000          |
| <b>pH</b>              | 6.5            | 6.5            | 6.5            | 6.5            |
| <b>Sangre</b>          | ++60           | ++55           | ++65           | ++80           |
| <b>Densidad</b>        | 1.010          | 1.005          | 1.015          | 1.005          |
| <b>Bilirrubina</b>     | ++             | ++             | ++             | ++             |
| <b>Glucosa</b>         | +++ 1000       | +++ 1000       | +++ 1000       | +++ 1000       |

**Tabla 4:** hallazgos de los exámenes oftalmológicos promedio al inicio y final de cada tratamiento.

| <b>Tratamiento</b>     | <b>Grupo</b> | <b>Inicio</b> |           | <b>Final</b>      |                     |
|------------------------|--------------|---------------|-----------|-------------------|---------------------|
|                        |              | <b>OD</b>     | <b>OI</b> | <b>OD</b>         | <b>OI</b>           |
| Yateí inicio diabetes  | 1            | ++Ca, +LS     | ++Ca, +LS | ++Ca, +LS, +N, +C | ++Ca, +LS, ++N, +C, |
| Yateí inicio cataratas | 2            | +Ca           | +Ca       | +Ca, +LS, +C      | +Ca, ++N, ++C       |
| Yateí inicio diabetes  | 3            | +Ca           | ++Ca, +N  | +Ca               | ++Ca, ++C, +N       |
| Appis inicio diabetes  | 4            | +Ca, +C       | +Ca, +C   | ++Ca, +C, ++N     | ++Ca, +C, +LS, +N   |

Referencias: LS-líneas de sutura, C-cortical, Ca-capsular, N-nuclear,