



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTUDIO CRÓNICO DEL EFECTO
HIPOGLUCEMIANTE DE LA CORTEZA DE
Rhizophora mangle EN RATAS DIABÉTICAS STZ-NA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A :

GERARDO MATA TORRES VALLE

Director de tesis:
DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

2014



FACULTAD DE CIENCIAS
UNAM



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. DATOS DEL AULMNO
Mata
Torres Valle
Gerardo
54 21 67 64
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306221547
2. Datos del tutor
Dr.
Adolfo
Andrade
Cetto
3. Datos del Sinodal 1
Dra.
María Cristina
Revilla
Monsalve
4. Datos del Sinodal 2
Dra.
Elia Martha
Pérez
Armendáriz
5. Datos del Sinodal 3
Dr. René de Jesús
Cárdenas
Vázquez
6. Datos del Sinodal 4
M. en C. Agustín
Carmona
Castro
7. Datos del trabajo escrito
Estudio crónico del efecto hipoglucemiante de la corteza de *Rhizophora mangle* en ratas diabéticas STZ-NA
39 p
2014

A Irma mi madre por su apoyo,

A mi abue "Ponchis",

A Gustavo mi hermano

Y Artemisa mi novia.

"El precio de la grandeza es la responsabilidad".

Winston Churchill

Agradecimientos académicos.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por ser la universidad que me forjó tanto académicamente como éticamente.

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por darme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación en su laboratorio y enseñarme personalmente las técnicas y procedimientos para la realización de este trabajo; además de enriquecer mi forma de análisis y abrir mi mente a diferentes puntos de vista, así como la confianza que depositó en mí para la realización de diversas actividades académicas en dichas instalaciones.

A la M. en C. Jazmín Samario y al Biol. Christian Cabello por su apoyo cuando tuve dificultades en los procedimientos realizados a lo largo de mi experimentación.

A la Dra. María Cristina Revilla Monsalve, Dra. Elia Martha Pérez Armendariz, Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez y al M. en C. Agustín Carmona Castro por las revisiones y comentarios realizados a este trabajo escrito que sirvieron para enriquecerlo, así como ampliar mi panorama de discusión de los resultados.

A la Biol. Artemisa Espinoza por la revisión y comentarios que ayudaron a enriquecer el presente trabajo.

A DGAPA PAPIIT (Proyecto IN 214413) por los recursos y becas aportados en la realización de este proyecto.

Agradecimientos personales

A mi madre, esa mujer ejemplar que me ha enseñado que no hay que rendirse a pesar de lo adversa que pueda ser la situación, además de siempre confiar en mí incluso en situaciones en las que ni yo podía confiar en mí, por todo eso y mucho más... Muchas gracias.

A toda mi familia que siempre ha creído en mí, en especial a mi hermano Gustavo por ser un ejemplo a seguir, a mi prima Karla por ser como una hermana. A mis tías Alicia, Gloria, María Luisa y Silvia, las cuales siempre me han apoyado. A mi abuela "Ponchis" por apoyarme tanto y nunca dejarme a un lado.

A todos mis amigos que han formado parte de mi vida, en especial a Antonio, Armando, Daniel, Guillermo, Iván, Jéssica, Yocelín y Xóchitl por hacer de la prepa una maravillosa etapa ser unas grandes personas que me han brindado su apoyo incondicional. A mis amigos de la Universidad en especial a Mariana, por todas esas tardes de diversión, además de ser una persona grandiosa que brinda su apoyo sin pedir nada a cambio. A Marisol una magnífica persona que ha sido uno de los soportes más importantes para mí dentro de esta etapa. A mis amigos del laboratorio de Etnofarmacología especialmente a David por ser un magnífico amigo y compañero, siempre haciendo que las cosas fueran más divertidas, más amenas y el trabajo en el laboratorio se realizara de la mejor manera. A Gabriela por ser esa persona que además de realizar un gran trabajo en el laboratorio también tenía tiempo para escuchar mis locuras y además hacerme reír. A Grisel esa amiga con la cual simplemente no podía haber un momento de tranquilidad siempre haciendo que el ambiente en el laboratorio fuera el mejor, siempre riendo y alegrando los días de trabajo. A Rocio por siempre ofrecerme su ayuda cuando la necesitara en el laboratorio y fuera de él, además de lo divertida que es y lo genial que es trabajar en el mismo laboratorio.

Por último, simplemente al segundo pilar más importante después de mi Madre... A mi novia Artemisa, que ha sido más que eso, ya que además ha sido una maravillosa amiga, una persona que ha sabido apoyarme y sacar lo de mejor de mí a lo largo de la carrera, siempre ayudándome a reír y estando ahí siempre que la he necesitado. Nunca olvidaré todas esas tardes académicas, ya que fueron una parte muy importante para que hoy en día pueda ser la persona que soy. Muchas gracias por confiar en mí y ayudarme a abrir los ojos y darme cuenta que soy capaz de las cosas que me proponga.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
ÍNDICE DE TABLAS	VIII
GLOSARIO	IX
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
Diabetes mellitus	2
ANTECEDENTES	4
Diabetes mellitus	4
Prevalencia	5
Diabetes Mellitus tipo 2	6
Hipoglucemiantes orales (HO)	10
Glibenclamida	11
Modelos animales	13
Modelo STZ-NA	13
ETNOFARMACOLOGÍA, PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES	15
<i>Rhizophora mangle</i>	16
JUSTIFICACIÓN	18
OBJETIVOS	18
General	18
Particulares	18
HIPÓTESIS	19
METODOLOGÍA	20
Animales experimentales	20
Inducción del modelo de diabetes	20
Medición glucosa, HbA1c, HDL, Tg y Chol	21
Colecta del material biológico	20
Elaboración del extracto etanol-agua de <i>R. mangle</i>	20
Grupos y administración de hipoglucemiantes	21
Análisis de datos	22
RESULTADOS	23

Medición de glucosa plasmática	23
Medición de hemoglobina glucosilada (HbA1c).....	26
Medición de perfil lipídico (triglicéridos, HDL, colesterol total)	27
DISCUSIÓN	31
Medición de glucosa plasmática.	¡Error! Marcador no definido.
Medición de hemoglobina glucosilada (HbA1c).....	¡Error! Marcador no definido.
Medición de perfil lipídico (triglicéridos, HDL, colesterol total)	¡Error! Marcador no definido.
CONCLUSIONES	35
PERSPECTIVAS	36
REFERENCIAS.....	37

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Niveles de los diferentes parámetros para el diagnóstico de pre-diabetes o diabetes, según la Asociación Americana de Diabetes	5
Figura 2. Tejidos afectados por la resistencia a la insulina	7
Figura 3. Órganos y tejidos afectados por la diabetes mellitus	10
Figura 4. Secreción de insulina mediada por glucosa	12
Figura 5. Secreción de insulina mediada por glibenclamida.....	12
Figura 6. Estructura química de estreptozotocina y nicotinamida	14
Figura 7. Vía de acción de estreptozotocina y nicotinamida.....	15
Figura 8. Fotografía de <i>Rhizophora mangle</i>	17
Figura 9. Gráfica de comportamiento de glucosa	25
Figura 10. Gráfica de comportamiento de hemoglobina glucosilada.....	27
Figura 11. Gráfica de comportamiento de triglicéridos	29
Figura 12. Gráfica de comportamiento de lipoproteínas de alta densidad	30

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Hipoglucemiantes orales más utilizados	11
Tabla 2. Grupos experimentales y tratamientos	¡Error! Marcador no definido.
Tabla 3. Valores medios de los niveles de glucosa plasmática.....	23
Tabla 4. Valores medios de los niveles de hemoglobina glucosilada.....	26
Tabla 5. Valores medios de los niveles de triglicéridos	28
Tabla 6. Valores medios de los niveles de lipoproteínas de alta densidad	29

GLOSARIO

ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	Adenosin difosfato
ATP	Adenosin trifosfato
CAM II	Calmodulina cinasa II
CD	Control diabético
CD+ G	Control diabético con glibenclamida
Chol	Colesterol
CND	Control no diabético
DER	Radio del extracto contra droga herbal
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
E+ Rm	Experimental con extracto de la corteza de <i>Rhizophora mangle</i>
FADH ₂	Flavin Adenina dinucleótido reducido
GLUT2	Transportador de glucosa 2
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrógeno
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HO	Hipoglucemiantes orales
ICA's	Anticuerpos anti islotes
IL-6	Interleucina 6

IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
MnSOD	Manganeso Superóxido dismutasa
NA	Nicotinamida
NAD ⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido oxidada
NADH	Nicotinamida adenina dinucleótido reducida
O ₂ ⁻	Superóxido
OMS	Organización Mundial de la Salud
ON	Óxido nítrico
PARP-1	Poli ADP-ribosa polimerasa
RI	Resistencia a la Insulina
STZ	Estreptozotocina
SUR1	Receptor a sulfonilureas 1
Tg	Triglicéridos
TNF- α	Factor de necrosis tumoral α
TZD	Tiazolidinedionas

RESUMEN

La diabetes mellitus es una enfermedad de gran importancia para los sistemas de salud mundiales debido a que presenta un aumento en su prevalencia, siendo la diabetes mellitus tipo2 (DM2) la más importante ya que es el tipo que padece la mayoría de los pacientes con dicha patología.

En la actualidad existen una gran variedad de fármacos utilizados para el control de la DM2; pero a pesar de ello, en muchas comunidades de México se emplea la medicina tradicional, la cual consiste en la utilización de plantas para el tratamiento de diversos padecimientos. La etnofarmacología es la ciencia que se encarga de recopilar toda la información y conocimiento que se ha generado a lo largo del tiempo en las comunidades, así como utilizar esa información proporcionada por los habitantes de esas regiones para entender y confirmar los efectos de las plantas.

Rhizophora mangle es un árbol o arbusto que en México tiene una distribución que se extiende a lo largo del Golfo de México, así como por una parte del Pacífico. Esta planta es utilizada por las personas para el tratamiento de algunas patologías entre ellas: afecciones de la piel, problemas renales y diabetes.

En el presente trabajo se realizó un estudio crónico para evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle*, por un periodo de 42 días de administración a ratas diabéticas inducidas con el modelo STZ-NA. Los parámetros utilizados para la evaluación de este efecto fueron la medición de la glucosa plasmática de forma semanal, y el porcentaje de hemoglobina glucosilada (HbA1c) cada 14 días. Para tener un análisis más completo, también se observó el comportamiento del perfil lipídico midiéndose triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL.

Los resultados arrojados por este estudio muestran que *R. mangle* tiene un efecto hipoglucemiante a lo largo de los 42 días de administración, sin embargo no disminuye los niveles de HbA1c respecto a los observados en los organismos diabéticos que no recibieron tratamiento. También se observa que el extracto etanol-agua de *R. mangle* evita el aumento de los triglicéridos, siendo de gran importancia, ya que estos lípidos están relacionados con la presencia de enfermedades cardiovasculares en los pacientes diabéticos.

En conclusión, *R. mangle* al presentar un efecto hipoglucemiante y un control sobre los niveles de triglicéridos de los ratas diabéticas, puede ser un coadyuvante importante en el tratamiento de la DM2.

INTRODUCCIÓN

Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad que ha tomado una gran importancia en los últimos años, debido a un aumento desmesurado en el número de personas que padecen esta enfermedad. Este padecimiento se caracteriza por un aumento de glucosa en sangre, así como un trastorno en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. La Organización Mundial de la Salud (OMS) la clasifica en tres tipos: 1) diabetes mellitus tipo 1, 2) diabetes mellitus tipo 2, y 3) diabetes gestacional (Organización Mundial de la Salud, 2013).

Este desorden metabólico puede ser silencioso en muchos de los pacientes, sin embargo en ocasiones se presentan algunos síntomas que indican una posible alteración en el metabolismo de carbohidratos, que pueden ser: poliuria, polidipsia, polifagia, fatiga y pérdida de peso corporal; siendo éstos una alerta para que el paciente acuda al médico y pueda realizarse las pruebas adecuadas para su diagnóstico (Escobar & Tébar, 2009).

El diagnóstico de este padecimiento debe realizarse por medio de estudios de bioquímica plasmática, dentro de las cuales están: 1) la cuantificación de glucosa plasmática en ayunas, cuyo valor debe ser ≥ 126 mg/dL; 2) glucemia al azar (>200 mg/dL); 3) prueba de tolerancia a la glucosa, la cual consiste en que el paciente ingiera una solución con 75g de glucosa (Trujillo, 2007), posteriormente se miden los niveles de glucosa plasmática cada 30 minutos generalmente a lo largo de dos horas, siendo el tiempo 120 minutos la medida importante, la cual debe permanecer por debajo de 200mg/dL, de lo contrario el paciente es diagnosticado con diabetes (American Diabetes Association, 2013).

Actualmente la Asociación Americana de Diabetes, toma como parámetro adicional de diagnóstico el porcentaje de hemoglobina glucosilada (HbA1c). La alteración en la HbA1c es una reacción no enzimática irreversible, la cual ocurre por el continuo contacto de la hemoglobina con altas concentraciones de glucosa.

La glucosilación tiene lugar en una serina de la molécula de hemoglobina (Díaz, 1997). La HbA1c también es utilizada para tener una mejor idea del control de dicho padecimiento, debido a que la hemoglobina se renueva cada 120 días, de modo que un porcentaje alto de HbA1c indica que el paciente no ha tenido un control adecuado de su hiperglucemia en al menos los últimos tres o cuatro meses (Laureano, 2013). En las ratas, este parámetro muestra una gran variación, ya que en la literatura se reportan valores de 4-13% de HbA1c en individuos diabéticos (Kamble & Bodhankar, 2013; Pari & Sankaranarayanan, 2009), y esta variación se debe a las distintas técnicas y equipos utilizados para la medición de este parámetro, por lo cual los resultados de su cuantificación en esta especie deben tomarse con reserva.

El tratamiento de la DM varía dependiendo de qué tipo se desarrolle; en el caso de la DM1, el principal tratamiento es insulina, y en el caso de la DM2 se cuenta con una amplia gama de fármacos que son denominados hipoglucemiantes orales, los cuales tienen diferentes vías de acción: 1) ayudando a la secreción de insulina sulfonilureas y meglitidinas; 2) inhibiendo liberación de glucosa hepática (biguanidas); 3) disminuyendo la captación de carbohidratos complejos (inhibidores de α -glucosidasas); 4) aumentando la vida media de la insulina en el torrente sanguíneo (incretinas); y 5) dando mayor sensibilidad a la insulina en tejidos resistentes, por ejemplo las tiazolidinedionas (Zárate, Basurto, Saucedo, & Hernández-Valencia, 2010).

A pesar de esta amplia gama de fármacos para el manejo de la enfermedad en ocasiones no se logra un control adecuado, por lo que hoy en día se sigue en la búsqueda de nuevas moléculas que ayuden a mejorar a los pacientes diabéticos. Esta búsqueda se ha dado tanto en la síntesis de nuevas sustancias, así como en la utilización de metabolitos secundarios que son producidos por diversas plantas.

En México, hay una gran tradición del uso de plantas medicinales en el tratamiento de diversas enfermedades, y entre ellas encontramos a la DM2. En el país hay reportadas 306 especies que son utilizadas para el control de esta enfermedad (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005).

ANTECEDENTES

Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es un grupo de enfermedades caracterizadas por hiperglucemia que resultan de defectos en la secreción de insulina, en su acción o ambas. Esta hiperglucemia está asociada con daños a largo plazo, disfunción y fallo de diferentes órganos, especialmente riñones, ojos, nervios, corazón y vasos capilares (American Diabetes Association, 2012). En esta patología pueden distinguirse tres tipos principales. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y la diabetes gestacional (Organización Mundial de la Salud, 2013).

La DM1 se caracteriza por una destrucción de las células β -del páncreas, de modo que hay una deficiencia de insulina, por lo que es necesario que su tratamiento sea con insulina (antes denominados pacientes “insulinodependientes”). De este tipo de diabetes se distinguen dos subgrupos: 1) la diabetes autoinmune, que se caracteriza por presentar anticuerpos anti islotes (ICA's), antidescarboxilasa del ácido glutámico y anti tirosina fosfatasa; y 2) la diabetes idiopática, la cual es similar a la anterior en el comportamiento metabólico, pero ésta se caracteriza por la ausencia de los marcadores autoinmunes (International Diabetes Federation, 2011).

La diabetes gestacional, se caracteriza por un estado hiperglucémico el cual es detectado durante el embarazo, y este padecimiento es detectado gracias a los controles prenatales. Los niveles de glucosa en plasma vuelven a la normalidad una vez terminado el periodo de gestación, aunque en ocasiones se desarrolla DM2 años más tarde.

Por otro lado la DM2 tiene la principal característica de presentar trastornos en la acción y/o secreción de la insulina. Este tipo representa el 90% de los casos a nivel mundial (Organización Mundial de la Salud, 2012).

Algunas personas que no tienen diagnosticado ningún tipo de DM, también llegan a presentar alteraciones en sus valores de glucemia. Dicho estado se denomina

pre-diabetes, el cual es un estado metabólico en el que ya existe una alteración en los niveles de hemoglobina glucosilada (HbA1c) de $\geq 5.7\%$ a $< 6.5\%$; por otro lado la concentración de glucosa en ayuno se encuentran en un intervalo $\geq 100\text{mg/dL}$ y $< 126\text{mg/d}$; y en la tolerancia a la glucosa los valores a las dos horas de una carga de glucosa están en un rango de $\geq 140\text{mg/dL}$ a $< 200\text{mg/dL}$ (Figura 1) (American Diabetes Association, 2012).

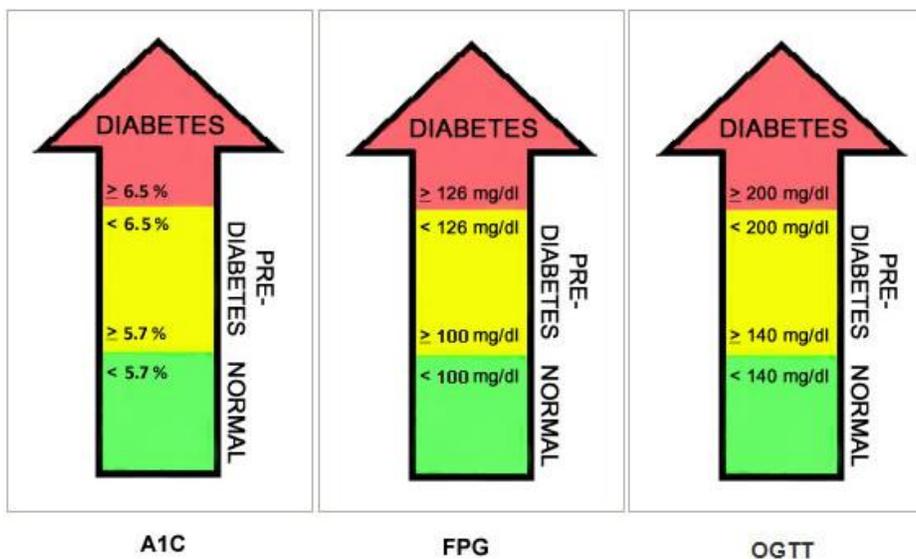


Figura 1. Muestra las diferentes pruebas y los niveles de glucosa para ser catalogado pre-diabético, diabético o sano. Primer plano muestra el porcentaje de HbA1c; plano intermedio valores de glucemia en ayuno y panel 3 glucosa plasmática medida al azar (ADA, 2012).

Prevalencia

La Organización Mundial de la Salud menciona que en Septiembre de 2012, se tenía registrada la cifra de 347 millones de personas con diabetes a nivel mundial. Esta misma organización advierte, que para el año 2030, las muertes por diabetes podrían duplicarse si no se lleva un control adecuado en el tratamiento de la enfermedad, convirtiéndose así en la séptima causa de muerte a nivel mundial.

La DM2 es el tipo que presenta más casos a nivel internacional. En la actualidad, se ha registrado un aumento en el número de niños que presentan este padecimiento, siendo una cifra alarmante, ya que en algunos países la DM2 en niños y adolescentes presenta el 50% de los nuevos casos diagnosticados (Organización Mundial de la Salud, 2013).

En el caso de México, se identifican 6.4 millones de adultos diagnosticados, lo cual representa el 9.2% de la población, sin embargo se estima que por cada paciente detectado hay uno que no cuenta con diagnóstico, de modo que la cantidad de enfermos se aproxima a los 12 millones. De este número de adultos identificados con este padecimiento, el 16% de ellos no cuenta con ninguna protección en salud, el 42% son derechohabientes del IMSS, 12% pertenecen a otras instituciones de seguridad social, y un 30% son afiliados al Sistema de Protección Social en Salud. Respecto a las complicaciones más frecuentes, 47.6 % (3 millones de personas) reportaron visión disminuida, 38% ardor, dolor o pérdida de sensibilidad en los pies, 2% reportaron amputaciones, 1.4% fueron dializados y 2.8% ha presentado infartos. Estos datos son importantes ya que, considerando las estimaciones hechas, el costo anual por paciente es de 707 dólares, lo cual implica una inversión total de 3 872 millones de dólares para el manejo de esta enfermedad (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2012).

Dado el enorme gasto que representa esta enfermedad para los sistemas de salud, se debe prevenir que el número de personas con este padecimiento aumente a un ritmo tan acelerado. Entre las acciones específicas para prevenir este padecimiento se encuentra: mantener un peso saludable, así como realizar una actividad física de al menos 30 minutos al día. En el caso de la alimentación, se deben realizar de tres a cinco comidas, las cuales sean bajas en carbohidratos y grasas saturadas (Organización Mundial de la Salud, 2012).

Diabetes Mellitus tipo 2

La DM2 es un desorden metabólico caracterizado por la presencia de hiperglucemia, además de una alteración en el metabolismo de los lípidos, derivado de una deficiente secreción de insulina de las células β . Esta deficiencia en la secreción de insulina es derivada de la obesidad, inactividad física y la resistencia a la insulina (RI) en tejidos como el adiposo, músculo esquelético y hepatocitos (Figura 2), siendo este tipo de diabetes el más importante debido a su mayor prevalencia en la sociedad.

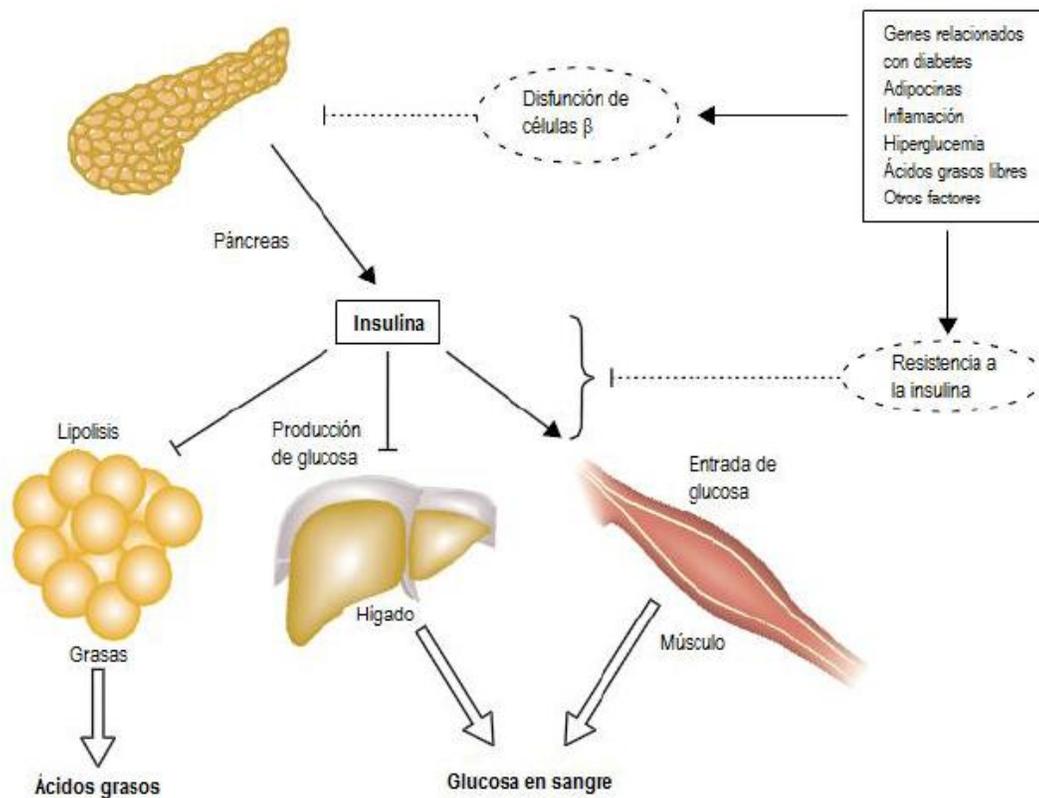


Figura 2. Tejidos afectados por la Resistencia a la insulina (RI). En caso de adipocitos, se observa que la RI provoca la liberación de ácidos grasos, en hígado aumenta la producción de glucosa y en músculo evita que la glucosa ingrese al miocito. Fuente: (Stumvoll, Goldstein, & van Haeften, 2005).

La resistencia a la insulina en el tejido adiposo trae como consecuencia un aumento en la cantidad de ácidos grasos libres. Este incremento, hace que se active la gluconeogénesis hepática y con esto una mayor concentración de colesterol LDL y por consecuencia una disminución el colesterol HDL (Rodríguez-Rodríguez, Perea, López-Sobaler, & Ortega, 2009).

Esta patología al ser de etiología múltiple, cuenta con factores genéticos y ambientales que la pueden desencadenar. En cuanto a los factores genéticos, se han identificado 40 loci asociados a disfunciones de la célula β , disminución en la sensibilidad a la insulina y desarrollo de obesidad. En cuanto a los factores ambientales se incluyen el tipo de nutrientes ingeridos en la dieta, así como la falta de actividad física o el sedentarismo que presente la persona en la vida cotidiana. Estudios en la India muestran que deficiencias de vitamina B12 durante el

embarazo están asociados a niños con grandes cantidades de tejido adiposo y resistencia a insulina (Nolan, Damm, & Prentki, 2011). Debido a que la predisposición genética no puede ser modificada en los individuos, el cambio en el estilo de vida juega un papel muy importante (Coletta & Mandarino, 2011).

El hígado es uno de los principales órganos que son afectados por esta patología, ya que incrementa la producción de glucosa endógena debido a una desregulación generada por el aumento en ácidos grasos no esterificados los cuales activan la gluconeogénesis (Leahy, 2005), así como las altas concentraciones de glucagón que también activan esa vía metabólica, debido a las bajas concentraciones de insulina y/o la baja respuesta a esta hormona (Coletta & Mandarino, 2011).

Los adipocitos son uno de los tejidos afectados durante la DM2, ya que debido a la resistencia a la insulina presente en ese tejido, tiende a expandirse, lo cual trae como consecuencia un aumento en las citocinas pro inflamatorias, entre ellos el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) y la interleucina 6 (IL-6). La presencia de estas citocinas pro-inflamatorias, pueden activar en el musculo esquelético una serie de cinasas como son I κ B y K κ B; dichas cinasas tienen una gran importancia en la resistencia a la insulina, ya que son capaces de fosforilar al IRS-1 en diferentes residuos de serina, lo cual disminuye la acción de la insulina (Coletta & Mandarino, 2011).

El músculo esquelético es uno de los tejidos que presenta resistencia a la insulina en la DM2. En el 2012, Fisher-Wellman plantea dos principales hipótesis para la disfunción de esta hormona en el músculo esquelético: 1) la acumulación intramiocelular de lípidos genera dicha resistencia, debido a que acelera el flujo de los mismos hacia β -oxidación, lo que disminuye la sensibilidad a la insulina; 2) el exceso de nutrientes ingerido por una persona con obesidad, genera que la mitocondria produzca y emita una mayor cantidad de agentes oxidantes, lo cual desencadena la resistencia a la insulina. En una mitocondria en un estado normal, se lleva a cabo el transporte de electrones a través de complejos de proteínas que se encuentran localizados en la membrana interna; estos electrones son obtenidos

de equivalentes reducidos como son el NADH y FADH₂. Estos electrones son transferidos a través de los complejos proteínicos (I-V), teniendo como aceptor final una molécula de oxígeno (O₂), el cual es reducido a H₂O. En condiciones en las cuales existe un exceso de nutrientes, aumentan la cantidad de agentes donadores de electrones (NADH y FADH₂), lo que genera un desbalance en el transporte de los electrones, trayendo como consecuencia final la generación del radical superóxido (O₂⁻). Dicho radical, tiene una vida media muy corta, debido a que rápidamente es convertido a peróxido de hidrógeno (H₂O₂) por medio de la manganeso superóxido dismutasa (MnSOD), de modo que el H₂O₂ es considerado como el segundo mensajero que desencadena la resistencia a la insulina, aunque aún no se descifra el mecanismo molecular a través de cual actúa el H₂O₂ (Fisher-Wellman & Neuffer, 2012).

Las células β realizan una gran variedad de funciones, además de la secreción de insulina; entre ellas se encuentran mantener adecuados niveles de síntesis de proinsulina con las señales adecuadas para sus modificaciones post-traduccionales, la producción de vesículas secretoras, el determinar la cantidad de nutrientes en sangre, entre otras. Por este motivo, encontrar un punto específico de falla en las células β ha sido complejo, suponiéndose que la principal causa de fallo en este tipo celular es la compensación requerida derivada de la RI (Nolan et al., 2011).

La diabetes, al tratarse de una enfermedad crónica, trae complicaciones a largo plazo, las cuales pueden separarse en dos categorías: las macro y micro vasculares. Entre las complicaciones macro vasculares se encuentran la enfermedad en arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y daño en las arterias carótidas; siendo estas complicaciones la principal causa de muerte en pacientes con DM2 (Beckman, Creager, & Libby, 2002). Las complicaciones micro vasculares son las más comunes en los pacientes diabéticos y entre ellas se distinguen tres principales: 1) retinopatía, la cual consiste en una disminución parcial o total de la vista, debido a las altas concentraciones de glucosa plasmática, así como un aumento en la presión arterial; 2) neuropatía, que trae

como principales consecuencias la sensación de hormigueo y en ocasiones la pérdida de sensibilidad en las extremidades; y 3) nefropatía, donde los altos niveles de glucosa circulantes dañan pequeños vasos sanguíneos del riñón, lo cual conlleva a una disminución en la función renal (Figura 3) (International Diabetes Federation, 2014).

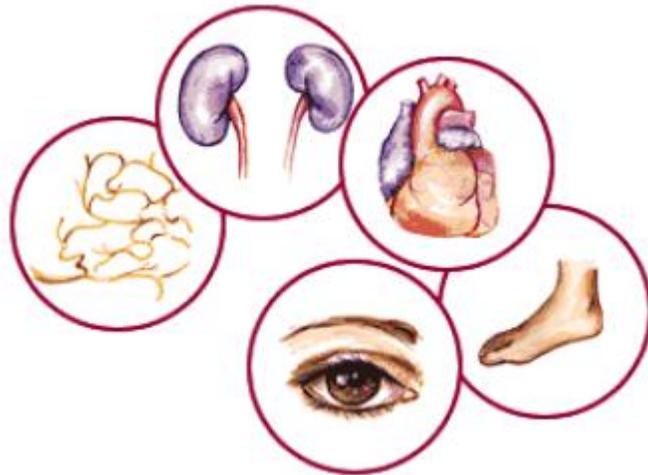


Figura 3. Principales órganos y tejidos afectados por las complicaciones de la diabetes mellitus tipo 2. Fuente: (Paniagua, 2010).

Hipoglucemiantes orales (HO)

Los hipoglucemiantes orales son la principal terapia para tratar a los pacientes con DM2. Entre los hipoglucemiantes encontramos las meglitinidas, los cuales cumplen con la función de ser secretagogos de insulina en función de la dependencia de la concentración de glucosa y su respuesta. Otro tipo de HO son las tiazolidinedionas o TZD's, la función de estos fármacos es la sensibilización a la insulina. Los inhibidores de las alfa-glucosidasas actúan compitiendo por el sitio catalítico de enzimas como la maltasa, sacarasa y glucoamilasa, de esta forma se retrasa la digestión de los carbohidratos evitándose su absorción. Las incretinas son péptidos de acción intestinal que participan en la regulación de la insulina (polipéptido inhibidor gástrico GIP y el péptido similar a glucagón GLP-1) y suprimen la acción del glucagón (GLP-1) (Zárate et al., 2010). Para evitar la producción hepática de glucosa se cuenta con las biguanidas, las cuales también ayudan a mejorar la captación de glucosa periférica. Las sulfonilureas son secretagogos de insulina, las cuales actúan por el cierre de los canales de K^+ dependientes de ATP causando una despolarización de la membrana y la entrada de Ca^{2+} , lo que desencadena la secreción de la insulina (Velazco, 2003).

Tabla 1. Muestra las diferentes clases de hipoglucemiantes orales, así como su mecanismo de acción.

<i>Hipoglucemiante oral</i>	<i>Vía de acción</i>	<i>Fármaco</i>
Meglitinidas	Secretagogo de insulina	Repaglinida
Tiazolidinedionas (TZD)	Sensibilización a insulina	Pioglitazona
Inhibidores α -glucosidasas	Inhibición de absorción intestinal de carbohidratos	Acarbosa
Incretinas	Regulan acción de la insulina, inhibe a glucagón	GLP-1
Biguanidas	Disminuye producción hepática de glucosa, mejora sensibilidad a insulina	Metformina
Sulfonilureas	Secretagogo de insulina	Glibenclamida

Glibenclamida

La glibenclamida, como se mencionó anteriormente, pertenece al grupo de las sulfonilureas, de modo que induce la secreción de insulina al torrente sanguíneo para que esta hormona pueda llevar a cabo su función. La secreción de insulina en una persona sana está dada por las concentraciones de glucosa periférica, y la célula β es el tipo celular encargado de llevar a cabo la secreción de dicha hormona.

La secreción de insulina mediada por glucosa se da cuando este carbohidrato entra a la célula β por medio del transportador GLUT2, de modo que al entrar la glucosa es catabolizada y se obtiene como producto final ATP. El aumento en las concentraciones de ATP respecto a las de ADP, tiene como consecuencia el cierre del canal de K^+ (K^+ ATP), trayendo como efecto un cambio en el voltaje de la célula, generando una despolarización de membrana que abre los canales de Na^+ y Ca^{2+} . El aumento de las concentraciones de Ca^{2+} es medido por la calmodulina-cinasa-II (CAM II), la cual se encuentra asociada a los gránulos que contienen la hormona y que favorece su unión con la membrana plasmática para que pueda llevarse la secreción de la insulina (Figura 4) (Schäfer, Machicao, Fritsche, Häring, & Kantartzis, 2011).

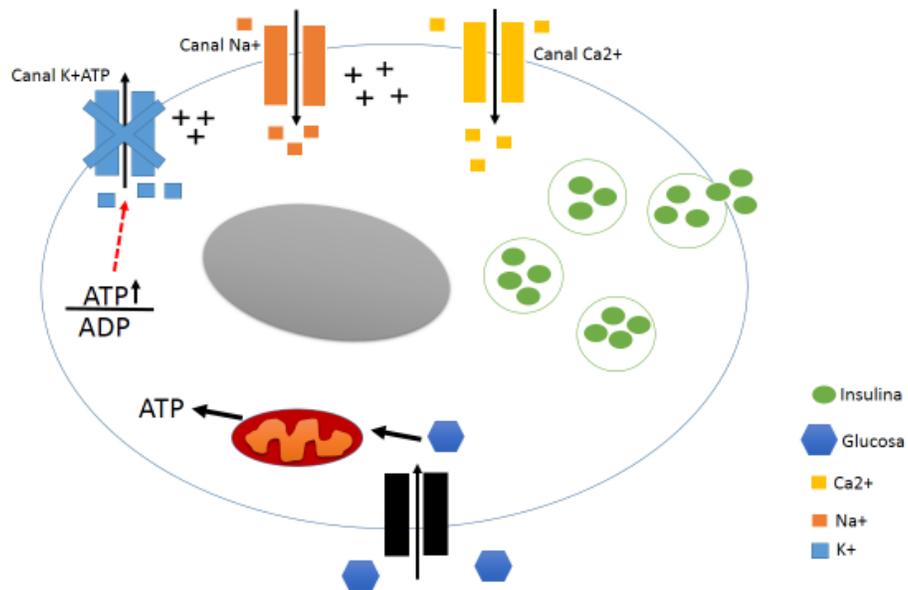


Figura 4. Secreción de insulina mediada por glucosa. La glucosa es metabolizada aumentando las cantidades de ATP, las cuales cierran el canal de K+ATP, lo cual desencadena un potencial de acción y la posterior secreción de las vesículas de insulina.

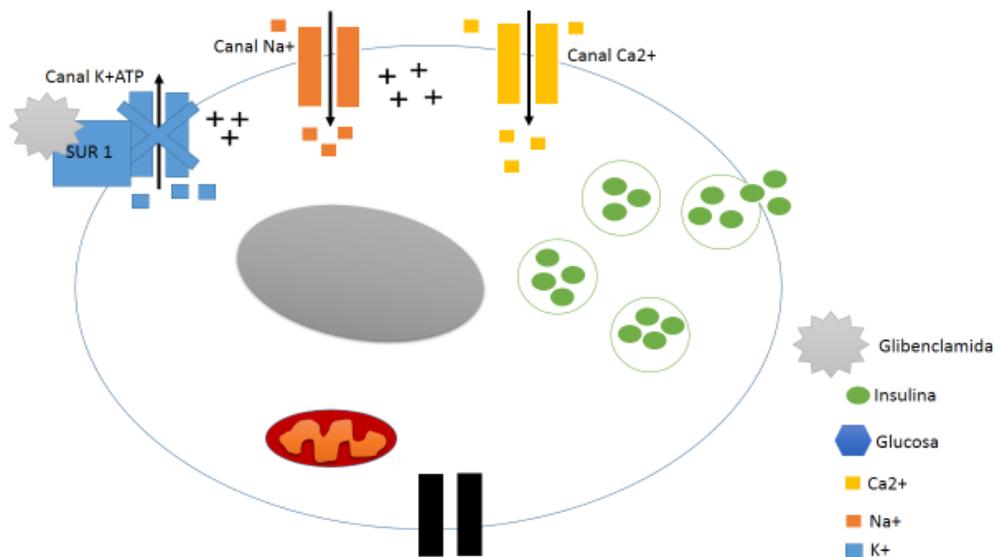


Figura 5. Secreción de insulina estimulada por glibenclamida, dicho fármaco se une a SUR1, el cual cierra el canal K+ATP, despolariza la membrana y se secreta la insulina.

En el caso de la glibenclamida, la liberación de insulina se realiza de una forma muy similar a la generada por el aumento de ATP intracelular. La glibenclamida y en general las sulfonilureas, se unen al receptor SUR1, el cual se encuentra presente en la membrana plasmática de la célula β . La unión de la glibenclamida con su receptor genera el cierre de los canales K^+ATP , modificando el voltaje interno de la célula y con ello generando la apertura de los canales de Na^+ y Ca^{2+} , y la posterior exocitosis de las vesículas que contienen insulina (Figura 5).

Modelos animales

Los modelos animales son una herramienta ampliamente utilizada y muy útil para analizar el efecto de las plantas reportadas con efecto hipoglucemiante. Desgraciadamente debido a la complejidad de la enfermedad, no existe un modelo animal que sea capaz de reunir todas esas características, motivo por el cual se debe elegir un modelo con una característica de la DM2 (Eddouks, Chattopadhyay, & Zeggwagh, 2012). Dichos modelos animales pueden catalogarse según su origen: 1) espontáneos o genéticamente derivados; 2) inducidos por medio de dieta; 3) inducidos quirúrgicamente; 4) knock-out; y 5) inducidos químicamente. Dentro de este último grupo se encuentra la inducción por medio de administración de estreptozotocina (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

Modelo STZ-NA

Para realizar la inducción de la diabetes se utiliza al fármaco estreptozotocina (STZ) (Figura 6), el cual fue aislado del hongo *Streptomyces griseus* (Islas-Andrade, 2000). La inducción consiste en inyectar una dosis de 65mg/Kg de STZ ya sea vía intraperitoneal o intravenosa, y la dosis de nicotinamida (NA) (figura 6) se puede modificar en un rango de 100 a 350mg/kg vía intraperitoneal (Masiello et al., 1998).

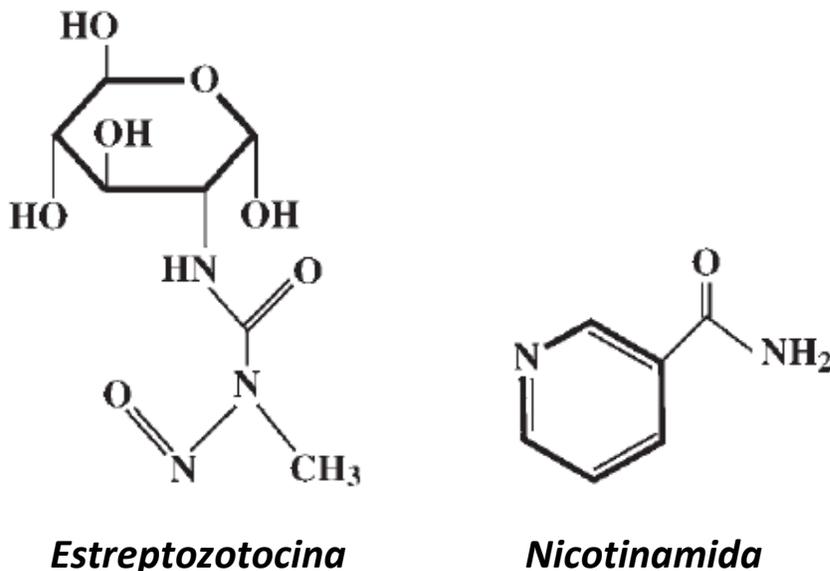


Figura 6. Estructura química de la estreptozotocina (STZ) y nicotinamida (NA). Fuente: (Szkudelski, 2012).

La principal vía por la que la STZ induce diabetes es por la destrucción de las células β pancreáticas. La destrucción de las células β ocurre por medio de la alquilación del ADN directa por la STZ además de la disminución de NAD^+ y ATP en la célula debido a la inhibición del ciclo de Krebs (Szkudelski, 2012).

La STZ ingresa a la célula por medio de los transportadores de glucosa GLUT 2 y alquila el ADN, dando como resultado la activación de la poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP-1) la cual se encarga de reparar el daño a nivel genético, pero trae como consecuencia la disminución de NAD^+ y de ATP lo que desencadena en la muerte celular causada por la falta de energía (Szkudelski, 2012). La STZ es una molécula capaz de donar moléculas de óxido nítrico (ON) al ser metabolizada por la célula, este aumento en ON genera daño mitocondrial, lo que produce una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS) como el radical superóxido (O_2^-) y el peróxido de hidrógeno (H_2O_2); dichos compuestos dañan el ADN, lo cual lleva a la activación de PARP-1 y la disminución de energía celular (Szkudelski, 2001).

La acción de protección realizada por la NA es ser convertida en NAD^+ , lo cual evita que disminuya la cantidad de ATP y no permite que se lleve a cabo la inhibición del ciclo de Krebs. La otra vía de acción de la NA es funcionar como

inhibidor de la PARP-1, de modo que así también se evita que la célula entre a un estrés por falta de energía y con ello no ocurra la muerte de todas las células β pancreáticas (Figura 7).

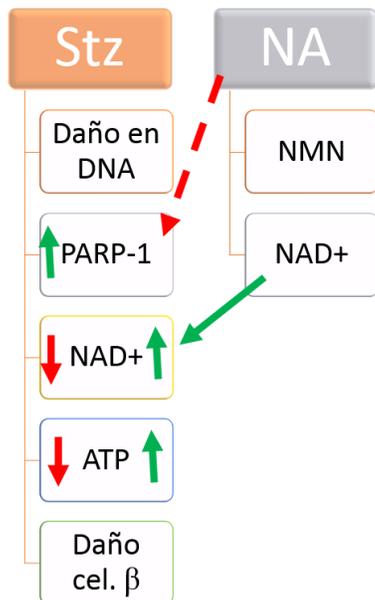


Figura 7. Esquema de las vías de acción de los dos fármacos utilizados para la inducción de diabetes. La streptozotocina (Stz) daña el DNA, dicho daño activa PARP-1 (Poli-ADPribosa polimerasa-1), disminuyendo las cantidades de NAD^+ y ATP, lo cual mata a la célula β . La nicotinamida (NA) inhibe a PARP-1, además de convertirse en NAD^+ al reaccionar con Nicotin-mononucleótido (NMN), de este modo impide la disminución de ATP y el daño celular. Fuente: (Szkudelski, 2012).

ETNOFARMACOLOGÍA, PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES

La etnofarmacología puede ser definida como el proceso de observación, identificación, descripción y trabajo experimental de los ingredientes que contienen las drogas indígenas, entre ellas las plantas medicinales; dicha investigación debe realizarse con base en la botánica, farmacología y la química, de modo que así se pueda lograr una confirmación de su potencial medicinal y en ocasiones aislar los componentes activos encargados del efecto farmacológico (Holmstedt & Bruhn, 1983).

Una definición más actualizada de este concepto fue realizada por Andrade-Cetto y Heinrich en 2011, que definen a la etnofarmacología como el estudio de los usos tradicionales de los productos naturales biológicamente activos, con el propósito de entender sus propiedades terapéuticas (Andrade-Cetto & Heinrich, 2011).

Un aspecto importante que deben cumplir las investigaciones etnofarmacológicas es considerar el uso tradicional de las plantas medicinales, esto es de suma

importancia debido a que a partir de la información del uso tradicional se decide qué método de extracción puede utilizarse, además de ser una base importante para el cálculo de la dosis (Samario, 2013).

Rhizophora mangle

Es un árbol o arbusto perennifolio, que cuenta con una altura que va de 1.5 a 15m de altura, el cual se caracteriza por ser halófito. Su tronco es recto, y sus ramas se encuentran apoyadas en las raíces aéreas, con una ramificación simple o dicotómica. La corteza de este árbol es de color olivo pálido y manchas blancas, pero si se raspa adquiere un color rojo, es inolora y cuenta con un sabor amargo. Presenta inflorescencias simples que cuentan con dos o tres flores, y su fruto es una baya color pardo, coriáceo y duro (Figura 8) (Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, 2012).

La distribución de *R. mangle* en México es a lo largo de las costas del Golfo, el Pacífico y el Caribe. En la vertiente del Golfo se presenta desde Tamaulipas hasta Yucatán y Quintana Roo, y en la vertiente del Pacífico desde Baja California Sur, Sonora y hasta Chiapas (Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, 2012).

Entre los usos medicinales de *R. mangle* encontramos que la corteza es utilizada como febrífugo, hemostático, anti diarreico, para el control del asma, mordedura o picaduras de animales marinos venenosos, diversas heridas, tuberculosis, lepra, hemorragias, disentería y elefantiasis. La planta tiene además efecto hipoglucémico y podría llegar a usarse clínicamente en el control de la DM (Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad, 2012). Estos efectos medicinales pueden asociarse a la presencia de compuestos fenólicos, así como taninos presentes en la corteza de los tallos de esta planta (Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana, 2009). Otros probables compuestos que puedan ser los responsables del efecto hipoglucemiante de esta planta son flavonoides y terpenos.

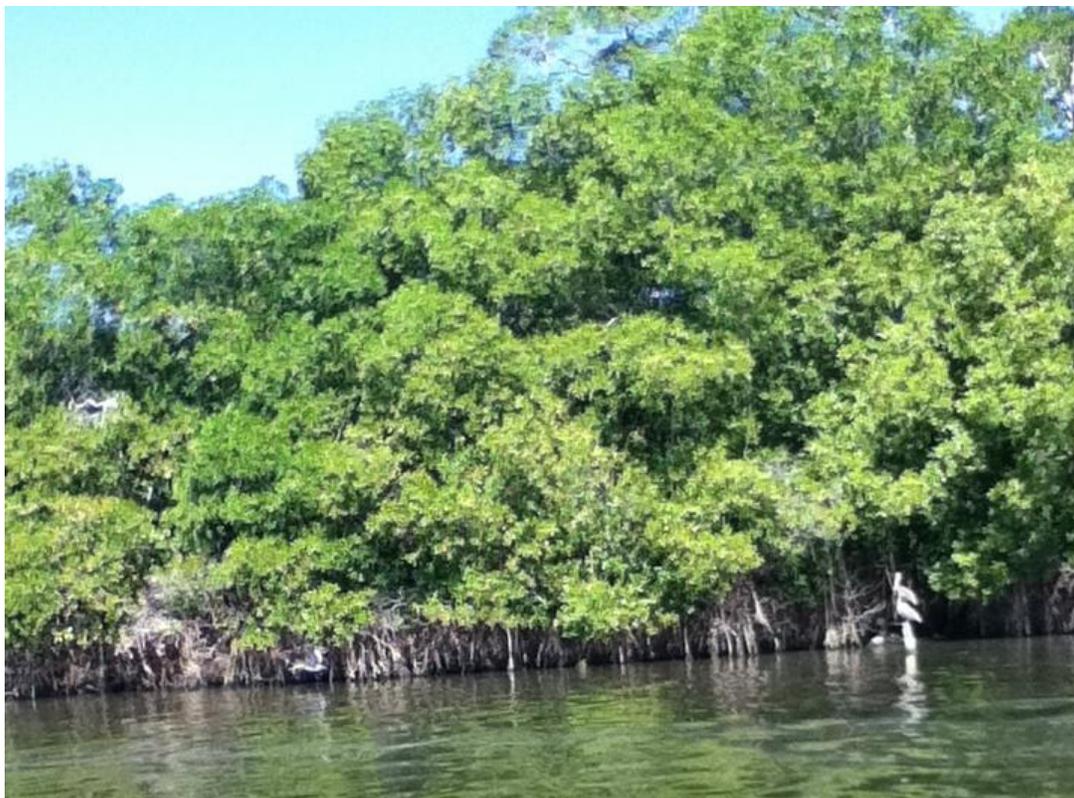


Figura 8. Fotografía de *Rhizophora mangle* en la laguna de Manialtepec, Oaxaca.

Una evidencia del efecto hipoglucemiante de *R. mangle* es el estudio realizado por Rubalcaba en 2012, en el cual probaron los extractos acuoso y etanol-agua de la corteza de esta planta. Cada extracto fue analizado a una dosis menor (dosis calculada con base en la información etnofarmacológica y se denomina “tradicional”) y a una dosis mayor, la cual se obtuvo de elevar logarítmicamente la dosis tradicional.

Dichos extractos fueron probados en ratas con diabetes inducida bajo el modelo STZ-NA, realizando un estudio agudo, es decir, se midió la glucosa plasmática a los tiempos 0, 60, 120 y 180 minutos posteriores a la administración de los extractos. Como resultado se observó que los extractos acuoso y etanol-agua a dosis mayor tenían un efecto hipoglucemiante significativamente diferente respecto al grupo diabético que no recibió tratamiento; dicho efecto se observa al menos en las tres horas que duró la medición de la glucemia. El extracto etanol-agua fue el que mostró un mejor efecto a una dosis de 95mg/Kg (Rubalcaba, 2012).

JUSTIFICACIÓN

Debido al incremento en la prevalencia de la DM2 en México, y que *R. mangle* demostró en un estudio previo poseer un efecto hipoglucemiante agudo, es importante evaluar si ese efecto hipoglucemiante mantiene de manera crónica, para posteriores análisis y obtener un coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad.

OBJETIVOS

General

- Evaluar el efecto hipoglucemiante crónico del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* en ratas diabéticas STZ-NA.

Particulares

- Obtener ratas con hiperglucemia crónica que tengan respuesta a la administración de sulfonilureas.
- Evaluar el efecto del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas diabéticas STZ-NA.
- Observar si existe una disminución en el porcentaje de hemoglobina glucosilada de las ratas diabéticas al ser tratadas con el extracto etanol-agua de *R. mangle*.
- Comprobar si existe una modificación en el perfil lipídico con la inducción de la hiperglucemia

HIPÓTESIS

- Ha: La administración del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* tendrá un efecto hipoglucemiante a lo largo de 42 días de administración.
- Ho: La administración del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* no tendrá un efecto hipoglucemiante a lo largo de 42 días de administración.
- Ha: La administración crónica del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* disminuirá el porcentaje de HbA1c después de 42 días de administración.
- Ho: La administración crónica del extracto etanol-agua de la corteza de *R. mangle* no disminuirá el porcentaje de HbA1c después de 42 días de administración.
- Ha: El perfil lipídico (triglicéridos, colesterol, y HDL) se aumentará con la inducción de la hiperglucemia en ratas.
- Ho: El perfil lipídico (triglicéridos, colesterol, y HDL) no aumentará con la inducción de la hiperglucemia en ratas.

METODOLOGÍA

Colecta del material biológico

La colecta de la corteza de *R. mangle* se realizó en la Laguna de Manialtepec, Oaxaca, obteniendo aproximadamente 5Kg de corteza, además de la elaboración de un ejemplar de herbario el cual quedó con el número 15 816 en el Herbario Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Elaboración del extracto etanol-agua de *R.mangle*

El extracto se realizó a cabo colocando 20g de la corteza molida de *R. mangle*, en 250ml de etanol absoluto y 250ml de agua destilada, y se calentó a máximo 40°C con agitación por un lapso de cuatro horas. Una vez transcurridas las cuatro horas, el extracto se filtró con tierra de diatomeas. Al filtrado, se le retiró el etanol por medio de destilación, realizada con el equipo *Rotavapor® BÜCHI* a presión reducida. Una vez eliminado el etanol, el extracto se congeló a -40°C, para posteriormente ser liofilizado y así obtener el extracto seco.

Animales experimentales

Se utilizaron un total de 20 ratas (hembras y machos) de la cepa Wistar, las cuales fueron obtenidas del bioterio del Instituto de Fisiología Celular de la UNAM, y mantenidas en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Dichos animales fueron sometidos a fotoperiodos de 12h/12h de luz/oscuridad con libre acceso al agua y alimento.

Inducción del modelo de diabetes

La inducción de la enfermedad se basó en el modelo STZ-NA planteado por Masiello en 1998, para el cual se utilizaron ratas de un peso de 200-250g aproximadamente, las cuales se dejaron en ayuno de 12h. Este modelo consiste en administrar nicotinamida (NA) vía intraperitoneal (i.p.) a diversas dosis, siendo 150mg/Kg el utilizado en este trabajo. Transcurridos 15 minutos de la administración de NA, vía intravenosa (i.v.) se suministró estreptozotocina disuelta en buffer de acetatos a un pH de 4.5 a una dosis de 65mg/Kg en la vena caudal. Los organismos seleccionados como diabéticos fueron aquellos que a los tres días posteriores a la inyección mostraban valores de glucosa plasmática >170mg/dL.

Grupos experimentales y administración de hipoglucemiantes

Se realizaron cuatro grupos, de los cuales, tres correspondieron a los controles: control no diabético (CND); control diabético (CD) y control diabético tratado con glibenclamida (CD + G); el cuarto grupo fue el diabético experimental tratado con el extracto etanol-agua de *R. mangle* (E + Rm). La dosis del extracto se calculó con base en el rendimiento obtenido (DER) y tomando en cuenta la dosis reportada por Rubalcaba en 2012 (95mg/Kg), dando como resultado 90mg/Kg. Las dosis del fármaco y extracto por grupo se muestran en la tabla 2.

La administración del fármaco y del extracto, se realizó dos veces al día (8am y 4pm) por un periodo de 42 días, con ayuda de una cánula esofágica para garantizar que el extracto y fármaco fuera ingerido en la dosis adecuada.

Tabla 2. Se muestran los grupos experimentales, así como su tratamiento y dosis correspondiente. N/A.- No aplica.

<i>Grupos experimentales</i>	<i>Administración</i>	<i>Dosis</i>
Control no diabético (CND) n=5	Solución fisiológica	N/A
Control diabético (CD) n=5	Solución fisiológica	N/A
Control diabético + glibenclamida (CD+G) n=5	Glibenclamida	5mg/Kg
Experimental + <i>Rhizophora mangle</i> (E+Rm) n=5	Extracto etanol-agua <i>Rhizophora mangle</i>	90mg/Kg

Medición glucosa, HbA1c, HDL, Tg y Chol

La medición de glucosa se realizó de forma semanal, tomando una gota de sangre, la cual fue obtenida de la vena caudal después de realizar un corte de la misma. Esta gota de sangre se analizó con tiras reactivas *Accutrend® glucosa* en el glucómetro *Accutrend® plus*. En el caso de la medición de la hemoglobina glucosilada (HbA1c), la muestra de sangre fue obtenida por la misma vía y analizada con el equipo *DCAVantage® SIEMENS*. Por último, el perfil lipídico (HDL, Tg y Chol) se cuantificó con el aparato *CardioCheck®* utilizando las tiras reactivas *PTS panels®*. Tanto la HbA1c como el perfil lipídico, fueron medidos los días 0, 14, 28 y 42 después de iniciada la administración de los tratamientos.

Análisis de datos

Se realizó una *t de Student* para llevar a cabo el análisis estadístico de los datos con ayuda del programa *Microsoft Excel 2013*®, con un valor de significancia de $p \leq 0.05$. Las gráficas fueron realizadas con el programa *GraphPadPrism 5.03*®.

RESULTADOS

Medición de glucosa plasmática.

La medición de glucosa plasmática de los grupos experimentales se muestra en la tabla 3. Los valores de glucemia arrojan como resultado la diferencia significativa del grupo CND respecto al CD a lo largo de los 42 días.

En el caso del grupo tratado con glibenclamida, se observa que los resultados tienen una gran fluctuación. Dada esta oscilación al ser comparados los valores del grupo CD+ G vs el CD, las diferencias significativas sólo se observaron en los tiempos T7, T21 y T35. Posteriormente, se realizó un análisis estadístico contra el T0, donde se obtuvo que hay diferencias significativas al comparar todos los tiempos posteriores a la administración del fármaco respecto al inicio del experimento.

En el caso del grupo experimental con el extracto etanol-agua de *R. mangle*, se observa una disminución en los niveles de glucosa plasmática al ser comparada con el CD, y dicha disminución es significativamente diferente. El análisis del grupo E+Rm contra el CD+G no muestran diferencias significativas.

En la figura 9, se observa cómo la glibenclamida provoca la disminución de glucosa plasmática de una manera abrupta a la primera semana de haber comenzado el tratamiento con dicho hipoglucemiante. En los tiempos posteriores, los niveles de glucemia de las ratas presentan variaciones. En el caso del E +Rm, se observa también una disminución a la primer semana de iniciada la administración del extracto, pero a diferencia de lo observado con la administración de glibenclamida, en este grupo no son tan evidentes las fluctuaciones en la glucosa circulante. En el caso del grupo CD, no presenta diferencias significativas al ser comparados sus tiempos una vez comenzada la administración de solución fisiológica respecto a su medida inicial, de modo que el adecuado patrón observado confirma que el modelo STZ-NA es bueno para la obtención de roedores con hiperglucemia crónica.

Grupo	Glucosa (mg/dL)						
	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
CND	123.6± 3.2	129.2± 1.7	124±2.4	126.8± 1.1	124.8±4.3	118±6.4	131.4± 2.7
CD	175± 0.6*	171±1.5*	171±9.7*	154±3.8*	168±7.3*	162±3.8*	168±8.7*
CD+G	179.6± 2.5	128.6±4.9 ^{ab}	147.8±9.4 ^b	132.2±6.2 ^{ab}	149.6±9 ^b	133.6±11.4 ^{ab}	152.8±10.8 ^b
E+Rm	184.2±2.1 ^{ab}	139.8±7.2 ^{ab}	145.4±2.6 ^{ab}	141 ± 1.6 ^{ab}	145.6±2.8 ^{ab}	140.6 ± 3 ^{ab}	143.8± .5 ^{ab}

Tabla 3. Se muestran los valores medios De Glucosa plasmática (mg/dL) ± E.E. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto CD $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$.

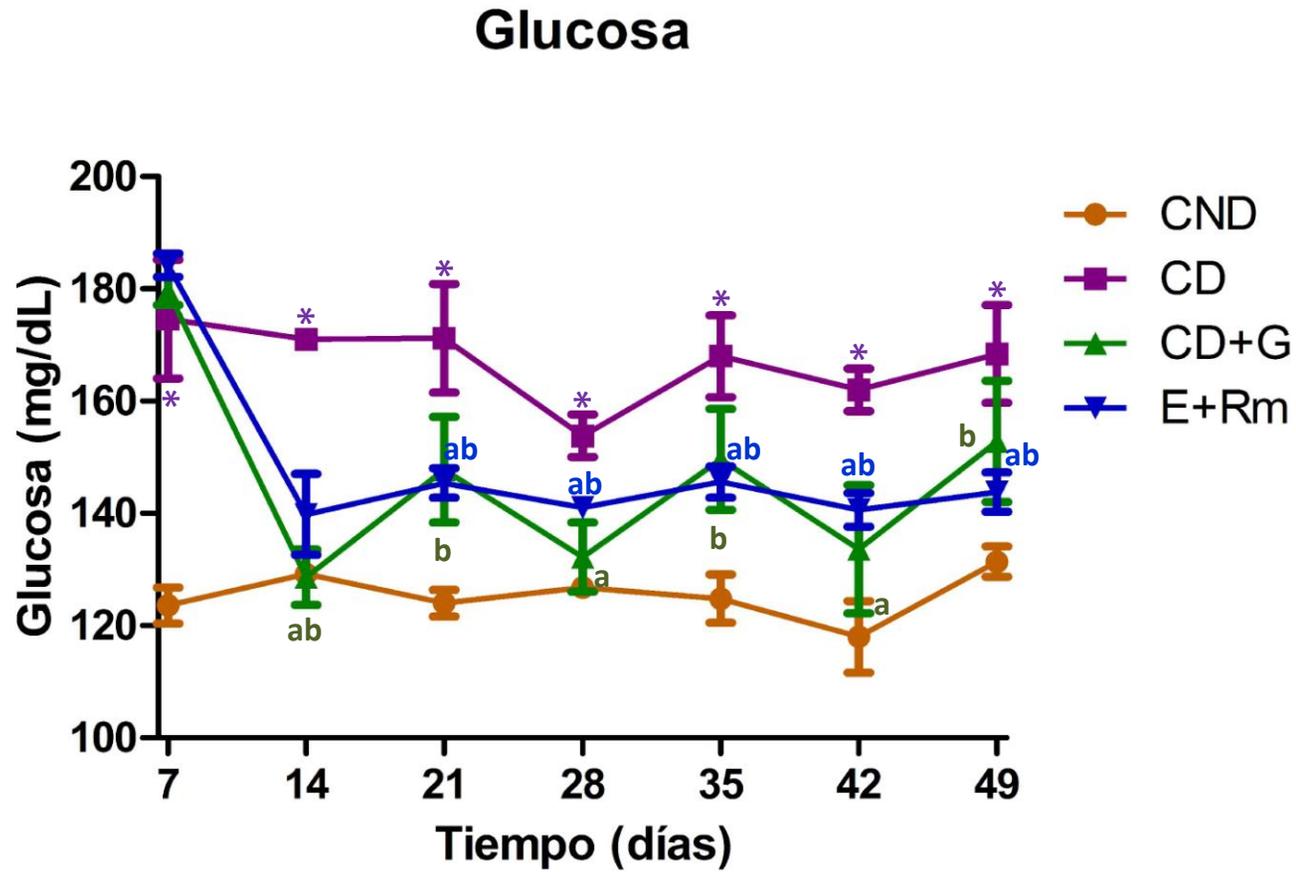


Figura 9. Comportamiento de la glucosa plasmática a lo largo de 6 semanas de administración de extracto etanol-agua de *R. mangle* y glibenclamida.

*Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto CD $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$.

Medición de hemoglobina glucosilada (HbA1c)

El incremento del porcentaje de HbA1c se observa en el grupo CD al compararlo con el CND, ya que es significativamente diferente a partir de los 14 días posteriores al comienzo de la administración de los tratamientos correspondientes a los grupos experimentales y manteniéndose a lo largo de los 42 días restantes de experimentación. Un aspecto importante que se muestra en la tabla 4, es que el fármaco glibenclamida, que había mostrado tener efecto hipoglucemiante a partir de los siete días de ser administrado, evita que el aumento del porcentaje de HbA1c sea significativo respecto a su tiempo inicial. El valor de HbA1c del grupo CD+ G, muestra una diferencia estadística hasta el tiempo 42 respecto a los valores arrojados por el CD. En el caso del extracto de *R. mangle* no logra observarse una diferencia significativa al ser comparado con el grupo diabético en ninguna de las mediciones posteriores a la administración del extracto etanol-agua.

Tabla 4. Se muestran los valores medios de HbA1c (%) \pm E.E. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto CD (150) $p \leq 0.05$.

Grupo	HbA1c (%)			
	T0	T14	T28	T42
CND	3.6 \pm 0.1	3.6 \pm 0.1	3.54 \pm 0.1	3.62 \pm 0.1
CD	3.7 \pm 0.1	4.1 \pm 0.2*	4.2 \pm 0.1* ^a	4.3 \pm 0.1* ^a
CD+G	3.8 \pm 0.2	4.2 \pm 0.2	3.9 \pm 0.2	3.9 \pm 0.2 ^b
E+Rm	3.4 \pm 0.2	4.1 \pm 0.2 ^a	3.9 \pm 0.1	4.0 \pm 0.2

Estudiando un poco más el efecto de la glibenclamida y del extracto etanol-agua de *R. mangle* sobre los niveles de HbA1c, en la figura 10, se observa que la disminución de ese porcentaje comienza a partir de los 28 días, pero la diferencia en los patrones observados en dichos grupos experimentales, es que en el caso del E+Rm, se observa una pequeña elevación en el porcentaje de HbA1c en el tiempo 42, mientras que en el grupo CD+G mantiene la disminución de ese porcentaje en ese tiempo.

Al hacer un análisis estadístico contra el T0 en el grupo E+Rm, se observa que a los 14 días el porcentaje de HbA1c es significativamente diferente respecto a su

tiempo inicial, siendo algo importante de destacar, ya que en tiempos posteriores, el efecto hipoglucemiante generado por el extracto etanol-agua de *R. mangle* revierte esa situación evitando que siga siendo significativa esa diferencia.

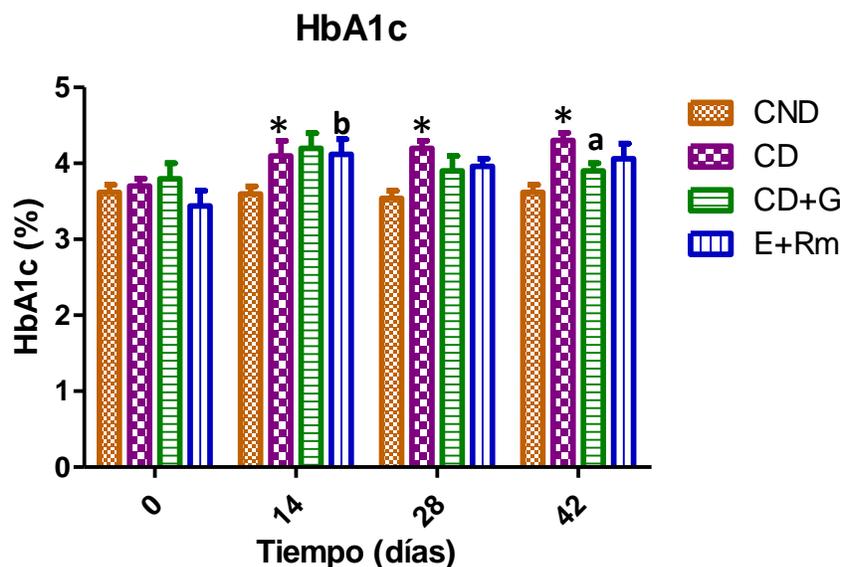


Figura 10. Muestra valores medios \pm Error estándar del porcentaje de HbA1c a lo largo de 42 días de administración crónica de los diversos tratamientos. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto CD $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$.

Medición de perfil lipídico (triglicéridos, HDL, colesterol total)

Otro de los parámetros de interés en este experimento fue la medición de los triglicéridos en plasma sanguíneo. En este caso se observa una tendencia a la alza de dicho parámetro en el grupo CD y CD+ G. Al comparar los valores del CND con el CD se observa que en el tiempo inicial son significativamente diferentes, debido a que los valores de triglicéridos del grupo CD son muy bajos respecto al CND. A pesar de esta diferencia, con el paso de los días se observa un cambio en esa tendencia, ya que desde el tiempo 14 se observa un aumento en los mismos, siendo significativamente diferentes al T28 al ser comparados con los obtenidos por el grupo CND; sin embargo al tiempo 42 no se encuentra diferencia significativa entre CD y CND. Al hacer el análisis estadístico contra el T0, se observa que el aumento en los triglicéridos del grupo CD es

significativamente diferente en el T28 y T 42 al ser comparados con su valor inicial (tabla 5).

En el caso del grupo de CD+ G, el fármaco administrado no fue capaz de evitar el aumento en los triglicéridos de los animales y gracias a ese incremento del valor medio de este parámetro, nunca se observa una diferencia significativa al ser comparado con el grupo CD. De igual manera al hacer la comparación de los valores de triglicéridos contra su tiempo inicial, no se observa diferencias significativas en el aumento de dicho parámetro.

Tabla 5. Se muestran los valores medios de Triglicéridos (mg/dL) ± E.E. *Diferencia significativa vs CND p≤0.05; ^a Diferencia significativa respecto a su T0 p≤0.05; ^b Diferencia significativa respecto CD (150) p≤0.05.

Grupo	Triglicéridos (mg/dL)			
	T0	T14	T28	T42
CND	70.8 ± 4.0	79 ± 15.6	62.6 ± 4.0	60.6 ± 9.6
CD	52.2 ± 1.4*	77.6 ± 13.7	119.2 ± 15.3 ^a	113.4 ± 26.2 ^a
CD+G	69 ± 11.0	89 ± 13.1	100 ± 13.7	115 ± 19.5
E+ Rm	77.6 ± 9.7	76 ± 13.1	65.4 ± 4.1 ^b	72.4 ± 10.5

En la figura 11, se puede observar que el grupo E+ Rm no muestra un aumento en los niveles de triglicéridos en ninguno de sus tiempos. Al hacer el análisis estadístico contra el CD, se observa una diferencia significativa en el T28, siendo menor la concentración de Tg en el grupo E+ Rm respecto a los medidos en CD. En el análisis contra sus valores iniciales, se observa que no hay diferencias significativas en el grupo E+ Rm, lo que confirma que el aumento fue inhibido por el extracto etanol-agua de *R. mangle*.

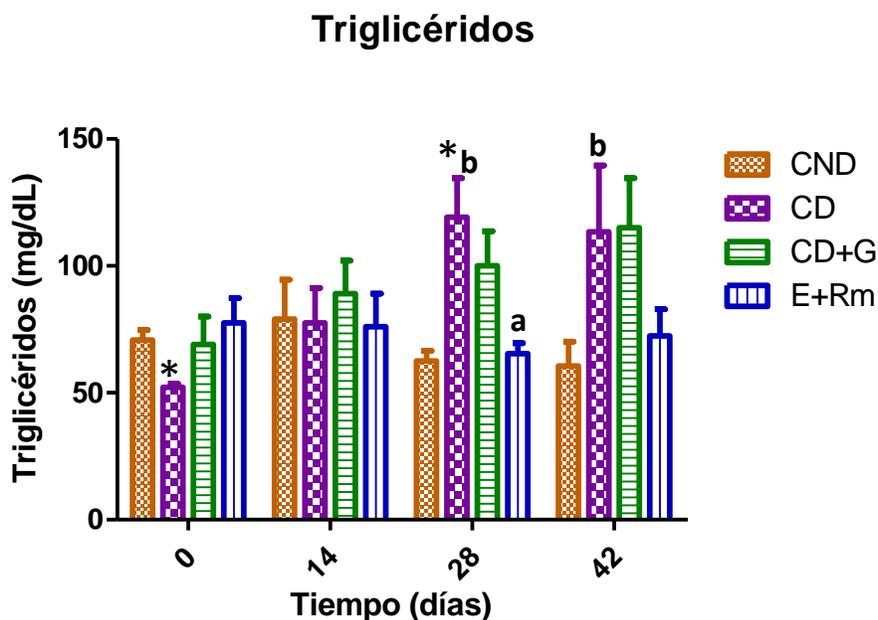


Figura 11. Muestra valores medios \pm Error estándar de los niveles de triglicéridos a lo largo de 42 días de administración crónica de los diversos tratamientos. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto CD $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$.

El colesterol HDL fue otro parámetro medido durante este experimento. En este caso, no hubo modificación significativa, tanto al comparar el CD contra el CND, ni al comparar los grupos CD+G y E+Rm respecto al grupo CD (Tabla 6).

Tabla 6. Se muestran los valores medios de Colesterol HDL (mg/dL) \pm E.E. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto CD (150) $p \leq 0.05$.

Grupo	HDL (mg/dL)			
	T0	T14	T28	T42
CND	31.2 \pm 4.5	28.6 \pm 1.4	32.6 \pm 5.0	27.4 \pm 1.6
CD	28 \pm 3.0	33 \pm 4.0	33 \pm 1.8	31 \pm 1.5
CD+G	47 \pm 8.8	37 \pm 6.8	43 \pm 8.2	43 \pm 10.6
E+Rm	33.8 \pm 4.3	40 \pm 7.4	33.6 \pm 6.4	39.8 \pm 8.0

En la figura 12, se observa que los datos de este parámetro en los cuatro grupos experimentales son similares, ya que en todos se muestra una oscilación en los niveles de dicho parámetro, es decir, aumentan y disminuyen en el mismo tiempo, a pesar de esas variaciones no se modifica la prueba estadística horizontal, el cual compara los tiempos 14, 28 y 42 respecto a su tiempo inicial.

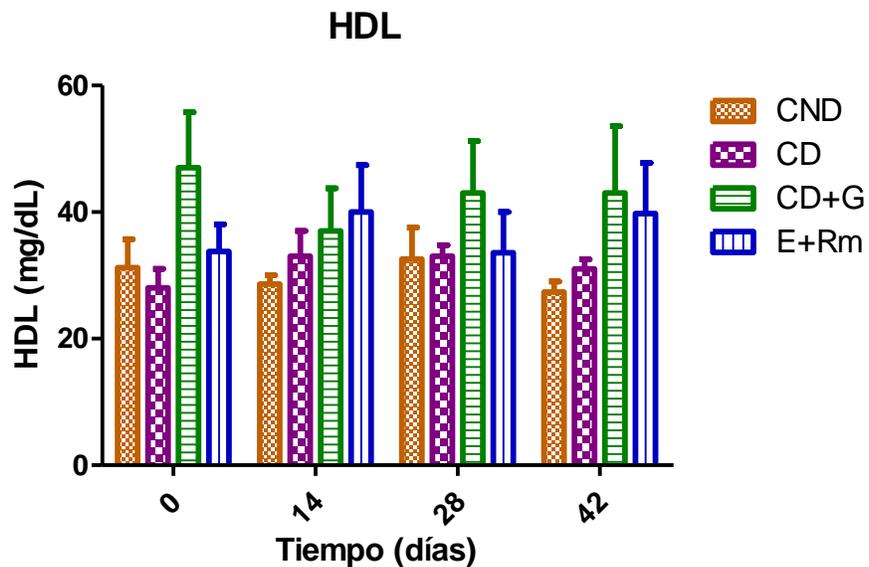


Figura 12. Muestra valores medios \pm Error estándar de comportamiento del colesterol HDL lo largo de 42 días de administración crónica de los diversos tratamientos. *Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$; ^a Diferencia significativa respecto CD $p \leq 0.05$; ^b Diferencia significativa respecto a su T0 $p \leq 0.05$.

El colesterol total no mostró ninguna modificación, incluso siendo imposible tener un valor cuantitativo con el equipo utilizado para su medición, ya que en todos los grupos los valores obtenidos fueron $< 100 \text{ mg/dL}$ en todos los tiempo y organismos medidos.

DISCUSIÓN

Un aspecto muy importante es la confirmación de que el modelo de hiperglucemia propuesto por Masiello en 1998 funciona de una manera adecuada para los estudios crónicos, ya que a lo largo de los 42 días el CD se mantuvo con niveles de glucosa plasmática elevados y significativamente diferentes respecto a los organismos sanos del CND; además que la comparación del T0 del CD respecto a los demás tiempos, es importante, ya que nos indica si hay una disminución de manera significativa en los niveles de glucosa plasmática que posteriormente pudiera afectar o dar un efecto hipoglucemiante falso positivo en el extracto etanol-agua de *R. mangle*.

El análisis del grupo CD+G se realizó contra su T0, dando como resultado una disminución significativa de la glucosa plasmática en todos los tiempos, de modo que se confirma como un buen fármaco para ser utilizado como control positivo. El análisis del grupo CD+G contra el CD no fue significativo en todos los tiempos debido a que la varianza y el error estándar fueron muy grandes, sin embargo se logró observar diferencias significativas en tres de los seis tiempos analizados.

Por otro lado, el grupo E +Rm presentó un comportamiento más lineal, es decir tuvo menos fluctuaciones con el paso del tiempo, y esto se pudo ver reflejado de forma estadística, ya que se observan diferencias significativas a partir del T7 y hasta el T42 comparándolo con el CD. En el análisis respecto a su propio tiempo inicial, la diferencia estadística también fue visible, de modo que estos dos análisis estadísticos nos muestran que el efecto hipoglucemiante de *R. mangle* puede mantenerse al menos por 42 días en este modelo animal.

El parámetro de la HbA1c es de suma importancia en este experimento, ya que nos muestra un comportamiento de la glucosa en un periodo de tiempo más largo que las medidas de glucosa plasmáticas. Como se mencionó anteriormente en resultados, se observa que el grupo CND y CD son diferentes a partir del T14 y hasta el T42.

En el grupo CD+G, al ser el control positivo, se observa que se logran reducir los niveles de HbA1c en el T42 del experimento respecto al CD, pero al realizarse el análisis contra el T0 se observa que no hay diferencias significativas entre ellos en el grupo CD+G de modo que el fármaco fue capaz de evitar un aumento en los niveles de HbA1c.

En el caso del grupo experimental tratado con el extracto etanol-agua de *R. mangle*, se observa que a ningún tiempo es significativa la diferencia al comparar sus valores de HbA1c con lo observado en el CD, resultado que contrasta con lo observado en los niveles de glucosa plasmática, ya que en ese caso se observó una disminución significativa a lo largo de todos los tiempos del experimento. Debido a este resultado, al realizar la prueba estadística respecto a su tiempo inicial, se observa que el porcentaje de HbA1c es significativamente más alto en el T14 respecto al T0, lo cual nos indica que el extracto no fue capaz de evitar que dicho porcentaje se elevara, sin embargo, sí se observa que para los tiempos restantes esa diferencia deja de ser significativa, lo que muestra que el extracto fue capaz de evitar un mayor aumento y eventualmente disminuyó los niveles en el porcentaje de HbA1c.

Para poder dilucidar uno de los posibles motivos por el cual el porcentaje de HbA1c no es significativamente inferior a lo mostrado por el grupo CD, sería conocer la vida media de los principales compuestos fitoquímicos, ya que eso podría dar una idea de si el tiempo en el cual se lleva a cabo el efecto hipoglucemiante es lo suficientemente largo para así evitar la reacción no enzimática de glucosilación de la hemoglobina.

La medición de los triglicéridos es muy importante como se mencionó previamente, debido a que el paciente diabético presenta dislipidemias, las cuales modifican la cantidad de triglicéridos circulantes en el plasma sanguíneo. Debido a ésto, se esperaba que al inducir la hiperglucemia en las ratas se modificaran los niveles de triglicéridos en plasma. En el análisis de estos valores, se observa que cuando se comparan los tiempos iniciales del grupo CND contra el CD, el grupo diabético presenta valores inferiores de forma significativa respecto a los

organismos normoglucémicos. A pesar de la tendencia de tener valores menores al inicio del experimento, el aumento de dicho parámetro es significativamente diferente en el T28, sin embargo al T42 deja de ser significativo respecto al CND. Este cambio en el análisis estadístico pudo deberse a que en el último tiempo el error estándar presentado por el grupo CD exhibe un aumento. Para confirmar el aumento de triglicéridos en este grupo, se decidió utilizar una prueba estadística que comparara los tiempos 14, 28 y 42 contra los iniciales, lo cual nos indica que el aumento en los triglicéridos es sostenido como se esperaba. Este aumento en los triglicéridos era un resultado esperado, ya que la deficiencia de insulina y, por ende de su señalización, genera que el organismo diabético tenga hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia (Sireesha, Kasetti, Nabi, Swapna, & Apparao, 2011).

El grupo experimental E+Rm no presenta un aumento en la concentración de triglicéridos en plasma sanguíneo, resultado que es muy importante, ya que además del efecto hipoglucemiante, el extracto de *R. mangle* tiene efecto que evita el aumento de triglicéridos en este modelo experimental. Este hecho adquiere relevancia en el caso de una terapia conjunta de un hipoglucemiante oral como la glibenclamida y una infusión de *R. mangle* como complemento a su terapia, ya que el aumento en los triglicéridos en el paciente diabético son de los principales causantes de las enfermedades cardiovasculares (Pandhare, Balakrishnan, Mohite, & Khanage, 2012).

En el caso del colesterol HDL no se presenta ninguna modificación en los valores observados en ninguno de los tres grupos a los que les fue inducida la hiperglucemia crónica con STZ-NA. Ravi y colaboradores en el 2005 mencionan que pacientes diabéticos que no están sometidos a un tratamiento presentan una disminución en las concentraciones de HDL, motivo por el cual, si esto es extrapolado al modelo STZ-NA, el grupo CD debió presentar una disminución (Ravi, Rajasekaran, & Subramanian, 2005). Esta extrapolación no es posible debido a que el modelo propuesto por Masiello en 1998 sólo disminuye la concentración de insulina circulante generada por la destrucción parcial de la

masa de células β del páncreas, por lo que no se pueden reproducir otros aspectos importantes de la enfermedad como es la resistencia a la insulina, además de no poseer la carga de genes relacionados a todas las disfunciones presentes en esta enfermedad.

CONCLUSIONES

El presente trabajo pudo cumplir con el objetivo general planteado al inicio, ya que se evaluó el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de *R. mangle* de forma crónica, además de confirmar que el modelo establecido por Masiello en 1998 sigue siendo una buena opción para los estudios de sustancias con un potencial efecto hipoglucemiante, ya que después de al menos 42 días posteriores a la inducción, los animales tratados con STZ y NA siguen presentando niveles hiperglucémicos y una respuesta a hipoglucemiantes orales como las sulfonilureas.

Un aspecto importante es confirmar el efecto hipoglucemiante presentado por *R. mangle*, y que dicho efecto puede mantenerse por al menos 42 días. No se pudo observar una disminución en el porcentaje de HbA1c al ser comparado con el control diabético, sin embargo, un punto valioso de lo observado en ese parámetro es que la ingesta de este extracto es capaz de evitar que el aumento de la hemoglobina glucosilada sea de forma crónica, es decir, evita que el aumento sea mayor con el paso del tiempo.

En el caso del perfil lipídico sólo se logró apreciar una modificación en los triglicéridos, siendo este parámetro muy importante, ya que mostró que *R. mangle*, además de su capacidad hipoglucemiante, es capaz de evitar un aumento en los triglicéridos, de modo que si se toma de manera conjunta con un hipoglucemiante oral, los pacientes diabéticos podrían tener grandes beneficios, ya que disminuye el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares.

PERSPECTIVAS

Realizar un experimento crónico en el cual se agregue un grupo experimental adicional, en el que a los organismos se les administre una terapia conjunta de hipoglucemiante oral y el extracto de *R. mangle*, para tener una idea del efecto de una terapia conjunta ya que en las comunidades llegan a utilizar al mismo tiempo el fármaco y la infusión de la planta.

Al observar que *R. mangle* tiene un efecto hipoglucemiante que puede prolongarse por al menos 42 días, es importante conocer la vía de acción, así como los compuestos fitoquímicos mayoritarios en busca del componente o componentes activos presentes en esta planta.

REFERENCIAS

- American Diabetes Association. (2012). Diagnosing Diabetes and Learning About Prediabetes. Retrieved from <http://www.diabetes.org/diabetes-basics/diagnosis/?loc=db-slabnav>
- American Diabetes Association. (2013). El diagnóstico de la diabetes e información sobre la prediabetes. Retrieved from <http://www.diabetes.org/es/informacion-basica-de-la-diabetes/diagnostico.html?loc=db-es-slabnav>
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325–48. doi:10.1016/j.jep.2005.04.019
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2011). From the field into the lab: useful approaches to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 20. doi:10.3389/fphar.2011.00020
- Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2), 160–168. Retrieved from http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000200005&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Beckman, J. A., Creager, M. A., & Libby, P. (2002). Diabetes and atherosclerosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *JAMA : The Journal of the American Medical Association*, 287(19), 2570–81. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12020339>
- Biblioteca de la Medicina Tradicional Mexicana. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Retrieved from <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>
- Coletta, D. K., & Mandarino, L. J. (2011). Mitochondrial dysfunction and insulin resistance from the outside in: extracellular matrix, the cytoskeleton, and mitochondria. *American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism*, 301(5), E749–55. doi:10.1152/ajpendo.00363.2011
- Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. (2012). Comisión Nacional para el conocimiento y uso de la Biodiversidad. Retrieved from <http://www.conabio.gob.mx/>
- Díaz, J. (1997). *Aspectos básicos de bioquímica clínica*. Madrid: Díaz de Santos.
- Eddouks, M., Chattopadhyay, D., & Zeggwagh, N. A. (2012). Animal models as tools to investigate antidiabetic and anti-inflammatory plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine : eCAM*, 2012, 142087. doi:10.1155/2012/142087
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. (2012). Diabetes mellitus: La urgencia de reforzar la respuesta en políticas públicas para su prevención y control. Retrieved from <http://ensanut.insp.mx/doctos/analiticos/DiabetesMellitus.pdf>
- Escobar, F., & Tébar, F. (2009). *La diabetes mellitus en la práctica clínica*. Buenos Aires: Médica Panamericana.

- Fisher-Wellman, K. H., & Neuffer, P. D. (2012). Linking mitochondrial bioenergetics to insulin resistance via redox biology. *Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM*, 23(3), 142–53. doi:10.1016/j.tem.2011.12.008
- Holmstedt, B., & Bruhn, J. (1983). Ethnopharmacology a Challenge. *Journal of Ethnopharmacology*, 3(5), 251–256.
- International Diabetes Federation. (2011). Tipos de diabetes. Retrieved from <http://www.idf.org/node/26453>
- International Diabetes Federation. (2014). Complications of diabetes. Retrieved from <http://www.idf.org/complications-diabetes?language=es>
- Kamble, H. V., & Bodhankar, S. L. (2013). Antihyperglycemic activity of trigonelline and sitagliptin in nicotinamide-streptozotocin induced diabetes in Wistar rats. *Biomedicine & Aging Pathology*, 3(3), 125–130. doi:10.1016/j.biomag.2013.05.006
- Laureano, N. (2013). *Administración de sacarosa a ratas diabéticas (NA-STZ) como modelo animal de resistencia a insulina*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Leahy, J. L. (2005). Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Archives of Medical Research*, 36(3), 197–209. doi:10.1016/j.arcmed.2005.01.003
- Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., ... Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224–9. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9519717>
- Nolan, C. J., Damm, P., & Prentki, M. (2011). Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *Lancet*, 378(9786), 169–81. doi:10.1016/S0140-6736(11)60614-4
- Organización Mundial de la Salud. (2012). Diabetes | Nota descriptiva N°312. World Health Organization. Retrieved from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Organización Mundial de la Salud. (2013). 10 datos sobre la diabetes. Retrieved from <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/facts/es/index4.html>
- Pandhare, R., Balakrishnan, S., Mohite, P., & Khanage, S. (2012). Antidiabetic and antihyperlipidaemic potential of *Amaranthus viridis* (L.) Merr. in streptozotocin induced diabetic rats. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(Supplement 1), S180–S185. Retrieved from <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.elsevier-0dafa800-6735-3cc2-9747-1d7348badf29>
- Paniagua, R. (2010). Diabetes: la enemiga silenciosa. Retrieved from <http://mx.globedia.com/diabetes-enemiga-silenciosa>
- Pari, L., & Sankaranarayanan, C. (2009). Beneficial effects of thymoquinone on hepatic key enzymes in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sciences*, 85(23-26), 830–4. doi:10.1016/j.lfs.2009.10.021
- Ravi, K., Rajasekaran, S., & Subramanian, S. (2005). Antihyperlipidemic effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Food and Chemical*

Toxicology : An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 43(9), 1433–9. doi:10.1016/j.fct.2005.04.004

- Rodríguez-Rodríguez, E., Perea, J. M., López-Sobaler, A. M., & Ortega, R. M. (2009). Obesidad, resistencia a la insulina y aumento de los niveles de adipocinas: importancia de la dieta y el ejercicio físico. *Nutrición Hospitalaria*, 24(4), 415–421. Retrieved from http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112009000400004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rubalcaba, M. (2012). *Efecto hipoglucemiante de la corteza de Rhizophora mangle en ratas tratadas con NAD-STZ*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Samario, J. (2013). *Efecto de la administración aguda de extractos de Cecropia obtusifolia Bertol en la concentración plasmática de insulina en ratas NAD-STZ*. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Schäfer, S. A., Machicao, F., Fritsche, A., Häring, H.-U., & Kantartzis, K. (2011). New type 2 diabetes risk genes provide new insights in insulin secretion mechanisms. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 93 Suppl 1, S9–24. doi:10.1016/S0168-8227(11)70008-0
- Sireesha, Y., Kasetti, R. B., Nabi, S. A., Swapna, S., & Apparao, C. (2011). Antihyperglycemic and hypolipidemic activities of *Setaria italica* seeds in STZ diabetic rats. *Pathophysiology : The Official Journal of the International Society for Pathophysiology / ISP*, 18(2), 159–64. doi:10.1016/j.pathophys.2010.08.003
- Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & van Haefen, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*, 365(9467), 1333–46. doi:10.1016/S0140-6736(05)61032-X
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca*, 50(6), 537–46. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314>
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine (Maywood, N.J.)*, 237(5), 481–90. doi:10.1258/ebm.2012.011372
- Trujillo, H. (2007). La curva de tolerancia a la glucosa oral. Un enfoque alternativo. *ContactoS*, 64, 21–24.
- Velazco, A. (2003). *Farmacología Fundamental* (p. 1019). McGraw-Hill Interamericana.
- Zárate, A., Basurto, L., Saucedo, R., & Hernández-Valencia, M. (2010). Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 48(3), 293–296.