



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

ACTIVIDAD ANTIDIABÉTICA Y TOXICIDAD DEL EXTRACTO ACUOSO
PERCOLADO DE *Tamarindus indica* Linn (*TiL*) EN RATONES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

JOSÉ ANTONIO ESQUIVEL DELGADO



MÉXICO, D. F.

2007



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.

JURADO ASIGNADO

Presidente:	Profr. Rafael Ri3n Arriola
Vocal:	Profra. Elia Brosla Naranjo Rodr3guez
Secretario:	Profr. Atonatiu Edmundo G3mez Mart3nez
1^{er} Suplente:	Profr. Alejandro Ortiz Osornio
2^o Suplente:	Profra. Martha Eugenia Albores Velasco

SITIO EN DONDE SE DESARROLL3 EL TEMA

UNAM, Facultad de Qu3mica, Departamento de Farmacia, Edificio "A", Laboratorio de Neurofarmacolog3a.

Asesor del tema:

Dra. Elia Brosla Naranjo Rodr3guez

Supervisor t3cnico:

Dra. Martha Eugenia Albores Velasco

Sustentante:

Jos3 Antonio Esquivel Delgado



AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Programa de Apoyo a Licenciatura y Posgrado ((PAL-PAIP). Facultad de Química. UNAM. Clave: 6390-21 por el apoyo para el desarrollo de este trabajo.



A la Dra. Elia Naranjo:

Por haberme brindado la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por el apoyo y paciencia. Gracias porque de usted me llevo muchas enseñanzas que se me serán útiles en el futuro.

A mis padres (en especial a mi madre):

Por darme la oportunidad de llegar hasta aquí, por su apoyo, cariño y amor. Este logro no solo es mío sino de nosotros.

A mi novia Denisse:

Gracias por estar conmigo, apoyarme, escucharme, alentarme, quererme y amarme. Por ser uno de los dos pilares que me mantienen firme y el que me da los principales motivos para seguir adelante. TE AMO.

A mi hermana Dulce:

Por apoyarme y ayudarme cuando lo necesité.

A mi hermana Gaby:

Por darme tu apoyo incondicional, por estar conmigo en los momentos importantes. Por ser uno de mis pilares de sostén. No tengo palabras para agradecerte todo lo que has hecho por mí. GRACIAS.

A mis compañeros y compañeras de laboratorio:

Porque estuvieron dispuestos a apoyarme en todo momento y porque me ayudaron cuando lo necesité al realizar los experimentos. También por hacerme sentir a gusto en mi estancia en el laboratorio el cual se convirtió en mi segunda casa y con una segunda familia al lado de ustedes.

A mis amigos:

Por apoyarme e interesarse en mí, por darme todos aquellos momentos agradables a lo largo de la carrera.



ÍNDICE

CAPÍTULO	PÁGINA
AGRADECIMIENTOS	I
ABREVIATURAS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	VI
ÍNDICE DE GRÁFICAS	VII
GLOSARIO	VIII
1.0 INTRODUCCIÓN	1
2.0 GENERALIDADES	5
2.1 Historia de la diabetes mellitus	5
2.2 Páncreas	9
2.2.1 Anatomía y fisiología	10
2.3 Insulina	11
2.3.1 Estructura	11
2.3.2 Biosíntesis	13
2.3.3 Secreción	14
2.3.4 Mecanismo de acción	15
2.3.5 Degradación	16
2.4 Diabetes mellitus	18
2.4.1 Definición	18
2.4.2 Epidemiología	18
2.4.2.1 Transición epidemiológica	19
2.4.3 Clasificación	20
2.4.3.1 Diabetes mellitus tipo 1	21
2.4.3.1.1 Diabetes inmuno mediada	21
2.4.3.1.2 Diabetes idiopática	21
2.4.3.2 Diabetes mellitus tipo 2	22
2.4.3.3 Diabetes mellitas gestacional	22
2.4.3.4 Otros tipos específicos de diabetes	23
2.4.3.4.1 Defectos genéticos de las células β	23
2.4.3.4.2 Defectos genéticos en la acción de la insulina	23
2.4.3.4.3 Enfermedades del páncreas exocrino	24
2.4.3.4.4 Endocrinopatías	24
2.4.3.4.5 Diabetes inducida por químicos o fármacos	24
2.4.3.4.6 Infecciones	25
2.4.3.4.7 Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes	25
2.4.3.4.8 Otros síndromes genéticos asociados con diabetes	25



2.4.4 Alteraciones metabólicas	25
2.4.5 Síntomas	26
2.4.6 Diagnóstico	27
2.4.7 Complicaciones	29
2.4.7.1 Agudas	29
2.4.7.2 A corto plazo	31
2.4.7.3 A largo plazo	32
2.4.7.3.1 Aterosclerosis	32
2.4.7.3.2 Retinopatía	32
2.4.7.3.3 Neuropatía	33
2.4.7.3.4 Nefropatía	33
2.4.8 Tratamiento	34
2.4.8.1 Dieta	34
2.4.8.2 Ejercicio	34
2.4.8.3 Hipoglucemiantes orales	35
2.4.8.3.1 Biguanidas	35
2.4.8.3.2 Sulfonilureas	35
2.4.8.3.3 Tiazolidinedionas	36
2.4.8.3.4 Meglitinidas	37
2.4.8.3.5 Inhibidores de la α -glucosidasa	38
2.4.8.4 Insulina	38
2.5 Modelos animales de diabetes	40
2.5.1 Modelos animales de hiperglucemia	40
2.5.1.1 Diabetes mellitus espontánea	40
2.5.1.2 Diabetes mellitus inducida	42
2.6 Estreptozotocina	42
2.6.1 Historia	42
2.6.2 Propiedades	43
2.6.3 Farmacología	43
2.6.4 Mecanismo de acción	43
2.6.5 Usos	44
2.6.6 Carcinogenicidad	44
2.6.7 Producción	45
2.7 Tamarindo	45
2.7.1 Generalidades	45
2.7.2 Historia	45
2.7.3 Descripción	46
2.7.4 Distribución	47
2.7.5 Origen	47
2.7.6 Hábitat	47
2.7.7 Usos	47
3.0 JUSTIFICACIÓN	49
4.0 HIPÓTESIS	51
5.0 OBJETIVOS	52
5.1 Generales	52



5.2 Particulares	52
6.0 METODOLOGÍA	53
6.1 Material	53
6.2 Métodos	55
6.3 Tratamiento estadístico	58
7.0 RESULTADOS	60
8.0 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	80
9.0 CONCLUSIONES	88
10.0 BIBLIOGRAFÍA	89



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Fragmento del Papiro de Ebers
Figura 2	Paul Langerhans
Figura 3	Banting y Best con la perrita “Marjorie”
Figura 4	Localización del páncreas
Figura 5	Islotes de Langerhans
Figura 6	Estructura de la insulina
Figura 7	Secuencia de la biosíntesis de la insulina en las células β pancreáticas
Figura 8	Mecanismo de acción de la insulina
Figura 9	Tasa de mortalidad de la DM en México
Figura 10	Diferencia entre un ojo sano y uno con retinopatía
Figura 11	Estructura química de la estreptozotocina
Figura 12	Fruto del árbol de tamarindo



ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1	Obtención de la muestra sanguínea de la cola de los ratones
Fotografía 2	Cuantificación de la concentración de glucosa con el glucómetro
Fotografía 3	Pesado de los animales
Fotografía 4	Marcado de los animales
Fotografía 5	Organización de animales
Fotografía 6	Administración vía i. p.
Fotografía 7	Administración vía s. c.
Fotografía 8	Administración vía intragástrica
Fotografía 9	Control de alimento y agua consumido por los animales
Fotografía 10	FPEAT de <i>TiL</i> e insulina



ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1	Curva de concentración de glucosa en ratones íntegros
Gráfica 2	Prueba de toxicidad en AS al EAT de <i>TiL</i>
Gráfica 3	Prueba de toxicidad en AS a la FPEAT de <i>TiL</i>
Gráfica 4	Curva de tolerancia a la glucosa
Gráfica 5	Curva de tolerancia ala insulina
Gráfica 6	Curva de tolerancia al EAT de <i>TiL</i>
Gráfica 7	Inducción de DM
Gráfica 8	Insulina
Gráfica 9	FPEAT
Gráfica 10	FPEAT+Insulina
Gráfica 11	Insulina vs Controles
Gráfica 12	FPEAT vs Controles
Gráfica 13	FPEAT+Insulina vs Controles
Gráfica 14	Comparación entre tratamientos
Gráfica 15	Peso corporal por grupo
Gráfica 16	Alimento consumido por grupo
Gráfica 17	Agua consumida por grupo



1.0 INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un trastorno metabólico crónico caracterizado por una concentración sanguínea de glucosa elevada, o hiperglucemia, y causada por una deficiencia de insulina, a menudo combinada a una resistencia insulínica^{47,7}. Puede producirse por una variedad de condiciones genéticas, metabólicas y adquiridas que culminan en hiperglucemia. Las alteraciones del metabolismo de la glucosa y las anomalías graves del metabolismo de las grasas, proteínas y otras sustancias son las características patológicas de la DM. Sus complicaciones pueden ser: agudas, como hiperglucemia, cetoacidosis grave e hipertrigliceridemia; a corto plazo, como defectos en la microcirculación, anomalías en leucocitos, plaquetas y eritrocitos, disfunción nerviosa y renal; a largo plazo, como retinopatía, nefropatía, pie diabético, alteraciones neurológicas, capilares y arteriales^{53,7}.

Se conocen dos grandes grupos de DM: diabetes mellitus tipo 1 (DM1), también denominada DM insulino dependiente, se debe a una falta de secreción de insulina; diabetes mellitus tipo 2 (DM2), también denominada DM no insulino dependiente, obedece a una menor sensibilidad de los tejidos efectoras a las acciones metabólicas de la insulina. Esta menor sensibilidad a la insulina suele conocerse como resistencia a la insulina²⁷.

La DM es un problema relevante de salud que requiere una atención prioritaria en México, ya que su tendencia al incremento no ha sido controlada con los esfuerzos desarrollados. El comportamiento demográfico del país en el que se advierte un cambio en la pirámide poblacional agregará condiciones de riesgo para la diversa población, que sumando a los casos existentes, incrementará la demanda de servicios de atención primaria y especializada en un futuro cercano¹¹. De acuerdo con el Instituto Nacional de Estadística, Geografía Estadística (INEGI) la DM se ha colocado en años recientes a la cabeza de las



principales causas de muerte en el país¹⁹. Cada hora mueren 6 mexicanos por DM y está comprobado que sin un tratamiento adecuado, el 50% de las personas con este mal desarrollará neuropatía diabética, la cual altera diferentes procesos celulares que dañan el tejido nervioso en los miembros superiores e inferiores, por un lado³².

Por otro lado, se plantean diversos programas de prevención de la DM, con lo que se hace difusión al control del sobrepeso, además de motivar a las personas a acudir a las instituciones de salud como la Secretaría de Salud a realizarse pruebas para la detección de la DM, si este programa funciona, entonces estamos hablando de que existirá una disminución de personas diabéticas, una disminución del costo para las instituciones con respecto a los diabéticos y disminución del costo para los diabéticos y sus familiares.

La mayoría de los casos de DM que se diagnostican en el país presentan DM2, y es frecuente que muchos de los pacientes con este padecimiento no se den cuenta de su hiperglucemia durante varios años. Esta elevación silenciosa, persistente e inadvertida de la glucosa favorece la presencia de las complicaciones, ya que retarda el tratamiento y el daño de los vasos sanguíneos inicia, por lo menos, entre 4 y 7 años antes de que aparezcan los síntomas, con lo cual se incrementa el riesgo de complicaciones crónicas y con ellas, de la muerte temprana, que en los enfermos de DM es 2 a 4 veces mayor que la población general¹¹.

La DM no es curable. El objetivo inmediato del tratamiento es estabilizar la concentración de azúcar en la sangre y eliminar los síntomas producidos por el alto nivel de azúcar en la sangre. El objetivo, a largo plazo, es prolongar la vida, mejorar la calidad de vida, aliviar los síntomas y prevenir las complicaciones a largo plazo como trastornos cardiacos y la insuficiencia renal¹⁴. Los pilares del tratamiento de pacientes con DM están dados por la instauración de un plan alimentario apropiado, la realización de ejercicio físico aeróbico, con



la intensidad y frecuencia adecuadas, la instrucción diabetológica del paciente y la administración de ser necesario, de fármacos: antidiabéticos orales (indicados a los pacientes con DM2) o insulina⁷; solo que el tratamiento con estos fármacos causa efectos adversos agresivos en los pacientes como hipoglucemia, aumento de peso, retención de líquidos, etc⁴⁷.

Desafortunadamente, el costo de este tratamiento es elevado. El Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) estima el gasto anual por DM en el país en 317 millones de dólares (más de 3 mil millones de pesos), que equivale al 4.7% del gasto público para la Secretaría de Salud (SS) (38 millones de dólares) y al 6.5% del gasto para el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) e Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE) (103 millones de dólares), y en el 2005 este gasto fue de aproximadamente 320 millones de dólares²⁰.

Por lo expuesto anteriormente, se ha pensado en un tratamiento alternativo de bajo costo y menos agresivo para los pacientes. En años recientes se ha planteado un tratamiento alternativo a base de productos naturales porque tienen un uso tradicional, las plantas utilizadas como antidiabéticas han mostrado actividad hipoglucémica en animales de laboratorio o en el hombre, aunque no se han identificado todavía el o los agentes responsables de dicha actividad⁴³. Dentro de la Medicina tradicional el tamarindo cuyo nombre científico es *Tamarindus indica* Linn (*TiL*) es de los más utilizados.

Los Árabes fueron los primeros en tener conocimiento de las propiedades del tamarindo, que fue conocido en Europa como “tamarindo de la India”. Los comerciantes lo introdujeron en Asia. El nombre deriva del árabe “tamare”=dátil e “hindi”=indio, que significa dátil de la India, siendo este nombre el que le dio origen a su nombre botánico: *Tamarindus indica*³¹. El *TiL* se ha utilizado en la medicina tradicional de nuestro país (empíricamente) para



tratar la DM. En este trabajo se realizó un análisis científico del fruto del árbol así como la extracción de sus componentes totales, extracto acuoso total (EAT), y fraccionados, fracción obtenida por percolación del extracto acuoso total (FPEAT). Además, se propone el uso de la FPEAT de *TiL* como un tratamiento alternativo para la DM.

El objetivo general de este trabajo fue evaluar y comparar la actividad “antidiabética” de la FPEAT de *TiL* con insulina en ratones.



2.0 GENERALIDADES

2.1 HISTORIA DE LA DIABETES MELLITUS

La historia de la Medicina, según la evidencia que se ha encontrado, inicia hace casi 3,000 años con los antiguos Egipcios. Anteriormente, se creía que la Medicina empezaba con los Griegos, pero existen datos que nos remontan hasta Imhotep y Thot. A Imhotep lo consideraron el “Dios de la Medicina” y es la referencia más antigua de un médico. En cambio a Thot le nombraron el “Dios del arte de curar” y fue el “Patrono de los médicos”²¹.

Esta cultura Egipcia se conoce gracias a la existencia de diversos papiros del año 2,000 hasta 1,200 años a.C., así como la descripción de diversas enfermedades y la manera de curarlas. La primera referencia de la DM se atribuye al más famoso de estos papiros, el de Ebers (Figura 1), encontrado por Georg Ebers en 1872 cerca de Thebes y que se cree fue escrito en 1,550 a.C.²¹.

Entre el V y el IV siglo a.C., inicia la era de los Griegos en la Medicina y la figura principal fue Hipócrates (460 a 377 a.C.) a quien se le llamó “Padre de la Medicina”. No hay mención específica de la DM en los escritos de Hipócrates, pero sí una amplia descripción de los signos y síntomas de la enfermedad. Otro médico Griego, Claudius Galeno (130 a 201 d.C.) fue el más famoso escritor de Medicina de todos los tiempos. En sus escritos, Galeno describió la DM y pensaba que su origen se encontraba en los riñones²¹.

En el año 70 a.C. el Romano Aretaeus observó polidipsia y poliuria, y denominó la enfermedad *diabetes*, que significa “agua pasando a través de un sifón”^{53,21}. En la Medicina Hindú se agregó el término de “orina de miel” casi un milenio antes de que los europeos la llamaran *mellitus* a la DM (*mellitus* quiere decir miel). Hay tres médicos hindús conocidos como “El trío sagrado” que fueron Charaka, Susruta y Vagbhata. En sus escritos, llamados



Samhitas, describieron 20 diferentes variedades de “Pramhea” que quiere decir enfermedades del flujo de orina. Ellos usaron los términos: Iksumeha (orina con azúcar) y Madhumeha (orina de miel)²¹.

En la Edad Media la DM sufre un importante vacío en cuestiones de ciencia y algunos aspectos de la cultura aunque podríamos citar a: Avicena, Feliche y Paracelso¹⁶.

Por otro lado, el médico londinense Thomas Willis introdujo más tarde el término *mellitus* o “semejante a la miel” tras detectar el sabor dulce de la orina⁵³. En 1778, Thomas Cawley realizó la autopsia a un diabético y observó que tenía un páncreas atrófico y múltiples cálculos implantados en el tejido pancreático, esta es la primera referencia fundamentada que relaciona la DM y el páncreas¹⁶.

En 1869, un estudiante alemán de Medicina, Paul Langerhans (Figura 2), notó que el páncreas contiene dos distintos grupos de células: las células acinares, las cuales secretan enzimas digestivas, y células que están agrupadas en islas, o islotes, lo cual sugirió que tenían una segunda función. La evidencia directa para esta función llegó en 1889, cuando Minkowski y von Mering mostraron que perros pancreatectomizados exhibían un síndrome similar a la DM en humanos²⁶.

Hubo numerosos intentos para extraer la sustancia pancreática responsable de la regulación de la glucosa sanguínea. A principios del siglo XX, George Zuelzer, un internista en Berlín, intentó tratar a un paciente diabético con extractos de páncreas. Aunque el paciente mejoró temporalmente, cayó dentro de un coma y murió cuando el suministro de extracto se agotó. E. L. Scott, un estudiante de la Universidad de Chicago, hizo otro intento para aislar un principio activo en 1911. Usando extractos alcohólicos del páncreas, Scott trató varios perros diabéticos con resultados alentadores; sin embargo, le faltó aclarar la manera de medir la



concentración de glucosa sanguínea, por lo que su profesor consideró que el experimento estaba inconcluso. Entre 1916 y 1920, el fisiólogo Rumano Nicolas Paulesco encontró que las inyecciones de extractos pancreáticos reducían el azúcar y las cetonas urinarias en perros diabéticos. A pesar de que él publicó los resultados de su experimento, su importancia fue totalmente apreciada años más tarde²⁶.

El descubrimiento de la insulina se desarrolló en la Universidad de Toronto por el Dr. Frederick Grant Banting, canadiense, cirujano ortopédico cuyo interés nació al sospechar que cerrando los ductos pancreáticos y haciendo que los acinos se destruyeran, podía obtener la secreción interna de los islotes²². Banting, junto con su ayudante Charles Best observaron que inyectando el líquido obtenido en una cachorra diabética, se conseguía reducir en dos horas una glucemia: habían descubierto la insulina. Esta cachorra es la famosa "Marjorie", primer animal que después de haberle quitado el páncreas pudo vivir varias semanas con la inyección del extracto de Banting y Best, hasta que tuvo que ser sacrificada al acabarse el extracto (Figura 3)¹⁶.

El primer paciente diabético en recibir el extracto activo preparado por Banting y Best fue Leonard Thompson, de 14 años de edad. Se presentó en el Hospital General de Toronto con niveles de glucosa sanguínea de 500 mg/dL (28 mM). A pesar de un estricto control de su dieta (450 kcal/día), él continuó excretando grandes cantidades de glucosa, y sin insulina, el resultado más probable pudo ser la muerte después de unos meses. La administración de los extractos de Banting y Best redujo la concentración en plasma y la excreción urinaria de glucosa. Se aplicaron diariamente inyecciones. La excreción de glucosa se redujo de por arriba de 100 a algo tan poco como 7.5 g/día, y el paciente mostró una notoria mejora clínica²⁶.



La terapia con la nueva hormona descubierta, insulina, tuvo un obstáculo que fue un claro desorden metabólico. Fue difícil tener reproducibilidad en la obtención de extractos activos. Por lo que Banting buscó la ayuda de J. B. Collip, un químico experto en la extracción y purificación de adrenalina. Obtuvieron extractos estables y pacientes en muchas partes de Norteamérica pronto fueron tratados con insulina de origen porcino y bovino²⁶.

El Premio Nobel en Medicina y Fisiología fue otorgado a Banting y Macleod en 1923. Banting anunció que quería compartir su premio con Best; Macleod hizo lo mismo con Collip²⁶.

Durante la tercera y cuarta décadas del siglo pasado se produjeron preparados insulínicos (con insulina extraída de páncreas de bovinos o porcinos) de mayor pureza y acción más prolongada y en 1955 Sanger logró determinar la secuencia de aminoácidos de esta hormona polipeptídica. La estructura tridimensional de la insulina se dilucidó mediante cristalografía por difracción de rayos X, en 1969, y entre 1977 y 1981 se logró sintetizar una hormona de estructura primaria idéntica a la humana, tanto por métodos de ingeniería genética como por la modificación de la secuencia de aminoácidos de la insulina porcina⁷.

Ahora, como resultado de la tecnología de ácido desoxirribonucleico (ADN) recombinante, la insulina humana es utilizada para la terapia²⁶.



Figura 1. Fragmento del papiro de Ebers¹⁶.



Figura 2. Paul Langerhans (1847 – 1888)¹⁶.



Figura 3. Banting y Best con la perrita "Marjorie"¹⁶.

2.2 PÁNCREAS

El páncreas se relacionó con la DM ya que se observó que las personas que padecían esta enfermedad presentaban un daño común en este órgano.

El páncreas, además de sus funciones digestivas, secreta dos hormonas esenciales, la insulina y el glucagon, para la regulación del metabolismo de la glucosa, los lípidos y las proteínas. Pese a que el páncreas también secreta otras hormonas, como la amilina, la somatostatina y el polipéptido pancreático, sus funciones se conocen poco²⁷.



2.2.1 ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA

En el ser humano el páncreas se extiende desde el marco duodenal (que rodea su cabeza) hasta el bazo (a menudo en contacto con la cola del páncreas), con una subdivisión estructural y funcional bien notoria (Figura 4)⁷.

El páncreas se compone de dos grandes tipos de tejido, los acinos, que secretan el jugo digestivo al duodeno y los islotes de Langerhans (Figura 5), que secretan insulina y glucagón de forma directa a la sangre²⁷.

El páncreas humano cuenta con 1 a 2 millones de islotes de Langerhans, cada uno de unos 0.3 mm de diámetro; los islotes se organizan en torno a pequeños capilares, hacia los que vierten sus hormonas. Los islotes contienen tres tipos fundamentales de células; α , β y δ , que se diferencian entre sí por sus características morfológicas y de tinción. Las células β representan casi el 60% de la totalidad, se encuentran sobre todo en el centro de cada islote y secretan insulina y amilina, hormona que suele liberarse paralelamente a la insulina, pese a que no se conoce bien su función. Las células α , que componen casi el 25% del total, secretan glucagón y las células δ , que representan un 10%, secretan somatostatina. Además, existe por lo menos otro tipo de célula, la célula PP, en cantidad reducida, que produce una hormona de función incierta, denominada polipéptido pancreático²⁷.

Las relaciones íntimas entre estos tipos celulares de los islotes de Langerhans facilitan la comunicación intercelular y el control directo de la secreción de algunas de las hormonas por las demás. Por ejemplo, la insulina inhibe la secreción de glucagón, la amilina la de insulina, y la somatostatina la de insulina y glucagón²⁷.

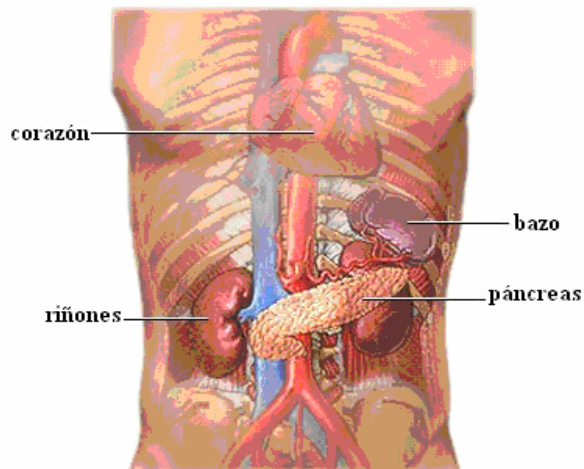


Figura 4. Localización del páncreas¹⁷.

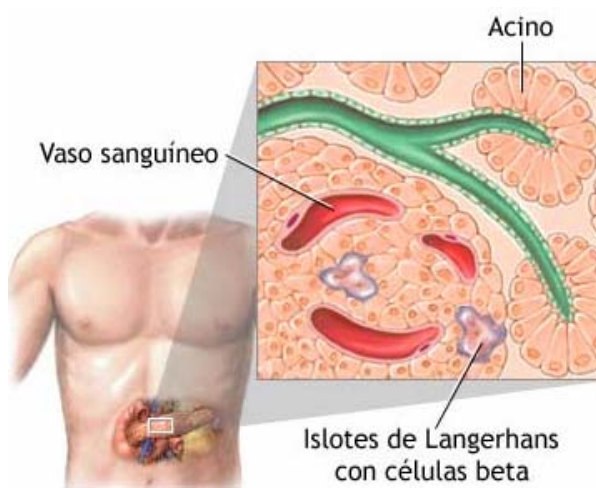


Figura 5. Islotes de Langerhans³⁹.

2.3 INSULINA

La insulina se secreta en las células β pancreáticas y es la principal hormona que regula la concentración de glucosa sanguínea.

2.3.1 ESTRUCTURA

La insulina se compone de 51 aminoácidos dispuestos en dos cadenas polipeptídicas, designadas A y B, que están unidas por dos puentes disulfuro entre las cadenas que conectan



A7 con B7, y A20 con B19. La molécula de insulina también contiene un puente disulfuro intramolecular entre los residuos de aminoácidos 6 y 11 de la cadena A (Figura 6)^{28,40}.

En la mayor parte de las especies no varía la localización de estos puentes disulfuro, y las cadenas A y B, tienen 21 y 30 aminoácidos, respectivamente. La insulina humana tiene una masa molecular de 5,734 kDa⁴⁰.

La insulina bovina difiere de la humana en tres posiciones de aminoácidos, en tanto que la porcina varía solo en una posición²⁸.

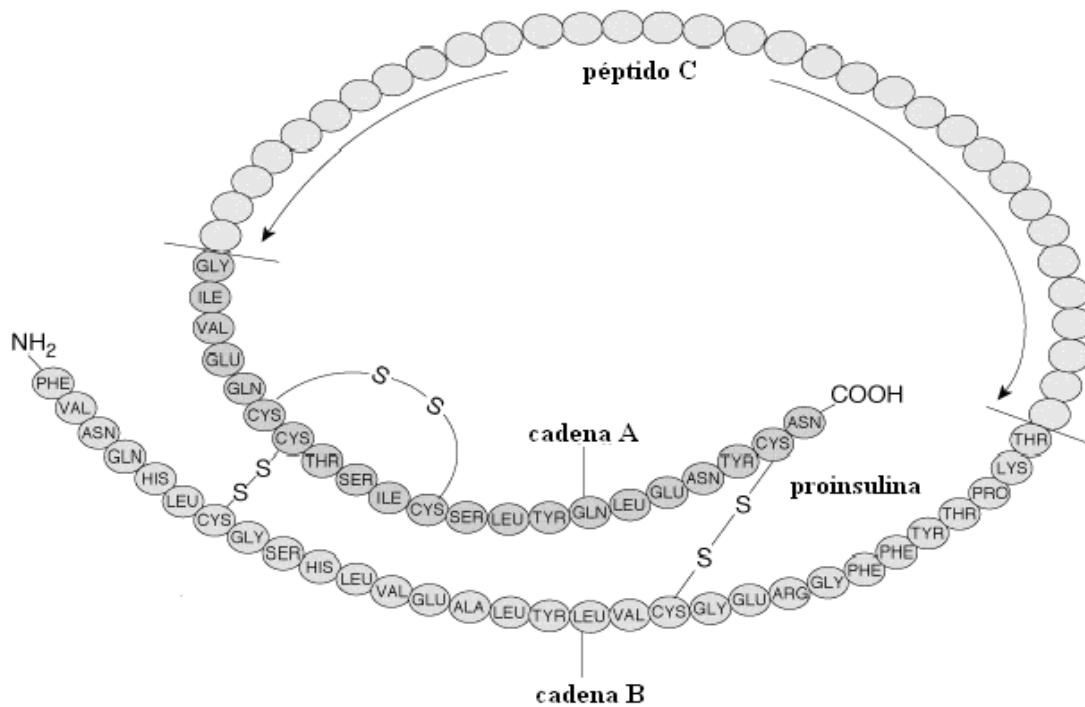


Figura 6. Estructura de la insulina. Cuando es removido el péptido de conexión (péptido C), la proinsulina es convertida a insulina⁸.

**2.3.2 BIOSÍNTESIS**

La insulina se sintetiza como una preprohormona (peso molecular aproximadamente de 11,500 kDa); y es el prototipo para los péptidos que se procesan a partir de grandes moléculas precursoras. La secuencia de 23 aminoácidos, pre o líder, dirige la molécula hacia el interior de la cisterna del retículo endoplásmico y después es removida. Esto origina una molécula de proinsulina, con peso molecular de 9,000 kDa, que proporciona la conformación necesaria para los puentes disulfuro apropiados. El ordenamiento de la proinsulina, iniciando desde el amino terminal es: cadena B-péptido de conexión (C)-cadena A. La molécula de proinsulina sufre una serie de cortes de péptidos en sitios específicos, lo que resulta en la formación de cantidades equimolares de insulina madura y de péptido C (Figura 7)^{47,28,40}.

La proinsulina es sintetizada por los ribosomas sobre el retículo endoplásmico rugoso y la remoción enzimática del segmento líder (pre) del péptido con la formación del enlace disulfuro y el doblaje, tienen lugar en la cisterna de este organelo. La molécula de proinsulina es transportada hacia el aparato de Golgi, en donde se inicia la proteólisis y es empacada en los gránulos secretores. En los gránulos continúa la maduración, conforme atraviesan el citoplasma hacia la membrana plasmática. Debido a una estimulación apropiada, los gránulos maduros se fusionan con la membrana plasmática y descargan su contenido hacia el líquido extracelular por medio de un proceso de exocitosis^{47,40}.

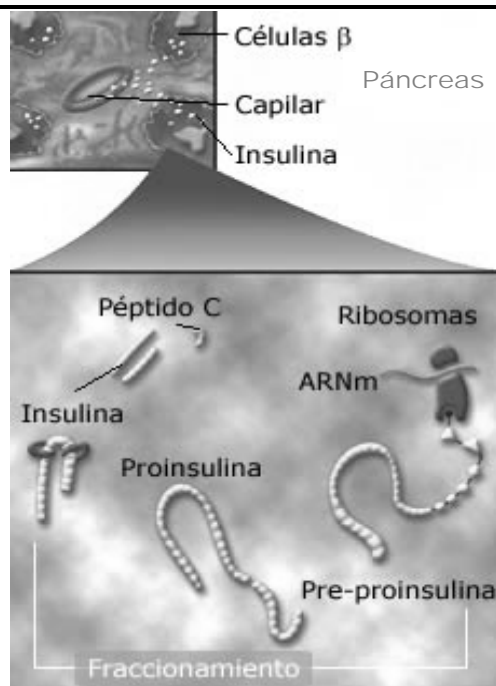


Figura 7. Secuencia de la biosíntesis de la insulina en las células β pancreáticas⁴⁵.

2.3.3 SECRECIÓN

El páncreas del ser humano secreta 40 a 50 unidades de insulina por día, lo que representa cerca de 15 a 20% de la hormona almacenada en la glándula. La secreción de la insulina es un proceso que requiere de energía y que involucra al sistema de microtúbulos-microfilamentos en las células β de los islotes⁴⁰.

La insulina se libera basalmente de forma constante y se han implicado un número de mediadores:

a) Glucosa: Un aumento en la concentración plasmática de glucosa, es el regulador más importante de la secreción de insulina⁴⁰.

b) Factores hormonales: Numerosas hormonas afectan la liberación de la insulina. Los agonistas α -adrenérgicos, en especial la adrenalina, inhiben la liberación, aún cuando este proceso sea estimulado por la glucosa. Los agonistas β -adrenérgicos estimulan la liberación



de insulina, probablemente por medio del aumento intracelular de adenosina-5'-monofosfato cíclico (AMPc)⁴⁰.

La exposición crónica a niveles excesivos de hormona de crecimiento, cortisol, lactógeno placentario, estrógenos y progestinas, también aumenta la secreción de insulina⁴⁰.

c) Aminoácidos: La ingestión de proteínas induce un aumento transitorio en los niveles plasmáticos de aminoácidos, lo que a su vez induce la secreción inmediata de insulina. Una concentración plasmática alta de arginina es un estímulo potente para la síntesis y secreción de insulina²⁸.

d) Agentes farmacológicos: Muchos medicamentos estimulan la secreción de insulina, pero los compuestos de sulfonilurea se usan de manera muy frecuente para terapia en el ser humano. Los fármacos como la tolbutamida, estimulan la liberación de insulina mediante un mecanismo diferente al empleado por la glucosa y han alcanzado un amplio uso en el tratamiento de DM2⁴⁰.

2.3.4 MECANISMO DE ACCIÓN

La insulina se une con receptores específicos de alta afinidad en la membrana celular de la mayoría de los tejidos, incluidos el hepático, muscular y adiposo. El receptor para insulina se sintetiza como un solo polipéptido que se glucosila y divide en subunidades α y β , las cuales se ensamblan después en un tetrámero unido por enlaces disulfuro. Un dominio hidrófobo de cada subunidad β cruza la membrana plasmática. La subunidad α extracelular contiene el sitio de unión para la insulina. El dominio citosólico de la subunidad β es una cinasa de tirosina, a la cual activa la insulina²⁸.



La unión de la insulina con las subunidades α del receptor para la insulina induce cambios en la conformación que se trasladan a las subunidades β . Esto fomenta una autofosforilación rápida de un residuo específico de tirosina en cada subunidad β . La autofosforilación inicia una cascada de respuestas de señalización celular que incluyen fosforilación de una familia de proteínas llamadas proteínas sustrato para el receptor de insulina (IRS). Se han identificado por lo menos cuatro IRS que tienen estructuras similares, pero distribuciones distintas en los tejidos corporales. Las acciones de la insulina dependen de la desfosforilación del receptor²⁸.

El transporte de glucosa en algunos tejidos, como el músculo esquelético y el tejido adiposo, aumenta en presencia de insulina. La insulina fomenta el reclutamiento de transportadores de glucosa sensibles a insulina (GLUT-4) de una reserva situada en las vesículas intracelulares. Después de la unión de la insulina, el complejo hormona-receptor se interioriza. Una vez dentro de la célula, la insulina se degrada en los lisosomas. Es posible que los receptores se degraden, pero la mayoría se recicla en la superficie celular. Los niveles elevados de insulina promueven la degradación de los receptores, lo que disminuye el número de receptores superficiales (Figura 8)²⁸.

2.3.5 DEGRADACIÓN

A diferencia de los factores de crecimiento similares a la insulina, esta no tiene una proteína plasmática de transporte; de esta forma, la vida media plasmática es menor de 3 a 5 minutos bajo condiciones normales. Los principales órganos involucrados en el metabolismo de la insulina son el hígado, riñones y placenta; cerca del 50% de la insulina es removida en un solo paso por el hígado⁴⁰.



Existen dos mecanismos que involucran sistemas enzimáticos y son los responsables del metabolismo de la insulina. El primero involucra a una proteasa específica para insulina que se encuentra en diversos tejidos. El segundo involucra a una transhidrogenasa insulina-glutación hepática, esta enzima reduce los enlaces disulfuro y después, las cadenas A y B individuales son degradadas de manera rápida^{27,40}.

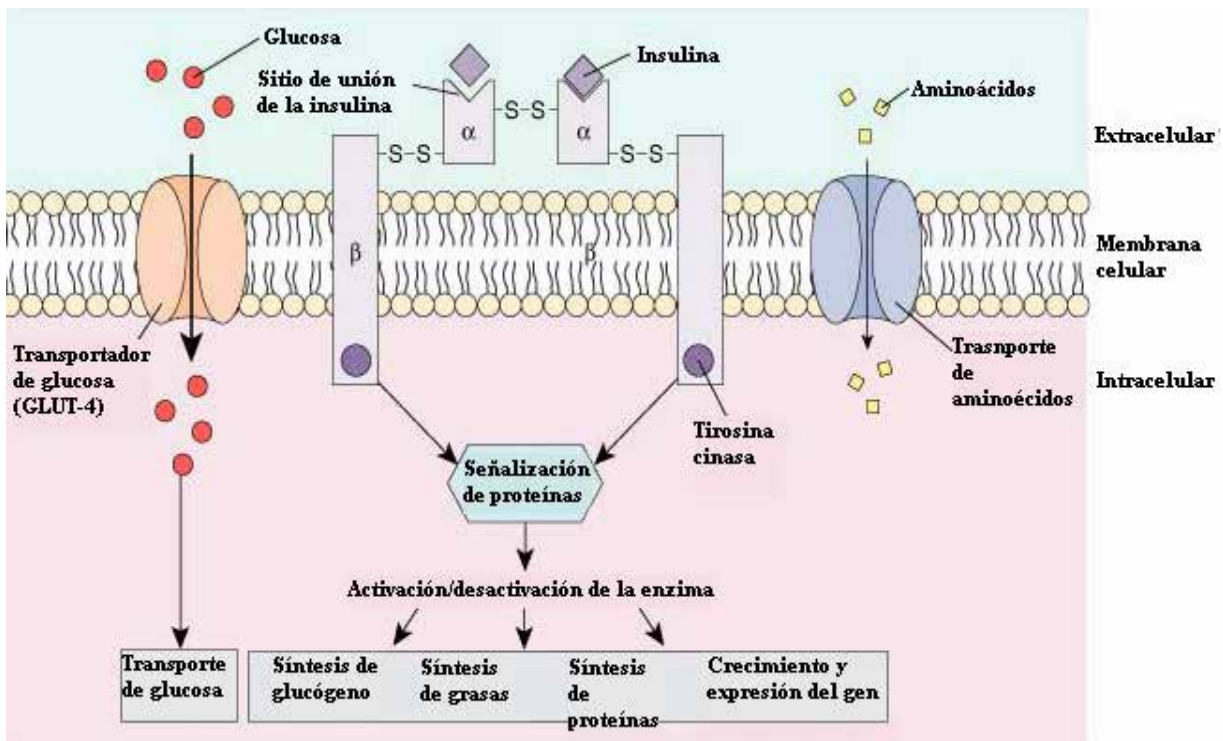


Figura 8. La insulina se une a la subunidad α del receptor a insulina, lo que aumenta el transporte de glucosa y provoca la autofosforilación de la subunidad β del receptor, lo que induce la actividad de la tirosina cinasa. La fosforilación de la tirosina activa una cascada intracelular de señalización de proteínas que regulan el efecto de la insulina sobre el metabolismo de glucosa, grasas y proteínas⁸.



2.4 DIABETES MELLITUS

La alteración de la producción de insulina en el organismo desencadena en algún tipo de DM.

2.4.1 DEFINICIÓN

La DM es una enfermedad degenerativa debida a que el páncreas no produce insulina suficiente o a que el organismo no la puede utilizar eficazmente. La insulina es la hormona que regula el azúcar en la sangre (glucemia). La hiperglucemia (aumento de la glucemia) es un efecto frecuente de la DM no controlada y con el tiempo produce importantes lesiones en muchos sistemas orgánicos y en particular en los nervios y los vasos sanguíneos⁴¹.

2.4.2 EPIDEMIOLOGÍA

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que en el mundo hay más de 180 millones de personas con DM, y es probable que esta cifra aumente a más del doble en el 2030. Se calcula que en el 2005 hubo 1,1 millones de muertes debidas a la DM y aproximadamente un 80% se registran en países de ingresos bajos o medios, casi la mitad de las muertes ocurren en pacientes de menos de 70 años y el 55% en mujeres. La OMS calcula que las muertes por DM aumentarán en más de un 50% en los próximos 10 años si no se toman medidas urgentes. Es más, se prevé que entre 2006 y 2015 las muertes por DM aumenten en más de un 80% en los países de ingresos medios-altos⁴¹.



En menos de 40 años la DM se ha convertido en el principal problema de salud en México. Fue la principal causa de muerte en mujeres y la segunda en hombres durante el año 2000; y es la principal causa de ceguera y fallas en riñones⁵².

En México hay 8 millones de afectados y cada hora mueren 6 mexicanos por DM. Está comprobado que sin un tratamiento adecuado, el 50% de las personas con este mal desarrollará neuropatía diabética, la cual altera diferentes procesos celulares que dañan el tejido nervioso en los miembros superiores e inferiores³². Para el año 2025 se estima que 11,7 millones de mexicanos sean diagnosticados con DM⁵².

La DM2 en particular, ha llegado a ser un serio problema de salud pública que debe ser resuelto⁵⁵. Los gastos de atención y prevención en 2007 serán a nivel mundial entre 215 y 375 billones de dólares, y las personas que no tienen acceso a los servicios de salud tendrán que erogar de sus bolsillos 25% de sus ingresos anuales³².

2.4.2.1 TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA

La mortalidad que produce la DM comenzó a incrementarse durante los años 40 (Figura 9). En aquél tiempo ocurrieron cambios sociales y ambientales cruciales. Una gran proporción de la población se movió de las zonas rurales a las urbanas. En consecuencia, hubo cambios en la dieta y en la cantidad de actividad física⁵².

De 1998 a 2002, la tasa de mortalidad cambió de 43,3 a 53,2 muertes por cada 100,000 habitantes. En contraste, otras causas comunes de muerte no han tenido un cambio significativo en relación a su tasa de mortalidad⁵².

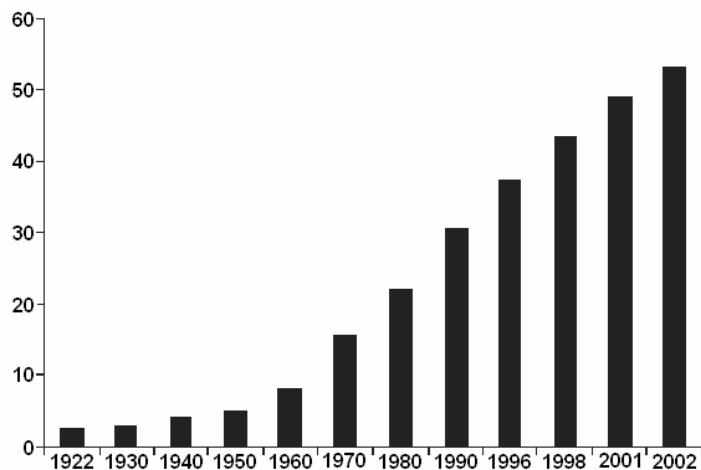


Figura 9. Tasa de mortalidad de la DM en México por cada 100 000 habitantes (1922-2002)⁵².

2.4.3 CLASIFICACIÓN

La DM comprende un grupo de desórdenes heterogéneos los cuales tienen en común un incremento de la concentración de glucosa sanguínea⁵⁰. Es la manifestación de una serie de condiciones en las cuales el balance de la secreción y acción de la insulina (resistencia a la insulina) ha sido alterado. La pérdida de euglicemia es causada por la relativa deficiencia de insulina en presencia de resistencia a la insulina, o por una absoluta deficiencia de insulina. Hay condiciones relacionadas en las cuales existe una alteración de la resistencia a insulina o una disfunción de las células β (Tabla 1). La elucidación de las causas de la resistencia a la insulina, falla de las células β y la atención a los diferentes grados de deficiencia y resistencia a la insulina permite un mejor diagnóstico, tratamiento y prevención de la DM y sus condiciones relacionadas³³.



2.4.3.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1

2.4.3.1.1 DIABETES INMUNO-MEDIADA

Es una enfermedad autoinmune. Esto ocurre cuando el sistema inmunológico desconoce algún órgano y lo ataca. En el caso de la DM1, este sistema se vuelve contra las células β del páncreas y las destruye. Lo anterior ocasiona que el páncreas produzca poca insulina o deje de producirla. Una persona que padece DM1, necesita recibir insulina todos los días para poder vivir. De no ser así, se corre el riesgo de caer en un coma diabético o cetoacidosis¹³.

No existe una explicación específica para determinar por qué el sistema inmune empieza a destruir a las células β , los científicos creen que son varios los factores que intervienen, tales como la genética, el ambiente, el mismo sistema inmunológico o posiblemente algún tipo de virus. Se estima que entre el 5 y 10% de los casos diagnosticados con DM son tipo 1. Este tipo de DM se presenta con mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes, sin embargo, puede desarrollarse a cualquier edad. Sus síntomas suelen aparecer en poco tiempo, aunque la destrucción de las células β puede haber comenzado varios años atrás¹³.

2.4.3.1.2 DIABETES IDIOPÁTICA

La etiología de algunas formas de DM1 es desconocida. Algunos pacientes con este tipo de DM tienen insulinopenia permanente y son propensos a cetoacidosis, pero no se tiene evidencia de autoinmunidad. Los individuos con esta forma de DM sufren de episodios de cetoacidosis y tienen variaciones en la deficiencia de insulina entre los episodios. Este tipo de DM es fuertemente heredado¹.



2.4.3.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2

La mayoría de las personas que tienen DM, tienen el tipo 2. El páncreas de quienes tienen DM2 sigue produciendo insulina, pero el cuerpo no es capaz de utilizarla. A esto se le llama “resistencia a la insulina” y aún se desconocen sus causas. Normalmente la mayoría de las personas que padecen DM2 la adquieren después de los 40 años de edad y más frecuentemente después de los 55 años¹³.

Nueve de cada diez personas con DM tienen DM2. A pesar de ser considerada como una enfermedad de adultos, cada vez es más frecuente su presencia en niños. La DM2 es parte en muchos casos de un síndrome metabólico que incluye presión sanguínea elevada, obesidad y altos niveles de lípidos en la sangre¹³.

2.4.3.3 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

La diabetes mellitus gestacional (DMG) se define como cualquier intolerancia a la glucosa detectada durante el embarazo. Aproximadamente el 7% de las mujeres embarazadas desarrollan DMG, una forma transitoria de la DM, esto es debido a que algunos tejidos placentarios o adiposos maternos secretan hormonas que alteran el metabolismo de la glucosa. En la mayoría de las mujeres este desorden desaparece al parir, pero en los subsecuentes 10 años el 50 a 70% de estas mujeres presentarán DM2^{34,54,24}.

**Tabla 1.** Clasificación de la diabetes mellitus¹⁵.

I. Diabetes mellitus tipo 1
B. Diabetes mediada por procesos autoinmunes
A. Diabetes idiopática
II. Diabetes mellitus tipo 2
III. Diabetes gestacional
IV: Otros tipos específicos de diabetes
A. Defectos genéticos de la función de la célula β
B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
C. Enfermedades del páncreas exocrino
D. Endocrinopatías
E. Inducida por químicos o fármacos
F. Infecciones
G. Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes
H: Otros síndromes genéticos asociados a veces con diabetes

2.4.3.4 OTROS TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES

2.4.3.4.1 DEFECTOS GENÉTICOS DE LAS CÉLULAS β

Varias formas de DM son asociadas con defectos monogénicos en la función de las células β . Estas formas de DM se caracterizan por el inicio de hiperglucemia a una edad temprana (generalmente antes de los 25 años). Son referidas como diabetes del inicio de la madurez de los jóvenes (MODY) y se caracterizan por una disminución en la secreción de insulina con un mínimo o sin defectos en la acción de la insulina. Se heredan con un patrón dominante autosomal. Hasta la fecha, se han identificado las anormalidades a seis loci en diferentes cromosomas. La forma más común se asocia a mutaciones en el cromosoma 12 en un factor de transcripción hepático conocido como factor nuclear del hepatocito-1 α (HNF-1 α)¹.

2.4.3.4.2 DEFECTOS GENÉTICOS EN LA ACCIÓN DE LA INSULINA

Hay causas inusuales de DM que resultan de determinadas anormalidades genéticas de la acción de la insulina. Las anormalidades metabólicas asociadas con mutaciones del receptor



de la insulina pueden pasar de una modesta hiperinsulinemia e hiperglucemia a una DM severa. En el pasado, este tipo de síndrome se le llamó resistencia a la insulina tipo A¹.

2.4.3.4.3 ENFERMEDADES DEL PÁNCREAS EXOCRINO

Cualquier proceso que dañe al páncreas puede provocar DM. Procesos adquiridos incluyen: pancreatitis, trauma, infección, pancreatectomía y carcinoma pancreático. Con excepción del cáncer, el daño al páncreas debe ser grave para provocar DM; los adenocarcinomas que envuelven solamente una pequeña porción del páncreas han sido asociados con DM. Esto implica un mecanismo tan simple como la reducción de la masa de las células β . Si el daño es severo, la fibrosis quística y la hemacromatosis también dañarán las células β y disminuirán la secreción de insulina¹.

2.4.3.4.4 ENDOCRINOPATÍAS

Varias hormonas (por ejemplo, la hormona de crecimiento, cortisol, glucagon y epinefrina) antagonizan la acción de la insulina. Excesos en las cantidades de estas hormonas pueden provocar DM. Ocurren en individuos con defectos preexistentes en la acción de la insulina, y la hiperglucemia típicamente se resuelve cuando el exceso de hormona se controla¹.

2.4.3.4.5 DIABETES INDUCIDA POR QUÍMICOS O FÁRMACOS

Muchos fármacos pueden disminuir la secreción de insulina. Estos fármacos pueden no causar DM por ellos mismos, pero pueden provocarla en individuos con resistencia a la insulina. En tales casos, la clasificación no está clara porque la disfunción de las células β o la resistencia a la insulina es desconocida¹.



2.4.3.4.6 INFECCIONES

Ciertos virus han sido asociados con la destrucción de las células β , como por ejemplo el coxsackievirus B, citomegalovirus, adenovirus y paramixovirus (paperas) han sido implicados en ciertos casos de DM¹.

2.4.3.4.7 FORMAS NO COMUNES DE DIABETES MEDIADA POR FENÓMENOS INMUNES

En esta categoría, hay dos condiciones conocidas, y hay otras que son probables de ocurrir. Anticuerpos contra los receptores de insulina pueden causar DM por la unión con estos receptores¹

2.4.3.4.8 OTROS SÍNDROMES GENÉTICOS ASOCIADOS CON DIABETES MELLITUS

Muchos síndromes genéticos son acompañados por un incremento en la incidencia de la DM. Incluyen anormalidades cromosomales como el síndrome de Down, el síndrome de Klinefelter y el síndrome de Turner. El síndrome de Wolfram es un desorden recesivo autosomal caracterizado por DM deficiente de insulina y la ausencia de células β ¹.

2.4.4 ALTERACIONES METABÓLICAS

La DM es un desorden metabólico en el cual se reduce el metabolismo de carbohidratos mientras que el de proteínas y lípidos se incrementa. En diabéticos, la glucosa exógena y endógena no se utiliza efectivamente y ésta se acumula en la sangre (hiperglucemia). Como los niveles de glucosa en sangre se incrementan, la cantidad de glucosa filtrada por el glomérulo excede la capacidad de reabsorción de las células del túbulo proximal, lo que ocasiona la aparición en orina (glucosuria). El catabolismo de proteínas y la



cantidad de nitrógeno excretado se incrementan cuando la insulina en sangre cae a niveles bajos; la estimulación de la gluconeogénesis hepática convierte aminoácidos en glucosa. El catabolismo de lípidos y ácidos grasos es también acelerado en ausencia de insulina, seguido de la formación de cuerpos cetónicos, como ácido acetoacético, ácido β -hidroxibutírico y acetona. Pérdidas renales de glucosa, sustancias nitrogenadas y cuerpos cetónicos promueven una diuresis osmótica que puede resultar en deshidratación, anormalidades en electrolitos y desequilibrios ácido-base. La cetoacidosis diabética es el resultado final de la deficiencia de insulina en DM1 no controlada⁹.

Los diabéticos tipo 2 son menos propensos a desarrollar cuerpos cetónicos o cetoacidosis diabética, pero muchos desarrollan coma hiperosmolar, una condición caracterizada por una hiperglucemia severa y deshidratación⁹.

2.4.5 SÍNTOMAS

Frecuentemente la DM pasa desapercibida debido a que sus síntomas aparentan ser inofensivos. Nuevos estudios indican que la detección prematura de los síntomas de la DM y su tratamiento pueden disminuir las posibilidades de desarrollar las complicaciones de la DM². Los niveles altos de glucosa en la sangre pueden causar diversos problemas incluyendo necesidad frecuente de orinar, sed excesiva, hambre, fatiga, pérdida de peso y visión borrosa; sin embargo, debido a que la DM2 se desarrolla lentamente, algunas personas con niveles altos de glucosa en la sangre son completamente asintomáticos¹².

Los síntomas de la DM1 son:

- Aumento de la sed
- Aumento de la micción



- Pérdida de peso a pesar de un aumento de apetito
- Fatiga
- Náuseas
- Vómito

Los síntomas de la DM2 son:

- Aumento de la sed
- Aumento de la micción
- Aumento del apetito
- Fatiga
- Visión borrosa
- Infecciones que sanan lentamente
- Impotencia en los hombres

2.4.6 DIAGNÓSTICO

Un diagnóstico rápido y sin equivocaciones es esencial para evitar el inicio de las complicaciones en DM1 y DM2. Los signos y síntomas de la DM pueden variar con los individuos y por lo tanto no son confiables para el diagnóstico³⁰.

En 1997 el criterio de diagnóstico para la DM fue modificado por un comité experto de la Asociación Americana de Diabetes (ADA). Para personas de cualquier edad, no embarazadas, un diagnóstico de la DM puede ser hecho cuando se presenta uno de los siguientes puntos³⁵:

- Signos y síntomas clásicos de DM (polidipsia, poliuria, cetonuria y una rápida pérdida de peso) combinada con un nivel de glucosa en plasma \geq a 200 mg/dL.



- La concentración de glucosa sanguínea en una prueba rápida de glucosa (FPG) es \geq a 126 mg/dL.
- En una prueba oral de tolerancia a la glucosa (OGTT) (75 g de glucosa para un adulto o 1.75 g/kg para un niño) la concentración de glucosa en plasma es \geq a 200 mg/dL a las 2 h y $>$ a 200 mg/dL en cualquier tiempo anterior (0.5, 1, 1.5 h)³⁵.

Individuos con valores de la concentración de glucosa entre los normales y los considerados en el diagnóstico de DM en la FPG o en la OGTT se les considera que tienen una disminución de la tolerancia a la glucosa. Estos individuos no dan un diagnóstico a DM por una gran cantidad de implicaciones sociales, psicológicas y económicas³⁵.

Las categorías de los valores para una FPG son:

- Normal: Si la concentración de glucosa es <100 mg/dL.
- Intolerancia a la glucosa: Si la concentración de glucosa es de 100-125 mg/dL.
- Un provisional diagnóstico de DM, el cual debe ser confirmado: Si la concentración de glucosa es >126 mg/dL³⁵.

Las categorías de los valores para una OGTT son:

- Normal: Si la concentración de glucosa es <140 mg/dL, después de 2 h de la carga de glucosa.
- Intolerancia a la glucosa: Si la concentración de glucosa es ≥ 140 mg/dL y <200 mg/dL después de 2 h de la carga de glucosa.
- Un provisional diagnóstico de DM, el cual debe ser confirmado con una segunda prueba: Si la concentración de glucosa es ≥ 200 mg/dL³⁵.

Muchos factores pueden disminuir la tolerancia a la glucosa o incrementar la glucosa en sangre, estos deben ser excluidos antes de confirmar el diagnóstico de DM³⁵.



2.4.7 COMPLICACIONES

Las complicaciones de la DM son comunes y casi triplican el costo anual por el tratamiento de la DM⁶. Los pacientes con DM pueden presentar complicaciones agudas (hipoglucemias por tratamiento con insulina o fármacos hipoglucemiantes, descompensación cetoacidótica) o crónicas asociadas con la hiperglucemia persistente (Tabla 2)⁷.

Tabla 2. Complicaciones de la DM⁷.

Complicaciones agudas
<ul style="list-style-type: none">• Hipoglucemias (asociadas con el tratamiento con insulina o sulfonilureas)• Coma diabético (cetoacidosis, coma hiperosmolar)
Complicaciones crónicas
Microvasculares (afectan arteriolas de pequeño calibre)
<ul style="list-style-type: none">• Retinopatía• Nefropatía
Macrovasculares (afectan grandes vasos y arterias de mediano calibre)
<ul style="list-style-type: none">• Enfermedad cardiovascular• Enfermedad cerebrovascular• Enfermedad vascular periférica
Mixtas
<ul style="list-style-type: none">• Neuropatía• Pie diabético

2.4.7.1 AGUDAS

La complicación más frecuente en individuos diabéticos bajo tratamiento con insulina es la hipoglucemia. Esta complicación se caracteriza por niveles de glucosa sanguínea menores que los normales. La administración de insulina puede disminuir la concentración de glucosa en sangre, situación que demanda recuperar los niveles de glucosa circulante; de lo contrario la función cerebral se ve afectada permanentemente. La falta de alimentos o su ingesta tardía, el consumo de una cantidad insuficiente, el consumo de alcohol sin alimentos o el trabajo físico pueden precipitar la hipoglucemia. Algunos síntomas de hipoglucemia son confusión, cefalea, coordinación deficiente, irritabilidad, temblor, ira, transpiración e incluso muerte. El tratamiento deseable de la hipoglucemia es la administración de 15 g de



carbohidratos para incrementar los niveles de glucosa en sangre, esta elevación suele ocurrir en cerca de 15 min⁵³.

Los individuos con DM1 son vulnerables a la cetoacidosis diabética, cuyas características son la hiperglucemia y la cetonemia secundarias a una deficiencia de insulina o una situación de estrés. La causa más frecuente de cetoacidosis diabética es la educación deficiente del paciente o la falta de cumplimiento de las instrucciones médicas. Los síntomas de la cetoacidosis incluyen náusea y confusión. El tratamiento comprende la administración de electrolitos, líquidos e insulina porque la cetoacidosis que no se trata puede inducir coma o muerte⁵³.

Los adultos con DM2 tienden a experimentar un estado de hiperglucemia no cetósica que se caracteriza por valores plasmáticos de glucosa mayores a 750 mg/dL sin cetonemia importante. El estado hiperglucémico no cetósico puede precipitarse por ingesta excesiva de azúcares, deshidratación, exposición al calor, enfermedad concomitante o tratamiento farmacológico. Es posible que ocurran anomalías de la función renal, hiperosmolaridad, falta de cetosis y problemas del sistema nervioso central (SNC). Los síntomas de esta alteración comprenden deshidratación, hipotensión, disminución de la capacidad mental, confusión, convulsiones y coma. La terapéutica para el estado hiperglucémico no cetósico incluye el tratamiento con insulina y el reemplazo de electrolitos y líquidos⁵³.

La hipertrigliceridemia grave puede ser una urgencia médica seria. Los triglicéridos séricos exceden 22.6 mmol/L y pueden acompañarse de síntomas neurológicos, lesiones en piel o síntomas abdominales secundarios a pancreatitis. La terapéutica comprende la administración de líquidos por vía intravenosa (i. v.) o una dieta con líquidos claros para disminuir los triglicéridos séricos e insulina para controlar la hiperglucemia⁵³.



2.4.7.2 A CORTO PLAZO

La hiperglucemia sostenida altera el metabolismo de la glucosa en casi todos los tejidos. Las células que no dependen de insulina muestran especial vulnerabilidad porque acumulan alcoholes de azúcares (polioles) y las proteínas se glucosilan. La hiperglucemia ocasiona concentraciones altas de glucosa intracelular, lo que conduce a la formación rápida de polioles que se acumulan con rapidez pero se degradan con lentitud, causando distensión y toxicidad celular. Por ejemplo, la visión borrosa se debe a la distensión del cristalino. La acumulación de polioles puede alterar la función de los nervios periféricos⁵³.

El exceso de glucosa modifica la producción de glucoproteínas, moléculas protéicas que contienen azúcares como cadenas laterales. La hemoglobina, la albúmina sérica y muchas otras proteínas se glucosilan. En la DM la glucosilación se relaciona con la magnitud y la duración de la hiperglucemia. El grado de glucosilación de las hormonas, las lipoproteínas, las membranas plasmáticas celulares y otras proteínas en la DM aún no se determinan. Esto quizá contribuye al engrosamiento de las membranas basales, a la permeabilidad vascular, a los defectos de la microcirculación y a las anomalías funcionales de eritrocitos, leucocitos y plaquetas⁵³.

La hiperglucemia altera la formación ordenada de glucoproteínas en el hígado y otros tejidos, lo que conduce a glomeruloesclerosis diabética. Muchas de las complicaciones a corto plazo pueden evitarse si se mantienen concentraciones satisfactorias de glucosa en plasma y en algunos casos las alteraciones pueden revertirse con un buen control de la glucemia⁵³.



2.4.7.3 A LARGO PLAZO

Factores metabólicos, genéticos y de otra índole afectan las principales complicaciones de la DM: retinopatía, neuropatía y nefropatía diabéticas. Las complicaciones a largo plazo no pueden prevenirse, pero un buen control de la DM atenúa los riesgos⁵³.

2.4.7.3.1 ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es la complicación más común de la DM. Los hombres diabéticos tienen 2 o 3 veces mayor riesgo de enfermedad cardíaca, accidente vascular cerebral y enfermedad vascular periférica, en tanto que las mujeres diabéticas tienen un riesgo 3 a 4 veces mayor que los individuos semejantes sin DM. La disminución del riesgo de enfermedad vascular requiere de un mejoramiento del control de la glucemia, evitar el consumo de tabaco, mantener niveles normales de presión arterial y niveles séricos deseables de proteínas. La hipertensión es el principal factor de riesgo para enfermedad cardíaca coronaria en la DM1. Los individuos con DM, en especial las mujeres, padecen hipertensión con mayor frecuencia que la población en general⁵³.

2.4.7.3.2 RETINOPATÍA

La retinopatía es causada por el deterioro de los vasos sanguíneos que irrigan a los ojos. La retina es una capa de nervios en el fondo del ojo cuya función es percibir la luz y ayudar a enviar las imágenes al cerebro. El daño de los vasos sanguíneos de la retina puede tener como resultado que estos sufran de una fuga de fluido o sangre y que se formen conductos frágiles e irregulares y tejidos fibrosos (Figura 10). Esto puede tornar borrosas o distorsionar las imágenes que la retina envía al cerebro. Los riesgos de desarrollar retinopatía diabética aumentan mientras más tiempo padecen DM los pacientes. En muchos casos el tratamiento no es necesario, pero se requiere de someterse a exámenes de la vista periódicos.



En otros casos, se recomendará un tratamiento para detener el avance de las lesiones ocasionadas y, de ser posible, para mejorar la calidad de la vista²³.

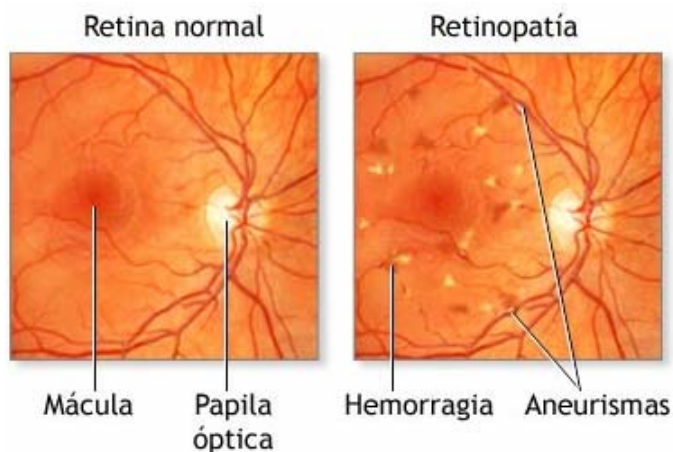


Figura 10. Diferencia entre un ojo sano y uno con retinopatía. El deterioro de los vasos sanguíneos de la retina puede causar la salida de sangre y en etapas más avanzadas de la enfermedad pueden aparecer vasos anormales¹⁷.

2.4.7.3.3 NEUROPATÍA

La neuropatía diabética puede ser consecuencia de una alteración metabólica en las neuronas o de un proceso autoinmune. Esta afecta del 60 al 70% de las personas diabéticas. La nefropatía diabética periférica ocurre en 25% de las personas con DM. Se caracteriza por dolor en las extremidades inferiores que puede ser moderado o severo e implacable, además, disminuye la velocidad de conducción nerviosa. La disminución de la sensación asociada con la nefropatía periférica contribuye a la progresión de lesiones e infecciones en los pies que pueden pasar desapercibidos por el paciente hasta que se vuelvan severas³⁵.

2.4.7.3.4 NEFROPATÍA

El engrosamiento de las membranas de los capilares glomerulares es la característica de la nefropatía diabética. Este proceso impide el flujo sanguíneo y disminuye la superficie de filtración de los glomérulos. La hiperglucemia causa hipertensión intraglomerular e



hiperfiltración renal. Si no se inicia una terapia adecuada, ocurre proteinuria y el paciente usualmente progresa a síndrome nefrótico³⁵.

2.4.8 TRATAMIENTO

Existen 3 pilares fundamentales en el tratamiento de la DM: la dieta, el ejercicio y el uso de fármacos (insulina y agentes hipoglucemiantes orales). Cada uno de estos componentes interacciona con los otros al grado de que no se puede modificar uno sin el conocimiento de los otros dos³⁵.

2.4.8.1 DIETA

La dieta juega un papel crucial en la terapia de todos los individuos con DM. Desafortunadamente, la aceptación y apego a la dieta es poco común. La dieta está diseñada para ayudar a los pacientes a alcanzar las condiciones metabólicas y fisiológicas apropiadas (glucosa, lípidos, presión sanguínea, proteinuria, peso, etc.), selecciona alimentos saludables tomando en cuenta las preferencias personales y culturales. Además, se incorporan diferentes tipos y niveles de actividad física para alcanzar un estatus saludable³⁵.

2.4.8.2 EJERCICIO

El ejercicio es excelente para controlar el peso, incrementar el bienestar físico y psicológico, adquirir mayor capacidad para trabajar, mejorar la composición corporal, etc. Los diabéticos obtienen beneficios adicionales que incluyen mejoría a la tolerancia a la glucosa, elevación de la sensibilidad a la insulina, disminución de los factores de riesgo de aterosclerosis, descenso de la presión arterial y mejoría de la condición cardiovascular. En tanto que el ejercicio tiene beneficios indudables, el ejercicio vigoroso también presenta algunos riesgos, como incremento de la hiperglucemia con control deficiente, hipoglucemia o



cetonemia, o muerte inesperada durante el ejercicio. Por tanto la seguridad durante la ejercitación es de importancia primordial en los diabéticos⁵³.

2.4.8.3 HIPOGLUCEMIANTES ORALES

Aunque la insulina tiene la desventaja de tener que ser inyectada, es sin lugar a dudas el tratamiento más efectivo para la DM. Algunas formas no tan severas de DM que no responden al manejo de la dieta, a la pérdida de peso o al ejercicio pueden ser tratadas con agentes hipoglucemiantes orales. La terapia con agentes hipoglucemiantes orales se basa en la restauración de los niveles de glucosa sanguínea y ausencia de glucosuria. Como estos fármacos no tienen que ser inyectados son mejor aceptados para tratar la DM2⁹.

2.4.8.3.1 BIGUANIDAS

La metformina es un ejemplo de este tipo de fármacos. Las biguanidas reducen la glucemia. Sus mecanismos son complejos y poco conocidos. Aumentan la utilización y captación de glucosa por el músculo esquelético (reduciendo, por tanto, la insulinoresistencia) y disminuyen la síntesis hepática de glucosa (gluconeogénesis). La metformina, además de disminuir la glucemia, también disminuye las lipoproteínas de baja densidad y muy baja densidad. Los efectos adversos más frecuentes son trastornos digestivos dependientes de la dosis (anorexia, diarrea, náuseas). La metformina se utiliza para tratar la DM2, no estimula el apetito y resulta, por tanto, útil en la mayoría de los pacientes que son obesos y no responden al tratamiento exclusivamente dietético. No produce hipoglucemia y puede combinarse con sulfonilureas, glitazonas o insulina⁴⁷.

2.4.8.3.2 SULFONILUREAS

Las sulfonilureas se desarrollaron tras la observación casual de que un derivado de la sulfamida (utilizada contra la fiebre tifoidea) provocaba hipoglucemia. Existen numerosas



sulfonilureas. Las primeras de uso clínico fueron tolbutamida y clorpropamida. Clorpropamida presenta una duración de acción prolongada y se excreta en gran proporción con la orina. Por ello, puede provocar hipoglucemias graves, sobre todo en ancianos en quienes la función renal se ve disminuida. Tolbutamida, sin embargo, sigue siendo útil. Las denominadas sulfonilureas de segunda generación (glibenclamida, glicipida, etc.) son más potentes, pero su efecto hipoglucemiante máximo no es mayor y el fracaso del control de la glucemia es tan frecuente como con tolbutamida. Las sulfonilureas ejercen su acción principal sobre las células β , donde estimulan la secreción de insulina y reducen, por tanto, la glucosa plasmática. Existen receptores de alta afinidad por las sulfonilureas en los canales de K_{ATP} de la membrana plasmática de las células β y la unión a ellos de diversas sulfonilureas estimula con una potencia similar la liberación de insulina. Su duración de acción es variable. Todas se unen intensamente a la albúmina plasmática y presentan interacciones con otros fármacos (salicilatos y sulfamidas). Las sulfonilureas suelen ser bien toleradas. El acontecimiento adverso más frecuente suele ser la hipoglucemia, que puede ser intensa y prolongada. Las sulfonilureas requieren células β funcionales, por lo que son útiles en las fases iniciales de la DM2. Pueden combinarse con metformina o tiazolidinedionas⁴⁷.

2.4.8.3.3 TIAZOLIDINEDIONAS

Las tiazolidinedionas (o glitazonas) se desarrollaron tras observar casualmente que un análogo de clofibrato, ciglitazona, que estaba siendo usada por sus efectos sobre los lípidos, reducía inesperadamente la glucemia. Ciglitazona provocaba toxicidad hepática, al igual que troglitazona, pero las tiazolidinedionas comercializadas en la actualidad (rosiglitazona y pioglitazona) reducen la glucemia sin originar, aparentemente, una hepatotoxicidad



significativa. El efecto de las tiazolidinedionas sobre la glucemia es de comienzo lento y su efecto máximo no se consigue hasta después de 1 a 2 meses de tratamiento. Reducen la síntesis hepática de glucosa y aumentan la captación de glucosa por el músculo, favoreciendo así la eficacia de la insulina endógena y disminuyendo la cantidad de insulina exógena necesaria para mantener un nivel de glucemia adecuado. Las tiazolidinedionas se unen a un receptor nuclear denominado receptor activado por el proliferador de peroxisomas γ (FAR γ), que forma un complejo con el receptor X de retinoides. El FAR γ está presente sobre todo en el tejido adiposo, aunque también aparece en músculo e hígado; incrementa la lipogenia y estimula la captación de ácidos grasos y glucosa. Tanto rosiglitazona como pioglitazona se absorben con rapidez y casi por completo y alcanzan la concentración plasmática máxima en menos de 2 h. La hepatotoxicidad grave de ciglitazona y troglitazona no se observó durante los ensayos clínicos con rosiglitazona o pioglitazona, aunque desde su introducción se han descrito casos de disfunción hepática de citología incierta. Los efectos adversos más importantes de rosiglitazona y pioglitazona son el aumento de peso y la retención de líquidos⁴⁷.

2.4.8.3.4 MEGLITINIDAS

Recientemente, se han desarrollado varios fármacos que carecen de grupo sulfonilurea, pero estimulan la secreción de insulina. Entre ellos figuran repaglinida y nateglinida. Actúan al igual que las sulfonilureas, bloqueando el receptor de sulfonilureas de los canales de K_{ATP} de la membrana de las células β pancreáticas. Nateglinida, que deriva estructuralmente de la D-fenilalanina desplaza a la glibenclamida de sus lugares específicos de unión. Es mucho menos potente que la mayoría de las sulfonilureas, con excepción de la tolbutamida.



Repaglinida Estos fármacos se administran inmediatamente antes de las comidas para reducir el aumento posprandial de la glucemia en los diabéticos tipo 2 insuficientemente controlados con dieta y ejercicio. Una de las posibles ventajas es que podrían causar un menor aumento de peso que las sulfonilureas convencionales. Más adelante, al progresar la enfermedad, pueden combinarse con otros fármacos orales, como metformina o tiazolidinedionas⁴⁷.

2.4.8.3.5 INHIBIDORES DE LA α -GLUCOSIDASA

Los inhibidores de la α -glucosidasa disminuyen la hiperglucemia posprandial. La α -glucosidasa es un conjunto de enzimas que se encuentran en las células epiteliales intestinales que incluyen glucoamilasas, sucrasas, maltasas y dextranasas. La prolongación de la absorción intestinal de carbohidratos resulta en una leve respuesta insulínica, que mantiene la hiperglucemia posprandial bajo control. Este tipo de fármacos debe ser consumido antes de los alimentos; teóricamente, son más benéficos en pacientes con niveles moderados de DM y no son aprobados para el uso de DM1. La acarbosa es un oligosacárido que tiene una alta afinidad por la α -glucosidasa, con una absorción muy lenta y se le ha relacionado con raros casos de hepatotoxicidad. El miglitol es otro tipo de inhibidor de la α -glucosidasa que parece inhibir a las sucrasas y maltasas en un mayor grado que la acarbosa. Los efectos secundarios más comunes por la administración de este tipo de fármacos son alteraciones gastrointestinales, los cuales pueden ser minimizados al comenzar a tratar al paciente con bajas dosis⁹.

2.4.8.4 INSULINA

La insulina se presenta como una inyección para aplicarse en forma subcutánea (s. c.)³⁸. La insulina se mide en unidades (24 unidades = 1 mg). A la insulina se le llama U100 porque hay 100 unidades de insulina por cada mililitro de solución³⁷.



La insulina que se usa puede ser de vacuno, cerdo, vacuno y cerdo combinado, o humano. La insulina humana se elabora usando técnicas de ingeniería genética a partir de la bacteria *E. coli* (Humulin) o de una levadura (Novolin). El 60% de la insulina que se usa es de origen humano³⁷.

Las diferentes clases de insulina son: regular, semilenta, NPH, lenta, ultralenta y Lispro. Las distintas insulinas tienen diferentes características, que son: el tiempo que tarda desde la inyección hasta que comienza el efecto, el momento de acción máxima y cuánto tiempo dura el efecto (Tabla 3). Muchos factores como el tipo de insulina, el sitio de inyección y ejercicio afectan el tiempo de inicio de acción, acción máxima y duración de efecto de la insulina³⁷.

Tabla 3. Actividad de las distintas insulinas³⁷.

Tipo	Inicio de la acción	Actividad máxima	Duración
Regular	15-30 min	2-3 h	4-6 h
NPH	1-2 h	6-10 h	18-24 h
Lenta	1-2 h	6-10 h	18-24 h
Ultralenta	2-3 h	12-18 h	24-36 h
Lispro	Pocos minutos	30 min	1 h
70/30	15-30 min	2-3 h y 8-12 h	18-24 h

La cantidad de insulina que se requiere depende del régimen alimenticio, del ejercicio físico que se haga y de otro tipo de medicamentos que se tomen, y puede cambiar con el tiempo³⁸.

Las pautas de dosificación más importantes son:

- Dos dosis (una antes del desayuno y otra por la tarde), de una mezcla de insulina intermedia e insulina rápida³⁸.



- Una dosis diaria de insulina de acción prolongada (por la mañana o por la noche, sustituida a veces por una dosis de insulina intermedia al acostarse) y tres inyecciones de insulina rápida al día antes de las principales comidas³⁸.

El principal efecto adverso de la insulina es la hipoglucemia. Es frecuente, y cuando es intensa puede provocar un daño cerebral. El tratamiento de la hipoglucemia consiste en ingerir una bebida azucarada o algún alimento, o si el paciente se encuentra en estado inconsciente, en la administración de glucosa por vía i. v. o glucagon por vía intramuscular (i. m.)⁴⁷.

2.5 MODELOS ANIMALES DE DIABETES

2.5.1 MODELOS ANIMALES DE HIPERGLUCEMIA

Uno de las principales vías de estudio de los efectos de la hiperglucemia en animales es remover el páncreas, parcial o totalmente. La especie de animal utilizada es determinada por varios factores; en general, se prefieren animales pequeños, y que sean manejables para el experimento. Por lo tanto, ratas y ratones pancreatectomizados son los más comúnmente usados. Sin embargo, una crítica del uso de roedores es que no pueden reflejar la situación humana y ocasionalmente se busca utilizar animales de mayor tamaño como gatos, perros, cerdos y primates⁴⁸.

También, existen métodos no quirúrgicos para inducir hiperglucemia por daño al páncreas. Estos incluyen la administración de toxinas como la estreptozotocina (Stz) y la aloxana. El daño pancreático ya sea de manera quirúrgica o utilizando toxinas son herramientas valiosas para estudiar las complicaciones desarrolladas por la DM⁴⁸.

2.5.1.1 DIABETES MELLITUS ESPONTÁNEA

La DM entre los animales es relativamente común. El primer caso fue descrito en 1851 en un primate. Esta enfermedad se presenta en una gran variedad de especies, entre las que se



encuentran: perros, gatos, caballos, cerdos, ovejas y en algunas especies silvestres como el conejo, el hurón, los monos y las tortugas. En la mayoría de los roedores la DM es de origen genético y se acompaña de obesidad, a excepción de la enfermedad que se presenta en el hámster chino, en el que no se observa esta condición. En algunas especies, el responsable de la ocurrencia del síndrome puede ser un gen autosómico dominante o recesivo, aunque la interacción de varios componentes hereditarios parece ser indispensable para que la hiperglucemia se presente en ciertos grupos de animales. En general, los síndromes hiperglucémicos en roedores pueden ser subdivididos en 3 grupos. En el primero, la obesidad es la característica predominante y la hiperglucemia severa no se presenta. En el segundo, la obesidad y la hiperglucemia se encuentran frecuentemente asociadas, sin embargo, no se observa deficiencia de insulina, a pesar de la pérdida de peso y la cetoacidosis. El tercer grupo comprende a los animales en los que la DM se presenta con una evidente deficiencia de insulina, aunque no padecen cetoacidosis⁴⁶.

Algunos virus producen daño pancreático y, como consecuencia, síndromes diabéticos en los animales. Estos incluyen al coxsackie B, enfermedad de pie y boca, encefalitis equina venezolana y todos los picornavirus. El síndrome inducido por estos virus es moderado y transitorio, debido a que sólo una porción de los islotes de Langerhans está afectada⁴⁶.

Los datos de mamíferos superiores son escasos, sólo perros, gatos y algunos primates han sido estudiados a detalle. De esta manera, los roedores de laboratorio, por la gran cantidad han proporcionado una mayor cantidad de información. No obstante, la mayoría de los síndromes de DM espontánea observados en los animales se caracteriza por hiperglucemia y por lo menos hiperinsulinemia transitoria⁴⁶.



2.5.1.2 DIABETES MELLITUS INDUCIDA

La inducción de la DM se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. En 1889, von Mering y Minkowski produjeron DM experimental en perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas. El uso de agentes químicos para producir DM permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético. Existen varios tipos de agentes químicos. Los primeros son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia primaria de insulina. El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células β pero no las destruyen. Un tercer grupo incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan al páncreas y como consecuencia se produce DM. Este último grupo incluye a las hormonas antagonistas de la insulina, anticuerpos anti-insulina y algunos agentes quelantes, en particular del zinc. Los agentes más utilizados son la aloxana y la Stz⁴⁶.

2.6 ESTREPTOZOTOCINA

2.6.1 HISTORIA

La Stz fue originalmente identificada en los años 50 como un antibiótico. Este fármaco se descubrió en una bacteria del suelo (*Streptomyces achromogenes*) por científicos de la compañía farmacéutica Upjohn (ahora parte de Pfizer) en Kalamazoo, Michigan. La muestra de suelo que tenía la bacteria fue tomada de Los Rápidos Azules, Kansas, por lo que se puede considerar éste como el lugar de nacimiento de la Stz. A mediados de los años 60, se encontró una selectividad tóxica a las células β de los islotes pancreáticos, las células que normalmente regulan los niveles de glucosa sanguínea por la producción de la hormona insulina. Esto



sugirió el uso del fármaco como un modelo animal para DM1 y como un tratamiento médico para los cánceres de las células β . En los años 60 y 70 el Instituto Nacional de Cáncer (NCI) investigó el uso de la Stz en el cáncer. En noviembre de 1976 se aprobó el uso de la Stz como tratamiento para el cáncer de las células de los islotes pancreáticos⁵⁶.

2.6.2 PROPIEDADES

La Stz es una mezcla de estereoisómeros α y β . Se encuentra como cristales, polvo o plaquetas de color amarillo pálido o grisáceo. Es muy soluble en agua, cetonas y alcoholes, poco soluble en disolventes orgánicos polares e insoluble en disolventes orgánicos no polares. El compuesto puro es sensible a la humedad y a la luz. La Stz se descompone a diazometano en soluciones alcalinas a 0°C. Cuando se calienta hasta la descomposición, emite gases tóxicos de óxido de nitrógeno⁴⁹.

2.6.3 FARMACOLOGÍA

La Stz es un antibiótico antitumoral que consiste de un grupo nitroso urea interpuesto entre un grupo metilo y una glucosamina (Figura 11). Se indica en el tratamiento de carcinoma metastático de células del islote del páncreas. La Stz inhibe la síntesis de ADN en células bacterianas y de mamíferos¹⁸.

2.6.4 MECANISMO DE ACCIÓN

La Stz es transportada al interior de la célula por los transportadores de glucosa GLUT-2, siendo estos los únicos transportadores que la reconocen; esto explica la relativa toxicidad a las células β ya que éstas poseen un nivel relativamente alto de GLUT-2⁵⁶. Aunque su mecanismo de acción no está totalmente claro, se sabe que la Stz inhibe la síntesis de ADN, interfiere con las reacciones bioquímicas del nicotinamida-adenín-dinucleótido (NAD⁺) y la



forma reducida del NAD^+ (NADH) e inhibe algunas enzimas que participan en la gluconeogénesis. Su actividad al parecer ocurre como resultado de la formación de iones metilcarbonio, los cuales se alquilan o unen con muchas estructuras moleculares intracelulares, incluyendo ácidos nucleicos. Su actividad citotóxica es probablemente debida al cruzamiento-unión de los filamentos de ADN, resultando en la inhibición de la síntesis de ADN¹⁸.

2.6.5 USOS

La Stz está aprobada por la Administración de Alimentos y Fármacos (FDA) para tratar cáncer metastático de las células de los islotes pancreáticos⁵⁶. Es también efectiva en el tratamiento de tumores carcinoides malignos, también se ha investigado su uso para tratar la DM, aunque ésta tiene una acción tóxica específica sobre las células β pancreáticas. La Stz también ha sido investigada como un potencial agente antibacteriano, pero nunca ha sido comercializada para este propósito⁴⁹.

2.6.6 CARCINOGENICIDAD

Cuando se administra una inyección de Stz por vía intraperitoneal (i. p.) se induce un incremento en la incidencia de tumores en riñones y pulmones en ratones de ambos sexos, en ratones hembra se producen tumores uterinos, se incrementa la incidencia de tumores en riñones y en células de los islotes pancreáticos en ratas de ambos sexos, tumores en hígado en ratas hembra y sarcomas peritoneales en ratas macho, se inducen colangiomas y hepatomas en hámsters. Cuando se administra una inyección intravenosa, la Stz induce adenomas en riñones, adenocarcinomas y sarcomas en ratas de ambos sexos, induce hepatomas en hámsters⁴⁹.



No se han reportado estudios adecuados de la relación entre la exposición a la Stz y el cáncer humano⁴⁹.

2.6.7 PRODUCCIÓN

La Stz se deriva del microorganismo del suelo *Streptomyces achromogenes*, actualmente también se sintetiza⁴⁹.

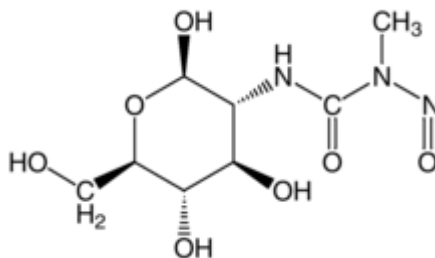


Figura 11. Estructura química de la estreptozotocina (1-metil-1-nitroso-3-[2,4,5-trihidroxi-6-(hidroximetil)oxan-3-il]-urea)⁵⁶.

Como mencionamos a lo largo de este trabajo, existe la posibilidad de recurrir a tratamientos alternativos para “curar” y/o “controlar” la DM, como es el uso del *TiL*.

2.7 TAMARINDO

2.7.1 GENERALIDADES

Nombre científico: *Tamarindus indica* Linn

Familia: Leguminosae

Subfamilia: Caesalpinioideae

Nombres en México: Tamarindo, palxuchuc

2.7.2 HISTORIA

Los Árabes fueron los primeros en tener conocimiento de las propiedades del fruto de esta especie, que fue conocido en Europa como “tamarindo de la India”. Los comerciantes lo introdujeron en Asia. El nombre deriva del árabe “tamare”=dátil e “hindi”=indio, que significa



dátil de la India, siendo este nombre el que le dio origen a su nombre botánico: *Tamarindus indica*. El fruto fue conocido desde la Edad Media en Europa y fue descrito en 1298 por Marco Polo y en 1565 por García de O`rta quien lo describe como un recurso muy valioso³¹.

2.7.3 DESCRIPCIÓN

Es un árbol de tamaño mediano a grande, inerme, perennifolio bajo óptimas condiciones o subcaducifolio, de 10 a 25 m (hasta 30 m) de altura, con un diámetro a la altura del pecho de 1 m o más. La copa es redondeada, grande, extendida y abierta, con una cobertura de 6 a 10 m. El follaje es denso o ralo, plumoso en apariencia y ofrece una sombra atractiva. El tronco es corto, derecho y grueso. Las ramas son ampliamente extendidas, con las ramillas en forma de zigzag. La corteza externa tiene tonalidades que van desde grises hasta pardo oscuro (tostado o café). Las flores se presentan en racimos cortos y laxos, axilares o terminales de 5 a 10 cm de largo por 2.2 cm de diámetro con 8 a 14 flores, son vistosas (los botones son de color rojo o rosa). La vaina del fruto es oblongada o lineal, algo comprimida lateralmente y comúnmente curvada, con una capa externa (epicarpio) pardo delgada, seca y escamosa (se quiebra irregularmente al secarse), una capa mediana (mesocarpio) pulposa combinada con fibras y una capa coriácea interna (endocarpio) septada entre las semillas; mide 1.7 a 15 cm de largo por 2 a 3.5 cm de ancho y 1.5 cm de espesor, contenido 1 a 12 semillas. Los frutos persisten en el árbol por varios meses (Figura 12). Las semillas son ovaladas, comprimidas lateralmente, lisas, de 1 cm de largo y unidas entre sí. Carecen de endospermo como reserva nutritiva, presentan un par de cotiledones gruesos y la radícula es pequeña y recta³¹.



2.7.4 DISTRIBUCIÓN

Tiene una amplia distribución en las zonas tropicales y subtropicales del país^{31,42,51}.

2.7.5 ORIGEN

Originario de la sabanas secas del África tropical, cultivado en América, también en Asia y en otros países tropicales donde con frecuencia se ha asilvestrado. Se ha cultivado y a menudo naturalizado a lo largo de las Antillas y desde México hasta Brasil. Se ha plantado en el sur de Florida, los Cayos, Bermudas, Cuba y Puerto Rico^{31,42,51}.

2.7.6 HÁBITAT

Se encuentra en lugares con clima cálido semiseco, aunque puede prosperar también en climas cálido húmedos. Crece a orillas de caminos y es común alrededor de las casas. Prospera bien en terrenos profundos con buen drenaje, textura de migajón-arcilloarenoso y un pH de 6.5 a 7.5, puede sin embargo, vegetar en suelos ligeramente ácidos, relativamente pobres o crecer en terrenos calcáreos siempre y cuando se le de una buena fertilización y se cuente con agua para riegos en periodos secos^{31,42,51}.

2.7.7 USOS

En sus áreas de distribución natural o artificial, la madera se tiene en gran estima. Se ha descrito la madera del tamarindo como fuente de un carbón excelente⁴². Las semillas pulverizadas y mezcladas con goma arábica resultan un excelente pegamento. Las semillas contienen almidón (63%), proteína (16%) y aceite semisecante (5.5%). De las hojas se ha obtenido un tinte amarillo. Su principal producto es el fruto, cuya pulpa carnosa y ácida es apreciada para preparar agua fresca. En plan industrial se elaboran pastas para concentrados que se utilizan en la preparación de bebidas refrescantes, dulces y helados. La pulpa constituye el 40% de la vaina y es fuente de vitamina C y B. Su acidez obedece a la presencia de ácido



tartárico, acético y ascórbico. La pulpa es una fuente rica de vitaminas e importantes minerales y contiene más calcio que otros frutos. Las hojas jóvenes, las vainas inmaduras y las flores, sirven como verdura en ensaladas sin la necesidad de vinagre ya que son ácidas. Las semillas se utilizan como alimento, tostándolas, remojándolas y cociéndolas para quitarles la cáscara. El fruto tierno hervido se utiliza como condimento para el arroz, pescado y carnes³¹.

Es una sustancia oficial de la Farmacopea de los Estados Unidos y otros países. La pulpa del fruto se utiliza como antipirético, antiescorbútico, para controlar el ácido úrico y colesterol; las ramas jóvenes se utilizan para disentería e infecciones bucales en niños recién nacidos; la corteza (cocida) se utiliza para asma y amenorrea; las hojas y semillas (cocidas) se utilizan como vermífugo y estomáquico; la raíz (cocida) sirve para enfermedades del hígado (desórdenes biliosos), ictericia y hemorragias; la semilla (cocida) se utiliza para mal de orín; las vainas se usan como astringente y aperitivo; la planta sirve como laxante, “**antidiabético**”, diurético, para intoxicación alcohólica, inflamaciones, fiebre y como antiséptico. En Mauritania la pulpa mezclada con sal se usa como linimento para reumatismo³¹.



Figura 12. Fruto del árbol de tamarindo⁴⁴.



3.0 JUSTIFICACIÓN

La DM es una enfermedad crónica caracterizada por una elevada concentración de glucosa en sangre resultado de una insuficiencia de insulina, resistencia a la insulina, o ambas, seguida de anormalidades metabólicas en carbohidratos, lípidos y proteínas. Es un serio problema de salud con una alta incidencia y mortalidad²⁹. De acuerdo con la OMS afecta a más de 176 millones de personas en el mundo, en México la OMS estima que el número de pacientes diabéticos se incrementó a más de 2 millones en 2002 y se incrementará a más de 6 millones en 2030. De acuerdo a los servicios de salud en México, en el 2001 la DM fue la primera causa de mortalidad en la población mexicana³.

El tratamiento de la DM se basa en cuatro factores fundamentales: educación del paciente concerniente a la enfermedad, ejercicio físico, dieta y agentes hipoglucémicos. Aunque, los fármacos empleados se han utilizado extensamente por sus efectos para el control de hiperglicemia, estos agentes no han sido capaces de establecer un control adecuado de la DM, siendo incapaces de suprimir las complicaciones crónicas y agudas asociadas. En adición, se han encontrado efectos adversos específicos para cada uno de estos fármacos, además, de problemas con su administración y dosificación. Esto, en combinación con la falta de recursos económicos convenientes ha forzado a la mayor parte de la población de México a utilizar recursos provenientes de la Medicina tradicional. De acuerdo con la OMS más del 70% de la población mundial utiliza la Medicina tradicional para satisfacer sus principales necesidades de salud²⁹.

En el sistema tradicional de Medicina de la India los remedios herbales eran prescritos para el tratamiento de diversas enfermedades como la DM. En años recientes, ha resurgido el interés en el uso de plantas medicinales para el tratamiento de diferentes enfermedades ya que



generalmente no se reportan efectos tóxicos en las investigaciones realizadas en modelos animales, aunque, en humanos no se ha investigado la existencia de posibles efectos tóxicos³⁶. Un gran número de plantas medicinales utilizadas para tratar la DM han sido reportadas, sin embargo, aunque estas plantas pueden representar alternativas para desarrollar nuevos agentes hipoglucémicos orales, la información etnobotánica acerca de ellas es escasa, oscura y ambigua. Existe información relevante acerca de la utilidad y estudios de plantas “antidiabéticas” mexicanas, sin embargo, el análisis y discusión de los resultados obtenidos es casi siempre confuso, escaso y complicado. No existen publicaciones convenientes que compilen la información etnobotánica y farmacológica que permitan iniciar y continuar con los estudios experimentales y clínicos de las plantas “antidiabéticas” mexicanas²⁹.

Por tal razón, la *TiL* ha sido utilizada en la Medicina tradicional mexicana para el tratamiento de la DM. El propósito de este trabajo es evaluar la toxicidad y la actividad “antidiabética” de un extracto de *TiL* y comparar los resultados con los obtenidos con insulina para conocer su efectividad, esperando que los resultados desemboquen en la obtención de un producto alternativo para el tratamiento de la DM. Además, este trabajo representa una base científica para posteriores estudios de las plantas utilizadas en la medicina tradicional en nuestro país, y en particular de la DM.



4.0 HIPÓTESIS

Se sabe que el EAT de *TiL*, produce una disminución importante en la concentración de glucosa en ratones diabéticos (rd) (Zamora-Hernández Sandra, 2005 y Maiti R., 2004); entonces:

1. La FPEAT de *TiL* presentará una disminución de la concentración de glucosa similar a la producida por el EAT de *TiL*.

Se conoce que la insulina sintética es el prototipo de antidiabético para tratar DM a pesar de producir reacciones adversas severas; entonces esperamos que:

2. La FPEAT como “fármaco alternativo” de origen natural produzca un efecto “antidiabético” y que sea similar al obtenido con la insulina, pero sin producir reacciones adversas severas.

**5.0 OBJETIVOS****5.1 GENERAL**

1. Evaluar y comparar la actividad “antidiabética” de la FPEAT de *TiL* con insulina en ratones.

5.2 PARTICULARES

1. Obtener una curva de la concentración de glucosa en ratones íntegros por 24 horas y determinar el horario en el cual se presenta la menor y la mayor concentración de glucosa.
2. Determinar y cuantificar las concentraciones letales 50 (CL₅₀) y la toxicidad para el EAT y la FPEAT de *TiL* en *Artemia Salina*.
3. Determinar y cuantificar las dosis letales 50 (DL₅₀) y la toxicidad para el EAT y la FPEAT de *TiL* “In vivo”, donde se estudiarán los efectos adversos para la administración de estos extractos.
4. Determinar y cuantificar las curvas de tolerancia a glucosa, insulina y EAT de *TiL* “In vivo”.
5. Determinar y cuantificar la concentración de glucosa en ratones íntegros, controles y diabéticos con la administración de la FPEAT de *TiL*.



6.0 METODOLOGÍA

6.1 MATERIAL

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

- Ratones machos cepa ICR (25 +/- 5 g). Provenientes del centro UNAM-Harlan México, S.A. de C.V. Los animales tuvieron libre acceso al alimento y agua. Con un ciclo diario de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

REACTIVOS

- Cloruro de sodio. Laboratorios Sigma.
- Cloruro de magnesio hexahidratado. Laboratorios Merck.
- Cloruro de calcio dihidratado. Laboratorios Merck.
- Cloruro de potasio. Laboratorios J. T. Baker.
- Sulfato de sodio. Laboratorios Merck.
- Bicarbonato de sodio. Laboratorios Sigma-Aldrich.
- Bromuro de potasio. Laboratorios Merck.
- Citrato de sodio. Laboratorio Mallinckrof.
- Estreptozotocina. Laboratorio Sigma-Aldrich.
- Extractos de *Tamarindus indica* Linn (Extractos obtenidos por la Dra. Martha Albores Velasco. UNAM, Facultad de Química, Edificio B, División de Estudios de Posgrado, Laboratorio 203).
- Insulina humana regular de acción rápida. Laboratorio Elly-Lilly.
- Tiras reactivas para glucosa. Marca: Accu-Check Sensor. Laboratorios Roche.



MATERIAL DE VIDRIO

- Pecera con división
- Frascos viales. Marca: Pyrex
- Pipeta Pasteur. Marca: Pyrex
- Caja Petri. Marca: Pyrex
- Probeta graduada de 500 mL. Marca: Pyrex

MATERIAL DIVERSO

- Lámpara
- Cajas de borosilicato con rejilla de acero inoxidable
- Bebederos con punta de acero inoxidable
- Jeringas de 1 mL
- Sonda intragástrica de acero inoxidable para ratón. Marca: Miltex
- Espátula de acero inoxidable. Marca: Miltex
- Hoja para bisturí. Marca: Miltex

EQUIPO

- Balanza granataria. Marca: Básculas Finas Casa Valle S. A.
- Balanza analítica. Marca: Mettler Toledo AG204.
- Micropipetas: 0.5-10, 20-200 y 100-1000 μ L. Marca: Transferpette.
- Glucómetro. Marca: Accu-Check Sensor. Laboratorios Roche.



6.2 MÉTODOS

Este proyecto se realizó en 5 experimentos diferentes de acuerdo a los objetivos planteados.

EXPERIMENTO 1: Obtención de la curva de concentración de glucosa en ratones íntegros durante 24 h.

Se determinó la concentración de glucosa cada 3 h durante un periodo de 24 h a 6 ratones íntegros. Las muestras de sangre se obtuvieron de la cola de los ratones, para esto se sujetó la cola sobre una caja Petri y con ayuda de una hoja para bisturí se realizó un microcorte en la punta de aproximadamente 1 mm (Fotografía 1) y posteriormente se ejerció una ligera presión a lo largo de la cola para inducir la salida de sangre (en caso de que el animal no sangrara inmediatamente); para obtener las siguientes muestras de sangre se procedió solamente a retirar el coágulo de la cola e inducir la salida de sangre como se realizó en la primera toma de muestra. La concentración de glucosa se determinó utilizando un glucómetro y tiras reactivas (Accu-Check Sensor), para esto se llena el pozo de color amarillo que tiene la tira reactiva con la sangre y se espera de 15 a 30 s para obtener la concentración de glucosa en sangre en mg/dL (Fotografía 2).

EXPERIMENTO 2: Prueba de toxicidad en artemia salina (AS) al EAT y a la FPEAT de *TiL*.

Para realizar esta prueba en primer lugar se obtuvieron las AS. Se prepararon 2 L de medio salino artificial para AS (Composición: cloruro de sodio-24 g/L, cloruro de magnesio hexahidratado-11 g/L, cloruro de calcio dihidratado-1.5 g/L, cloruro de potasio-0.7 g/L, sulfato de sodio-4 g/L, bicarbonato de sodio-0.2 g/L, bromuro de potasio-0.2g/L), se esterilizó y se colocó dentro de una pecera forrada con papel aluminio; la pecera tiene una división para



hacer una zona de luz (la cual permanece iluminada con una lámpara) y una de oscuridad (la cual se encuentra cubierta con papel aluminio), en la zona de oscuridad se colocan huevecillos de AS los cuales se dejan incubar durante 48 h. Se utilizaron concentraciones de 10, 100 y 1000 ppm del EAT de *TiL* para realizar la prueba, con su respectivo control (agua destilada); para cada concentración y el control se realizaron tres determinaciones. Se colocaron 10 AS en cada vial (total 30 AS por determinación) con la respectiva concentración del EAT o agua (en el caso del control) y se dejaron incubar durante 24 h. Posteriormente, se procedió a contar el número de AS vivas y muertas para graficar los resultados y poder determinar la concentración letal 50¹⁰.

Se procedió de la misma manera utilizando la FPEAT de *TiL*.

EXPERIMENTO 3: Curva dosis respuesta cuantitativa al EAT y a la FPEAT de *TiL* “In vivo”.

Se utilizaron las siguientes dosis del EAT de *TiL*: 31.25, 62.5, 125, 250 y 500 mg/kg. Los ratones se pesaron (Fotografía 3), marcaron (Fotografía 4) y organizaron en 6 grupos (5 ratones por grupo/dosis) (Fotografía 5): tratados y control (agua destilada), con administración intragástrica. Se realizaron observaciones de diarrea, sangrado y piloerección y se evaluó la letalidad a las 1, 6, 12, 24, 48 y 72 h.

Se procedió de la misma manera utilizando la FPEAT de *TiL*.

EXPERIMENTO 4: Curva de tolerancia a glucosa, insulina y EAT de *TiL* “In vivo”.

Se utilizaron 6 ratones para realizar cada una de las curvas, se pesaron, marcaron y se les determinó la concentración de glucosa inicial (de la manera indicada en el Experimento 1). Para la curva de tolerancia a la glucosa se administró una dosis de 2000 mg/kg de glucosa por vía i. p. (Fotografía 6); para la curva de tolerancia a la insulina se administró una dosis de 30



UI de insulina por vía s. c.²⁵ (Fotografía 7) y para la curva de tolerancia al EAT de *TiL* se administró una dosis de 80 mg/kg por vía intragástrica (Fotografía 8). Después de la administración se determinó la concentración de glucosa cada 15 minutos durante 90 minutos.

EXPERIMENTO 5: Determinación y cuantificación de la concentración de glucosa en ratones íntegros, controles y diabéticos con la administración de la FPEAT de *TiL*.

1. Se pesaron y marcaron los ratones.
2. Se organizaron los ratones de la siguiente manera (6 ratones por grupo):

Grupo	Tratamiento
1	Íntegro
2	Insulina (0.04 mL por vía s. c.)
3	FPEAT (80 mg/kg por vía intragástrica)
4	FPEAT (2 administraciones)+Insulina [1 administración (7:00 h)]
5	Vehículo (Vh): agua destilada (0.1 mL/10 g por vía intragástrica)

3. Se cuantificó la concentración de glucosa inicial a todos los ratones a las 7:00 h (de la manera indicada en el Experimento 1).

3. Durante 5 días se administró Stz vía i. p. (40 mg/kg) a los ratones de los grupos 2 a 5 para inducir la DM^{57,48}. Diariamente se cuantificó la concentración de glucosa a todos los animales (de la manera indicada en el Experimento 1), el peso corporal, la cantidad de agua y alimento consumido (Fotografía 9); además, se registraron cualitativamente los bolos fecales y la posible presencia de retinopatía.

4. Se administró el tratamiento correspondiente (Fotografía 10) dos veces al día (7:00 y 19:00 h) a cada grupo durante 26 días. Cada tercer día se cuantificó la concentración de glucosa a todos los animales y diariamente se cuantificó el peso corporal, la cantidad de alimento y agua consumidos, se registraron cualitativamente los bolos fecales y la posible presencia de retinopatía.

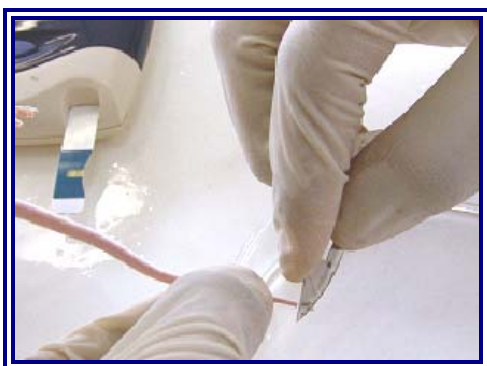


6.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

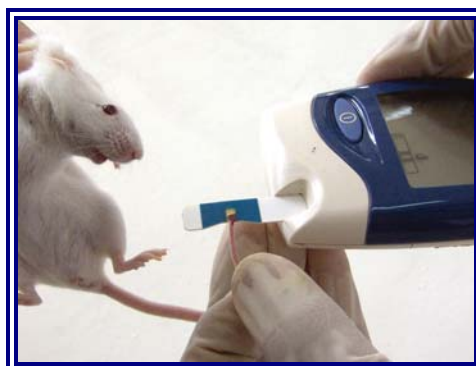
Para analizar los datos se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas:

- t de Student pareada: Para el análisis de los datos de cada grupo.
- t de Student: Para el análisis datos entre los grupos.

Los resultados se presentan como el promedio \pm DS. Los valores promedio se consideraron significativamente diferentes si $P < 0.05^4$.



Fotografía 1. Obtención de la muestra sanguínea de la cola de los ratones.



Fotografía 2. Cuantificación de la concentración de glucosa con el glucómetro.



Fotografía 3. Pesado de los animales.



Fotografía 4. Marcado de los animales.



Fotografía 5. Organización de animales.



Fotografía 6. Administración vía i. p.



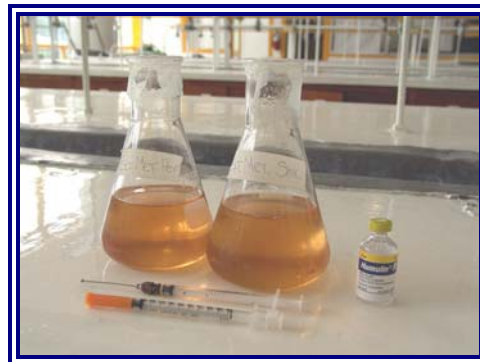
Fotografía 7. Administración vía s. c.



Fotografía 8. Administración vía intragástrica.



Fotografía 9. Control de alimento y agua consumido por los animales.



Fotografía 10. FPEAT de *TiL* e insulina.

**7.0 RESULTADOS**

El trabajo realizado consta de 5 experimentos los cuales se presentan a continuación.

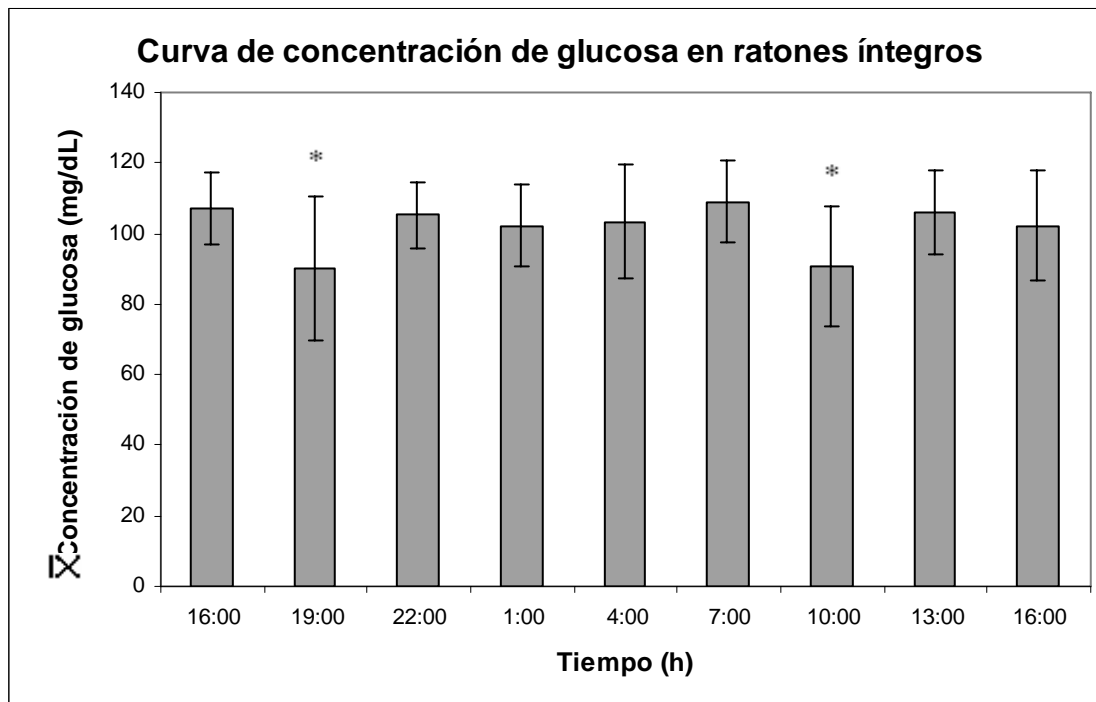
EXPERIMENTO 1: Obtención de la curva de concentración de glucosa en ratones íntegros durante 24h.

Para conocer el efecto hipoglucemiante de la FPEAT de *TiL* se debe conocer previamente la variación de la [glucosa] sanguínea a lo largo del día en ratones íntegros. Además, esta variación (curva) servirá como patrón de referencia y también para determinar los horarios en los que se presenta la mayor y la menor [glucosa] sanguínea en ratones íntegros y poder establecer los horarios de administración de los tratamientos para rd. Se cuantificó la [glucosa] sanguínea a 6 ratones íntegros cada 3 h durante un periodo de 24 h. En la tabla 4, se muestran los resultados obtenidos en la determinación de la [glucosa].

En la gráfica 1, se observa que la [glucosa] oscila durante el día, siendo el valor más alto de 109 mg/dL a las 7:00 h y el más bajo de 90.3 mg/dL a las 19:00 h.

**Tabla 4.** Curva de la [glucosa] en ratones íntegros por 24h.

Concentración de glucosa (mg/dL)								
16:00 h	19:00 h	22:00 h	1:00 h	4:00 h	7:00 h	10:00 h	13:00 h	16:00 h
107.2±10	90.3±20.3	105.2±9.2	102.2±11.5	103.3±16	109±11.7	90.8±17.1	105.8±12	102.2±15.5



Gráfica 1. Se observa una variación de la [glucosa] a lo largo del día en ratones íntegros. Se presenta una disminución significativa a las 10:00 y 19:00 h, siendo el valor más bajo de 90.3 mg/dL a las 19:00 h y el de la mayor [glucosa] de 109 mg/dL que se observa a las 7:00 h. Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).

EXPERIMENTO 2: Prueba de toxicidad en AS al EAT y a la FPEAT de *TiL*.

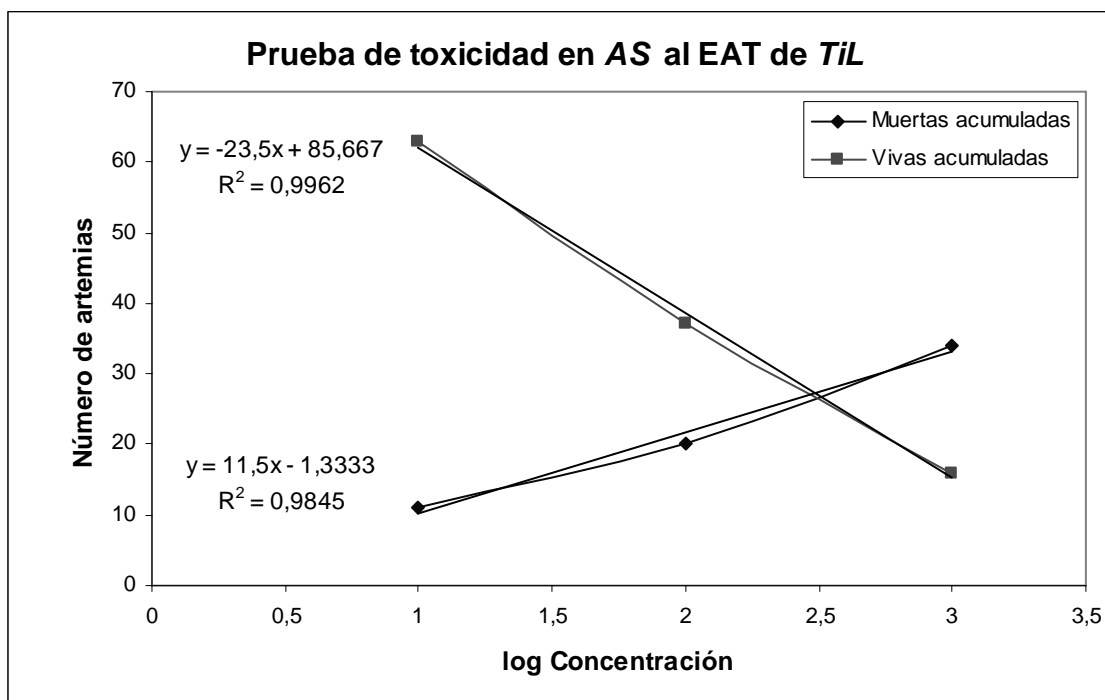
Esta prueba se realizó para determinar la toxicidad (mediante la determinación de la CL_{50}) del EAT y la FPEAT de *TiL*. Dicha prueba consistió en realizar el estudio utilizando AS el cual es un crustáceo empleado para la realización de estudios de toxicidad aguda¹⁰. Los extractos fueron probados a 10, 100 y 1000 ppm para posteriormente realizar un conteo del número de AS vivas y muertas; se grafican las AS vivas acumuladas y las muertas acumuladas. La CL_{50} se determina a partir de la intersección de la gráfica antes mencionada.



En las tablas 5 y 6, se presentan los resultados en la prueba de toxicidad con AS para los extractos de *TiL*.

Tabla 5. Resultados de la prueba con AS para el EAT de *TiL*.

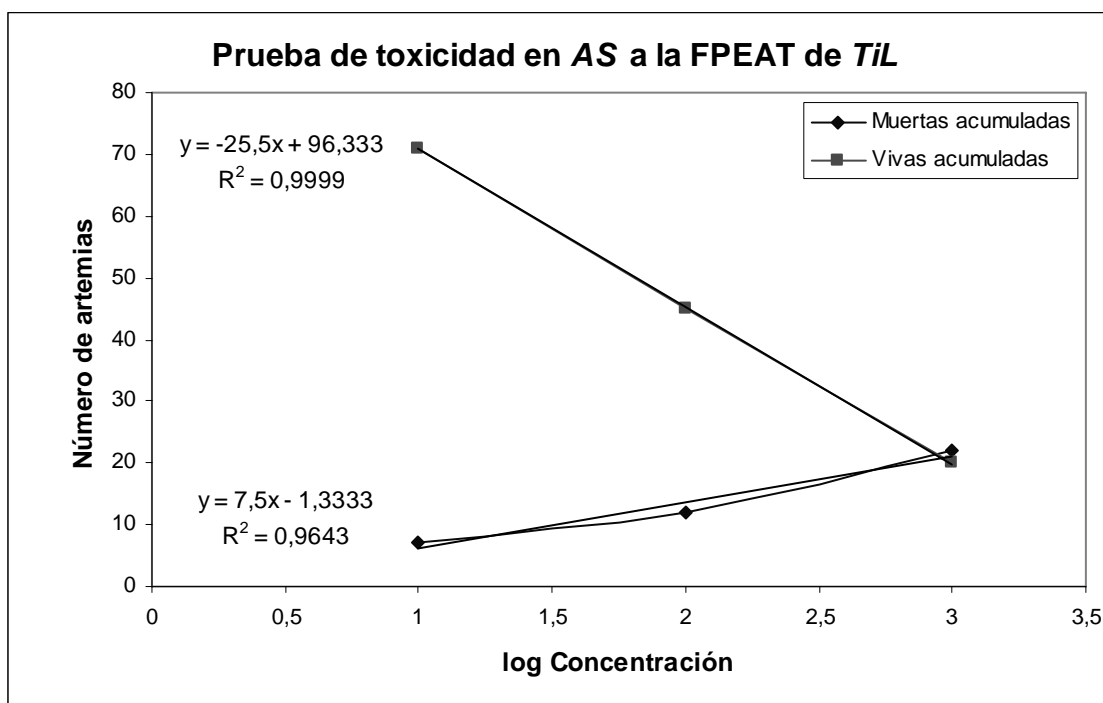
Concentración (ppm)	log Concentración	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas
0 (Control)	---	7	23	---	---
10	1	4	26	11	63
100	2	9	21	20	37
1000	3	14	16	34	16



Gráfica 2. Se observa un decremento del número de AS vivas acumuladas conforme aumenta la concentración del EAT, mientras ocurre lo contrario con las AS muertas acumuladas. La CL_{50} obtenida es de 306.2 ppm para el EAT de *TiL*.

**Tablas 6.** Resultados de la prueba con AS para la FPEAT de *TiL*.

Concentración (ppm)	log Concentración	Artemias muertas	Artemias vivas	Muertas acumuladas	Vivas acumuladas
0 (Control)	---	4	26	---	---
10	1	3	27	7	71
100	2	5	25	12	45
1000	3	10	20	22	20



Gráfica 3. Se observa un decremento del número de AS vivas acumuladas conforme aumenta la concentración del EAT, mientras ocurre lo contrario con las AS muertas acumuladas. La CL_{50} obtenida es de 909.9 ppm para la FPEAT de *TiL*.

EXPERIMENTO 3: Curva dosis respuesta cuantitativa al EAT y a la FPEAT de *TiL* “In vivo”.

Esta curva se realizó para determinar la letalidad, mediante la DL_{50} , de los extractos de *TiL*, además, de evaluar efectos adversos en los ratones tales como diarrea, sangrado y piloerección. Se evaluaron las siguientes dosis: 31.25, 62.5, 125, 250 y 500 mg/kg.

Los resultados fueron satisfactorios ya que ningún ratón murió a las dosis evaluadas para ninguno de los extractos de *TiL* lo que significa que el margen de seguridad es amplio y



pueden utilizarse a estas dosis. No se realizó un análisis estadístico de los resultados ya que todos los ratones sobrevivieron. Además, no se observaron efectos adversos como diarrea, sangrado y piloerección, lo que significa una ventaja más para seguir estudiando la posibilidad de utilizarlos para tratar la DM y sobre todo administrarlos por vía oral.

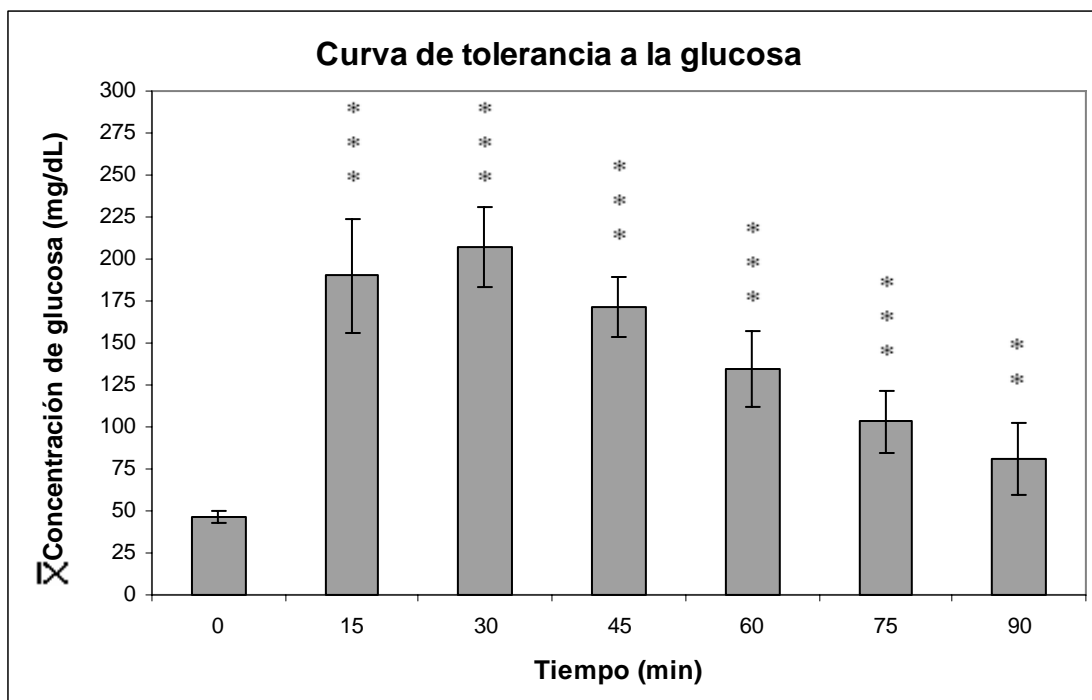
EXPERIMENTO 4: Curva de tolerancia a glucosa, insulina y EAT de *TiL* “In vivo”.

La realización de estas curvas en ratones es muy importante ya que no se encuentran reportadas en la literatura y son necesarias para conocer la manera en que se metaboliza en el tiempo la glucosa, la insulina y el EAT de *TiL*. Después de administrar la carga correspondiente de glucosa, insulina y EAT de *TiL* a los ratones, se cuantificó la [glucosa] cada 15 min durante 90 min.

En las tablas 7, 8 y 9 en se muestran los resultados obtenidos para la determinación de la [glucosa], en las curvas realizadas.

**Tabla 7.** Curva de tolerancia a la glucosa.

Concentración de glucosa (mg/dL)						
0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
46.7±3.6	190.3±34.1	207.3±23.8	171.2±18.1	134.7±22.7	103±18.8	80.7±21.4

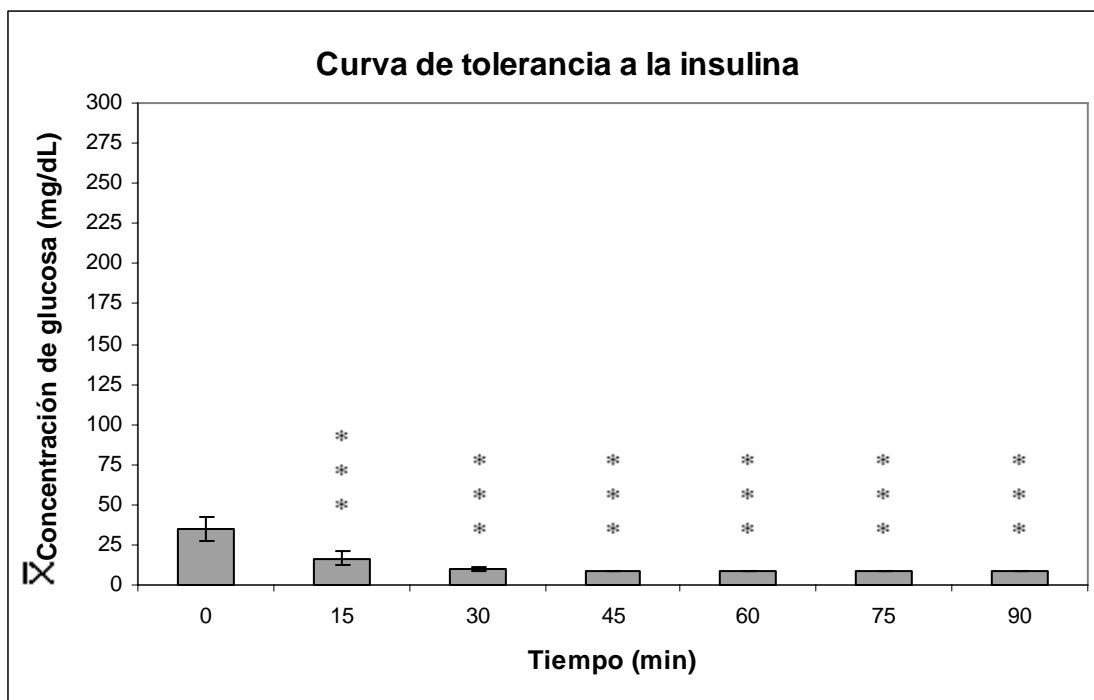


Gráfica 4. Se muestra la curva comparativa de la [glucosa] al inicio y al final. Se observa un aumento significativo de la [glucosa] a partir de los 15 min el cual permanece hasta el final del experimento. Sin embargo, a partir de los 30 min en que se obtiene una [glucosa] máxima de 207.3 mg/dL, ésta comienza a disminuir hasta los 90 min en que se tiene una concentración de 80.7 mg/dL. Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.01$ (**), $P < 0.005$ (***)).



Tabla 8. Curva de tolerancia a la insulina.

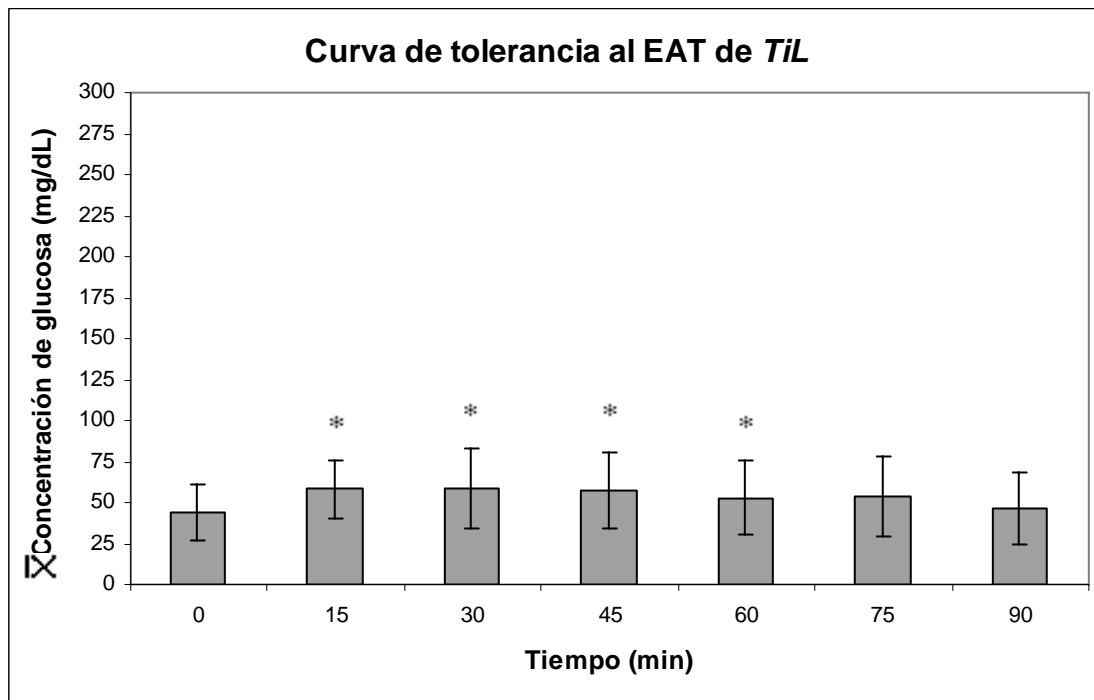
Concentración de glucosa (mg/dL)						
0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
34.8±7	16.5±4.3	9.8±1.2	9	9	9	9



Gráfica 5. Se muestra la curva de la [glucosa] al inicio y al final con la administración de insulina. Se observa una disminución significativa de la [glucosa] a partir de los 15 min (16.5 mg/dL) y hasta el final del experimento. A partir de los 45 min la [glucosa] de los ratones fue menor a 10 mg/dL que es el valor más pequeño que puede ser cuantificado por el glucómetro, esta situación se mantuvo hasta los 90 min. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.005$ (***)

**Tabla 9.** Curva de tolerancia al EAT de *TiL*.

Concentración de glucosa (mg/dL)						
0 min	15 min	30 min	45 min	60 min	75 min	90 min
43.8±16.9	58±18.2	58.5±24.9	57.5±22.8	53±22.6	53.7±23.9	46.5±22.3



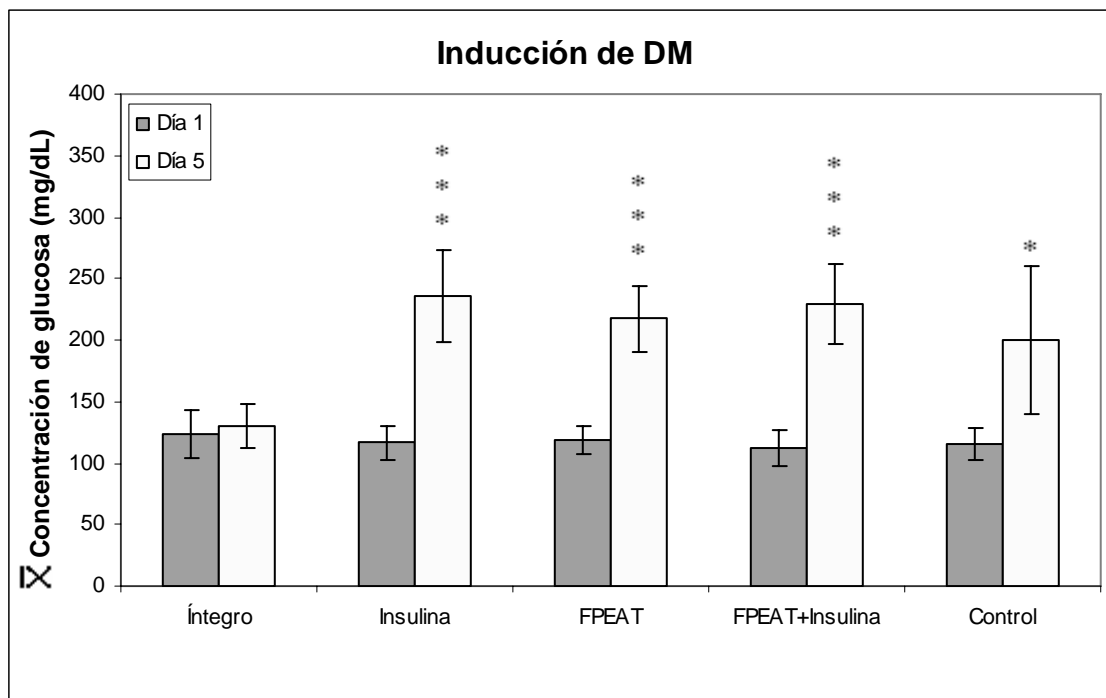
Gráfica 6. Se presenta la variación de la [glucosa] antes y después de administrar el EAT de *TiL*. Se observa un aumento significativo de la [glucosa] a partir de los 15 min y hasta los 60 min, a partir de los 75 min hay una disminución de la [glucosa]. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).

EXPERIMENTO 5: Determinación y cuantificación de la [glucosa] en ratones íntegros, controles y diabéticos con la administración de la FPEAT de *TiL*.

Para poder conocer el efecto “antidiabético” de la FPEAT de *TiL* y comparar este con el de la insulina previamente debe inducirse la DM, para lo cual se administró Stz vía i. p. a los ratones durante 5 días consecutivos (40 mg/kg).

**Tabla 10.** Inducción de la DM.

Concentración de glucosa (mg/dL)					
Grupo	Íntegro	Insulina	FPEAT	FPEAT+Insulina	Control
Día 1	123.5±19.8	116.7±13.9	118.8±11.5	112.2±14.3	115.7±13.4
Día 5	129.7±17.5	235±37.4	217.7±26.6	229±33	199.8±59.7

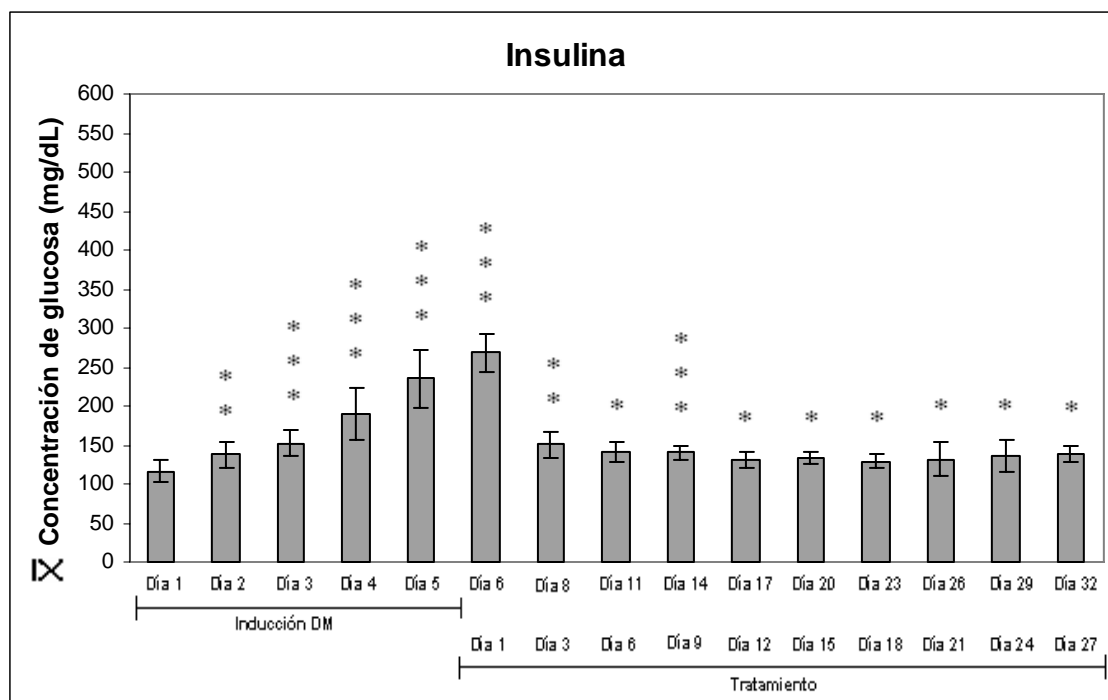


Gráfica 7. Existe un aumento significativo de la [glucosa] al final de la administración de Stz en todos los grupos, excepto en el íntegro en el cual la [glucosa] no varía significativamente. Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.005$ (**).

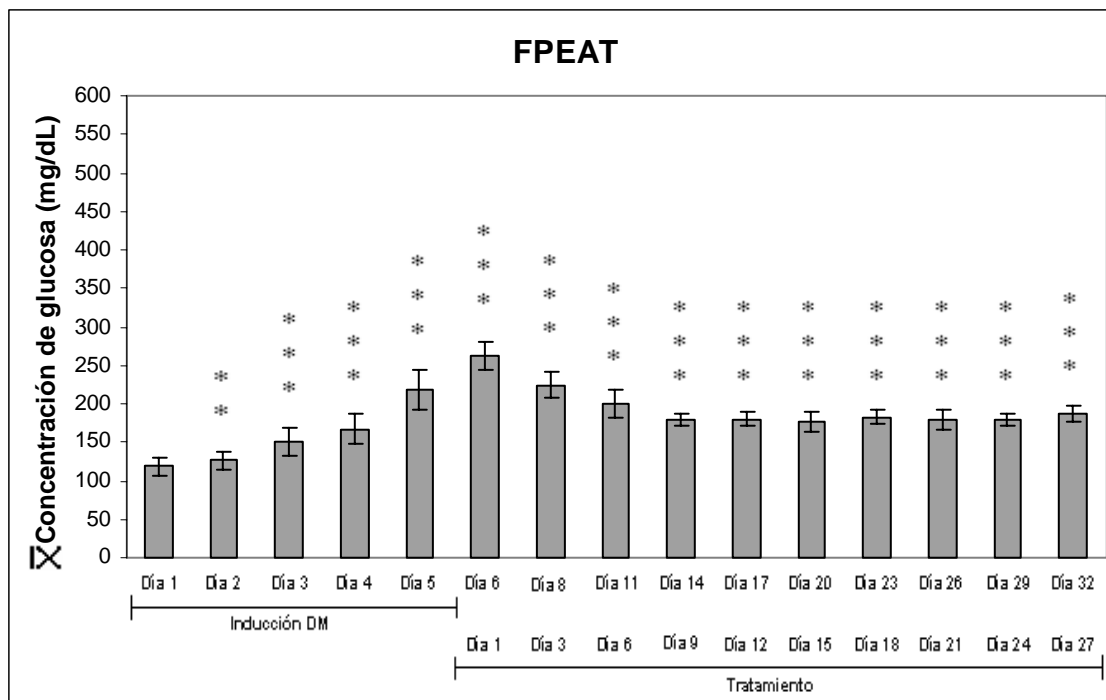
Posteriormente a la inducción de la DM se inició el tratamiento con insulina, FPEAT y la FPEAT+Insulina. El tratamiento se administró 2 veces al día (7:00 y 19:00 h) y tuvo una duración de 26 días. Cada tercer día se cuantificó la [glucosa] y diariamente se cuantificó el peso corporal, la cantidad de alimento y agua consumidos. Los resultados se presentan en las tablas 11, 12, 13 y 14 y en las gráficas 8-17.

**Tabla 11.** Datos de la [glucosa] de los diferentes grupos durante el tratamiento.

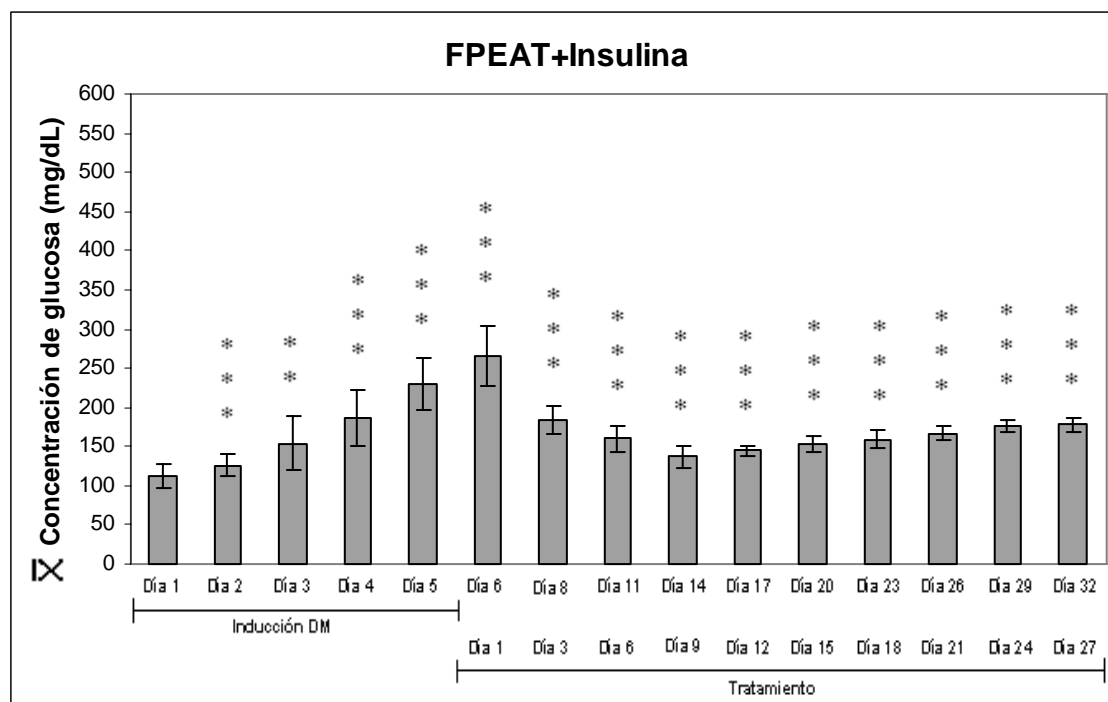
Concentración de glucosa (mg/dL)					
Día	Íntegro	Insulina	FPEAT	FPEAT+Insulina	Vh
1	123.5±19.8	116.7±13.9	118.8±11.5	112.2±14.3	115.7±13.4
2	120.5±18.8	137.3±17.7	126.8±11.3	125.7±13.7	122.3±15.5
3	130.7±21.1	151.8±17	150.5±18.7	154.3±35.2	136±13.4
4	115.3±12.4	189.7±32.8	167.3±20.4	185.3±35.7	172.2±40.3
5	129.7±17.5	235±37.4	217.7±26.6	229±33	199.8±59.7
6	109.7±18.4	268.2±24.2	262.3±17.8	266.2±38	265.2±51
8	105.5±14.2	150.8±16.6	224.5±17.5	183.5±18.3	315.3±48.1
11	109.3±11.4	141.8±12.5	200.5±17.9	160.2±16.5	388.7±73
14	105.3±12.6	140.2±8.7	179±8.1	137±13.7	404.7±68
17	104.3±13.2	130.3±10.2	180.3±9.9	145.2±6.6	415.7±58.8
20	103.8±8.7	133.5±7.2	176.8±12.5	153.8±10	468±54.8
23	98±17.1	129.3±9.8	182.8±9.7	159.5±11	438.2±43.4
26	103.5±13.3	132±22.2	180±12.9	166.2±8.9	490±43
29	111.2±18.6	135.8±21.6	179.2±7.4	176.2±6.7	487.2±45.2
32	110.5±14.4	138.8±11.1	186.3±10.2	178±9.1	492.2±37.4



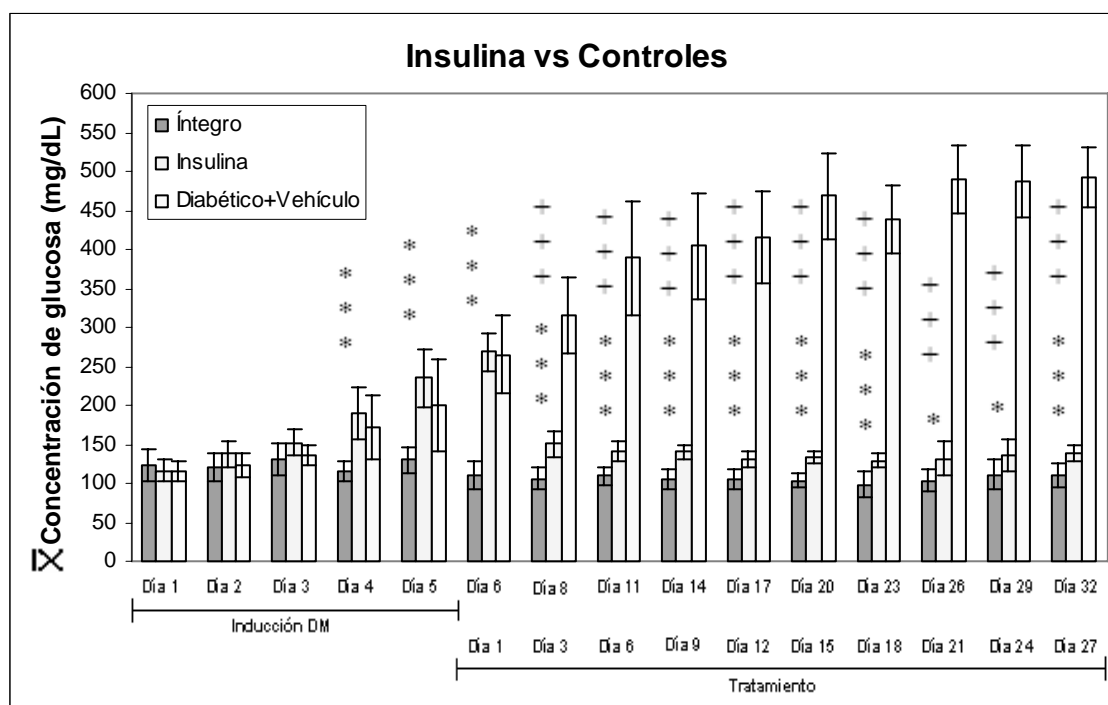
Gráfica 8. Las barras muestran la variación de la [glucosa] al inicio y al final del tratamiento con insulina. Se observa una disminución de la [glucosa] a partir del día 6 en el que se tiene la mayor concentración, en este día también se inicia el tratamiento con insulina. A partir del día 8 se observa una disminución de la [glucosa] la cual permanece casi constante hasta el final del tratamiento, aunque los valores en estos días tienen una diferencia significativa respecto al valor inicial dichos valores se encuentran dentro de los valores normales de [glucosa] en ratones (≤ 200 mg/dL). Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.005$ (***)



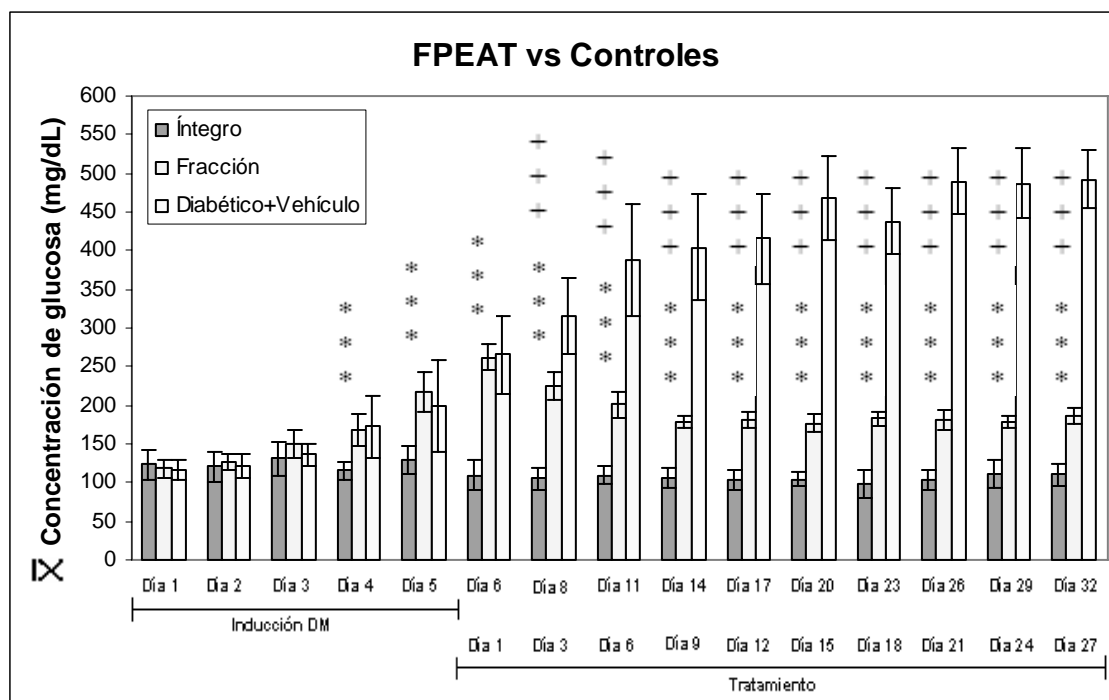
Gráfica 9. Se presentan los datos de la [glucosa] durante el tratamiento con la FPEAT de *TiL*. Se observa una disminución paulatina de la [glucosa] a partir del día 6 en el que se tuvo la mayor [glucosa] y hasta el día 14. Posteriormente, la [glucosa] permanece casi constante hasta el final del tratamiento. A pesar de que los valores de la [glucosa] son mayores significativamente al del inicio del tratamiento, estos se encuentran dentro de los valores de glucosa normales. Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.01$ (**), $P < 0.005$ (***)



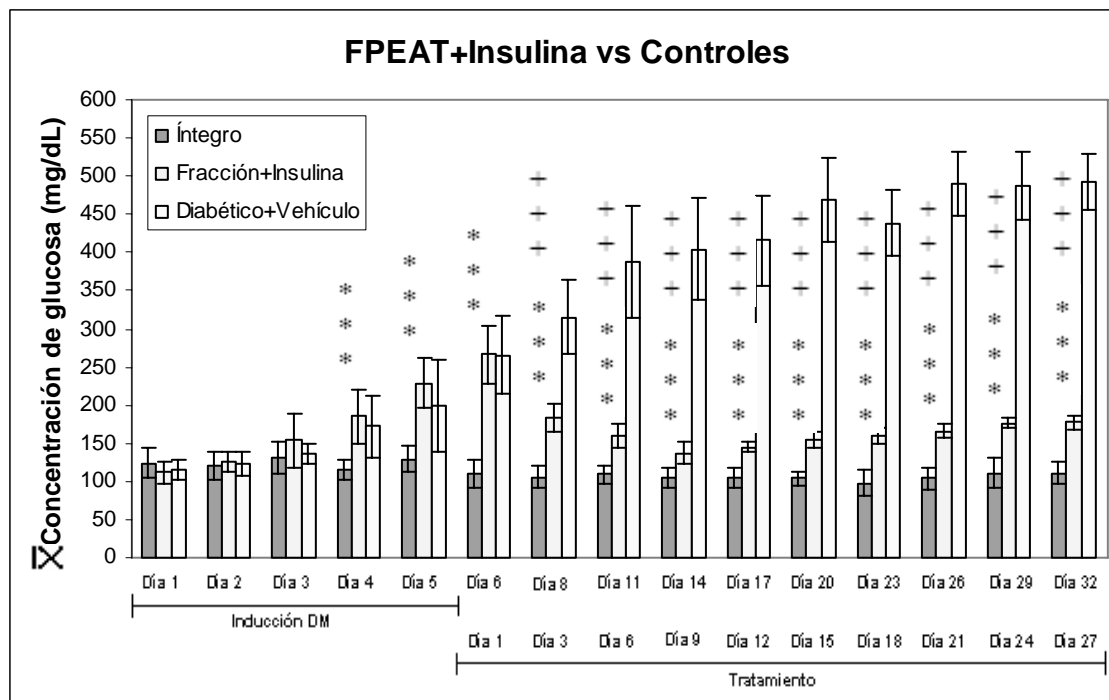
Gráfica 10. Se muestran los datos de la [glucosa] durante el tratamiento con la FPEAT+Insulina. La mayor [glucosa] se presenta en el día 6, mismo día en el que se inicia el tratamiento. A partir de este día inicia un descenso en la [glucosa] hasta el día 14 en el que se observa la menor concentración (137 mg/dL), posteriormente se incrementan ligeramente los valores de la [glucosa] hacia el final del experimento. A pesar de que los valores de la [glucosa] tienen una diferencia significativa respecto al valor del día 1, estos valores se mantienen dentro de los normales. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.01$ (**), $P < 0.005$ (***)).



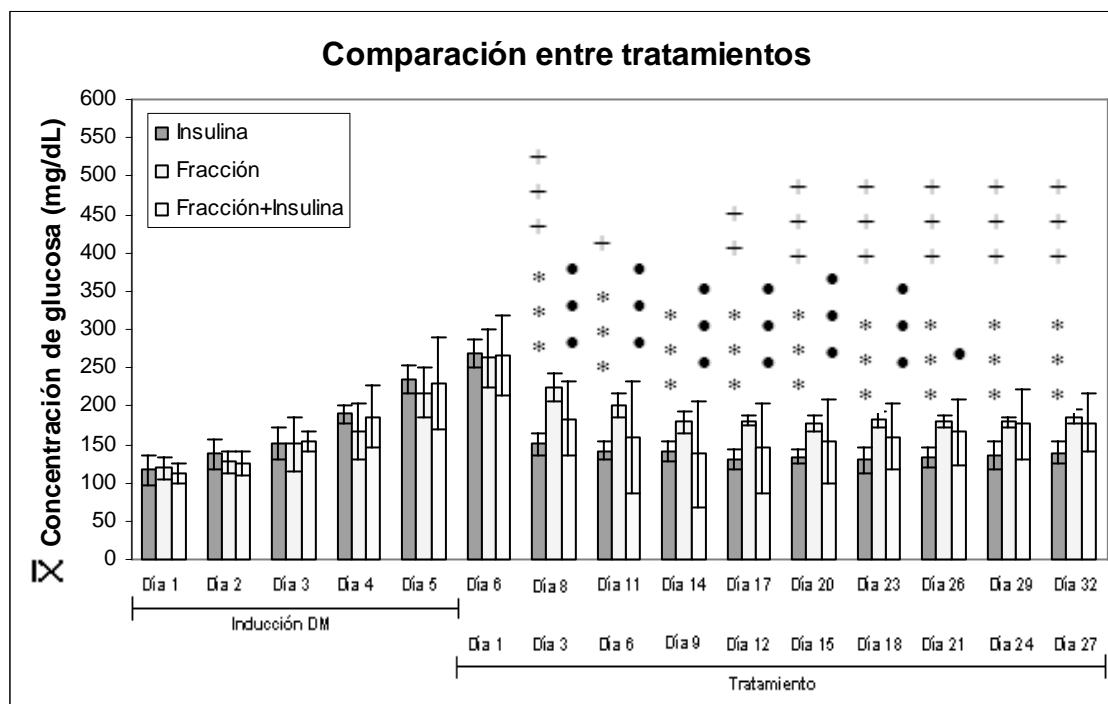
Gráfica 11. Las barras muestran la comparación de los valores de la [glucosa] del grupo tratado con insulina contra el íntegro (*) y contra el Vh (+). A partir del día 4 se observa un aumento significativo de la [glucosa] del grupo tratado con insulina respecto al íntegro, mientras que con el grupo al que se le administró el Vh hay una diferencia significativa a partir del día 8 que es cuando la [glucosa] comienza a disminuir por el tratamiento con insulina. A partir del día 8 la [glucosa] se mantiene casi constante para los rd tratados con insulina y hasta el final del tratamiento. Los resultados se expresan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.005$ (***, +++).



Gráfica 12. Se presentan los resultados de la comparación del grupo tratado con la FPEAT de *TiL* contra el íntegro (*) y el Vh (+). A partir del día 4 se observa una diferencia significativa de la [glucosa] con el grupo íntegro ya que en este periodo se induce la DM. Respecto al grupo al que se le administró el Vh se observa una disminución significativa ya que la administración de la FPEAT de *TiL* baja los niveles de glucosa. A partir del día 14 la [glucosa] permanece casi constante en el grupo tratado con la FPEAT. Los resultados se presentan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.005$ (***, +++).



Gráfica 13. Se muestra la comparación del grupo tratado con la FPEAT+Insulina contra el íntegro (*) y contra el Vh (+). Se observa una diferencia significativa en la [glucosa] de los rd tratados con la FPEAT+Insulina a partir del día 4 respecto a los ratones íntegros. Respecto al grupo al que se le administró el Vh se observa una diferencia significativa a partir del día 8. Los resultados se presentan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.005$ (***, +++).

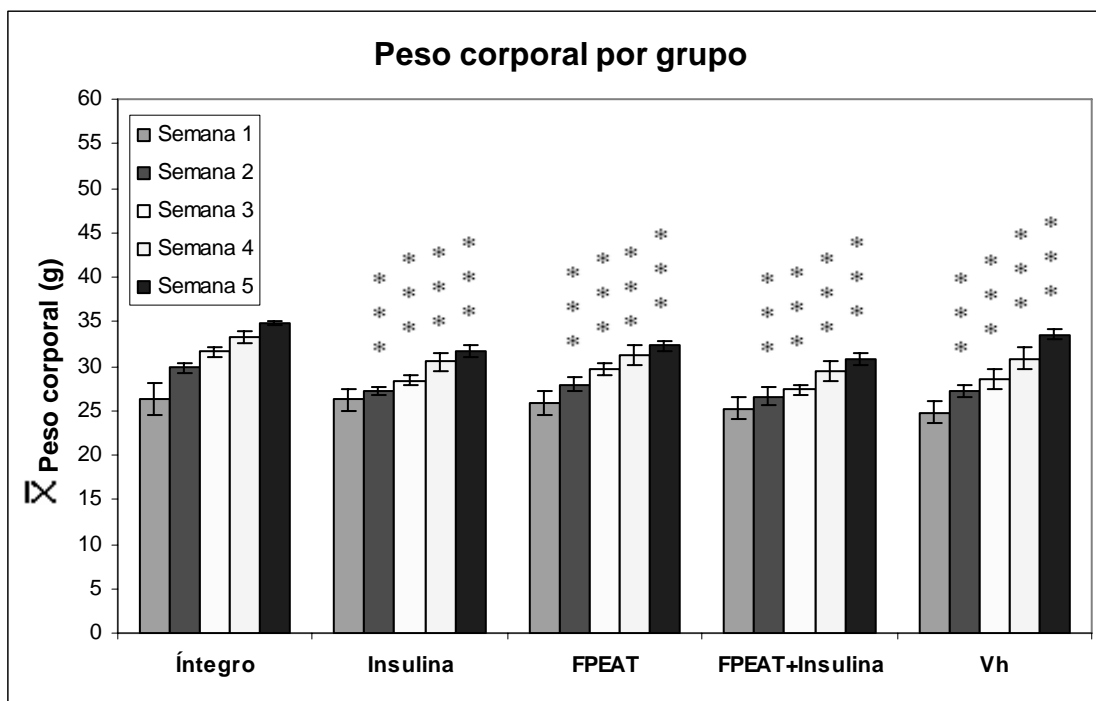


Gráfica 14. Las barras muestran la comparación de la [glucosa] entre los tratamientos. Insulina vs FPEAT (*), Insulina vs FPEAT+Insulina (+), FPEAT vs FPEAT+Insulina (•). Se observa que hay una diferencia significativa entre los tratamientos desde el inicio de los mismos, a partir del día 29 no existe diferencia entre la FPEAT y la FPEAT+Insulina. Los rd tratados con insulina fueron los que tuvieron los menores niveles de glucosa, mientras que los rd que se trataron con la FPEAT tuvieron los mayores niveles de glucosa, sin embargo, estos se mantuvieron casi constantes durante el tratamiento pues los rd tratados con la FPEAT+Insulina presentaron mayor variación. Aunque los valores de [glucosa] obtenidos en los rd tratados con el extracto de *TiL* son mayores que los obtenidos con insulina, se encuentran dentro de los valores normales de [glucosa]. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (+, •), $P < 0.01$ (++) , $P < 0.005$ (***, +++, •••).



Tabla 12. Comparación del peso corporal entre los grupos (controles y tratados).

Peso corporal (g)					
Grupo	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
Íntegro	45.4±3.4	45.6±3.2	57.1±9.2	65.6±4.5	66.2±3.9
Insulina	64±14.2	60.4±2.4	52.3±2.4	49.7±3.8	55.4±7.7
FPEAT	69.6±16.1	57.5±2.8	60.1±6.9	62.3±3.8	60±2.9
FPEAT+Insulina	59.4±9.2	56.4±4.8	50.3±3.3	55.4±4.8	51.4±1.1
Vh	58.2±5.8	125.3±27.3	186.6±16.5	225.4±9	237.2±5.7

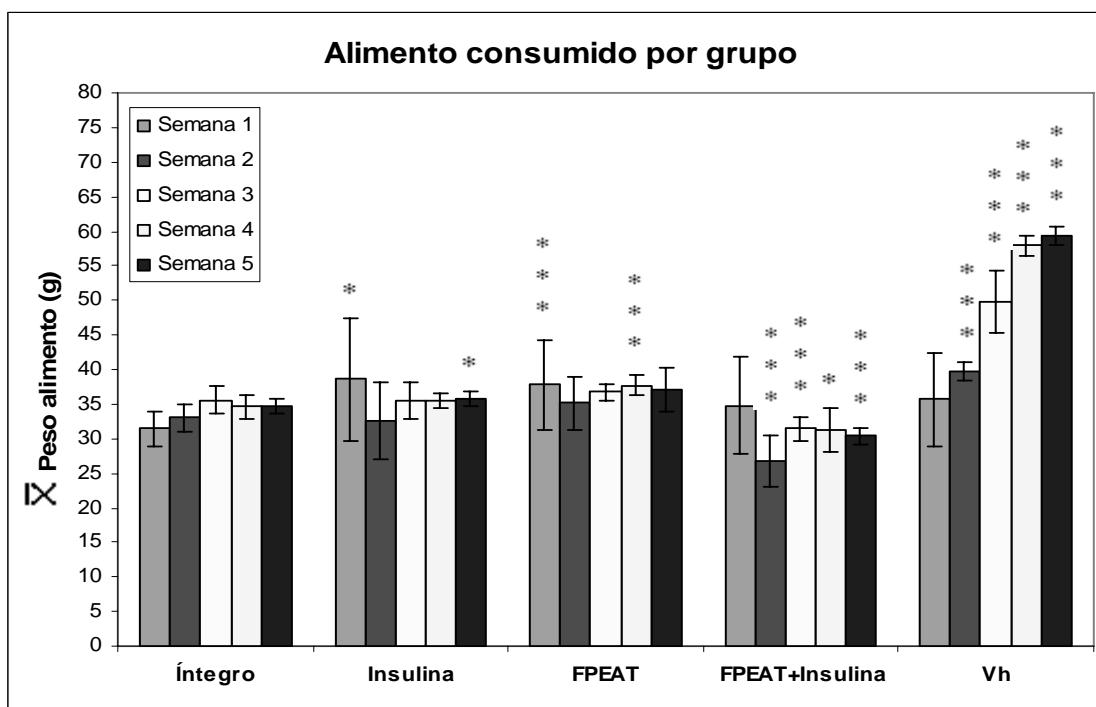


Gráfica 15. Consumo de alimento de todos los grupos, comparados con el grupo íntegro. Las barras muestran que el grupo íntegro tuvo un incremento gradual del peso corporal durante las 5 semanas. Los grupos tratados presentaron un comportamiento similar en el que al igual que en el grupo íntegro se observa un incremento gradual del peso corporal a lo largo de de las 5 semanas, pero estos valores son menores significativamente a partir de la segunda semana para todos los grupos. Los resultados se presentan como el $\bar{x} \pm DS$. $P < 0.005$ (***)



Tabla 13. Comparación del alimento consumido entre los grupos (controles y tratados).

Peso alimento (g)					
Grupo	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
Íntegro	31.4±2.4	33±2	35.6±2	34.6±1.6	34.6±1
Insulina	38.6±8.8	32.5±5.5	35.5±2.5	35.6±1.1	35.8±1.1
FPEAT	37.8±6.4	35.1±3.9	36.8±1.2	37.7±1.5	37.1±3.2
FPEAT+Insulina	34.8±7	26.8±3.8	31.4±1.8	31.2±3.1	30.4±1.2
Vh	35.7±6.7	39.7±1.3	49.8±4.5	57.9±1.5	59.3±1.4

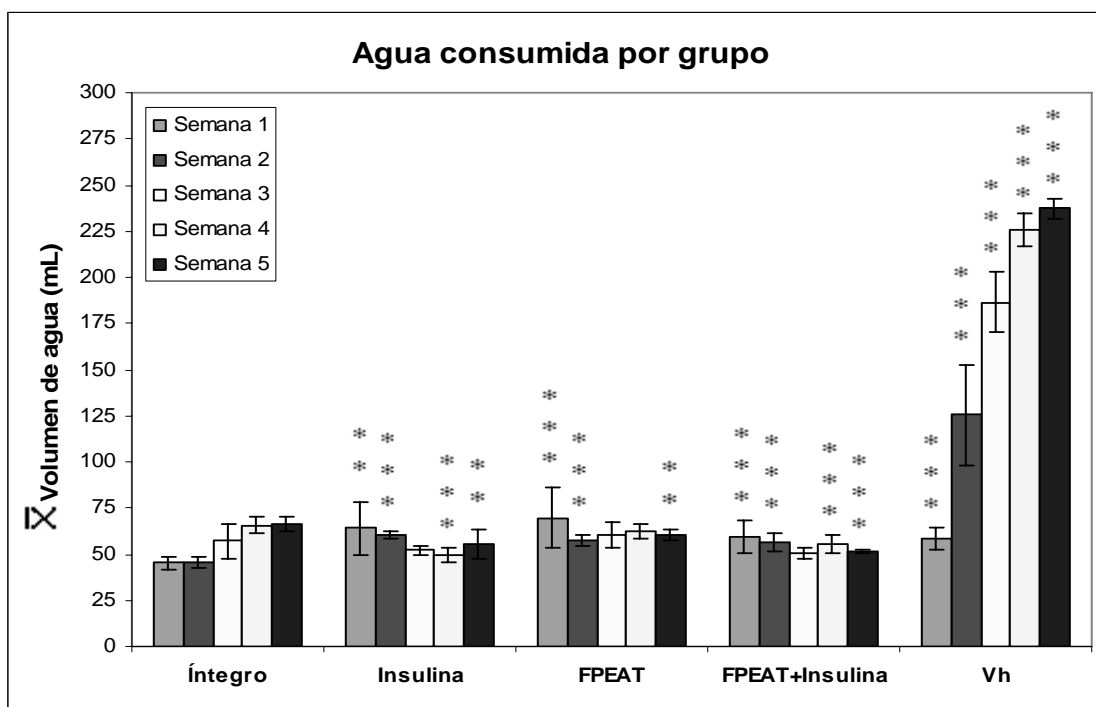


Gráfica 16. Las barras muestran el peso del alimento consumido por los animales de los diferentes grupos, comparados con el íntegro. Se observa que en el grupo íntegro el consumo de alimento se mantiene sin variaciones a lo largo de las 5 semanas. El grupo tratado con la FPEAT+Insulina presentó una disminución significativa a partir de la segunda semana, mientras que en el grupo al que se le administró el Vh se observó exactamente lo contrario. En los grupos tratados con insulina y la FPEAT la cantidad de alimento consumido tuvo una ligera disminución en la segunda semana para posteriormente incrementarse y mantenerse casi constante hasta la última semana. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.005$ (**).



Tabla 14. Comparación del agua consumida entre los grupos (controles y tratados).

Volumen de agua (mL)					
Grupo	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Semana 5
Íntegro	45.4±3.4	45.6±3.2	57.1±9.2	65.6±4.5	66.2±3.9
Insulina	64±14.2	60.4±2.4	52.3±2.4	49.7±3.8	55.4±7.7
FPEAT	69.6±16.1	57.5±2.8	60.1±6.9	62.3±3.8	60±2.9
FPEAT+Insulina	59.4±9.2	56.4±4.8	50.3±3.3	55.4±4.8	51.4±1.1
Vh	58.2±5.8	125.3±27.3	186.6±16.5	225.4±9	237.2±5.7



Gráfica 17. Se muestran los resultados del volumen de agua consumida por los animales de los diferentes grupos, comparados con el íntegro. Se observa que en el grupo íntegro el volumen de agua consumido se incrementa en la tercera semana y permanece hasta la última semana. En los grupos tratados con insulina, la FPEAT y la FPEAT+Insulina se observa que a partir de la segunda semana hay una ligera disminución del agua consumida, siendo los volúmenes de las primeras semanas significativamente mayores y los de las últimas menores en estos grupos al compararlos con el íntegro. En el grupo al que se le administró el Vh se observa un incremento gradual durante las 5 semanas. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.01$ (**), $P < 0.005$ (***)).



8.0 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

EXPERIMENTO 1: Obtención de la curva de concentración de glucosa en ratones íntegros durante 24h.

Esta curva se realizó para conocer la manera en que oscila la [glucosa] sanguínea en ratones íntegros a lo largo del día y tener un patrón de referencia. Se tomaron muestras de sangre a los ratones cada 3 h durante 24 h y se cuantificó la [glucosa] mediante un glucómetro (Accu-Check Sensor) el cual es un dispositivo electrónico para cuantificar la glucosa sanguínea. Durante la realización del experimento se pensó en utilizar un método alternativo para medir la [glucosa], como un método colorimétrico, pero debido a que la cantidad de sangre requerida era elevada, además, de que el tiempo requerido para realizar las pruebas es mayor, se dejó a un lado esta idea y se continuó trabajando con el glucómetro ya que se requiere de un bajo volumen de sangre para realizar las pruebas y el tiempo para determinar la [glucosa] es pequeño (15 a 30 s).

En la gráfica 1, se observa que la [glucosa] sanguínea en ratones íntegros varía a lo largo del día, estos datos concuerdan con los ya reportados (Zamora-Hernández Sandra, 2005). La mayor [glucosa] se presenta a las 7:00 h (109 mg/dL) y la menor a las 19:00 h (90.3 mg/dL).

Con estos datos de la [glucosa] mínima y máxima se establecieron los horarios de tratamiento en el experimento 5. Además, permiten plantear que la [glucosa] sigue un patrón cronofarmacológico lo que permitiría extrapolar los datos a los humanos diabéticos que nos permitan realizar la aplicación de su fármaco a determinada hora del día con la finalidad de obtener su mayor eficacia.



EXPERIMENTO 2: Prueba de toxicidad con AS al EAT y a la FPEAT de *TiL*.

Se probó el EAT y la FPEAT de *TiL* en AS para determinar la CL_{50} y con esto determinar la letalidad y toxicidad de ambos extractos (Déciga-Campos Myrna, 2007). Esta prueba es muy importante ya que nos permitió demostrar que el extracto y su fracción no son tóxicos ni letales a las grandes concentraciones utilizadas y establecer que era conveniente continuar estudiando ambos extractos.

En las gráficas 2 y 3 se determina la CL_{50} utilizando el punto de cruce entre la recta de las AS vivas acumuladas y la recta de las AS muertas acumuladas para el EAT y la FPEAT de *TiL*, respectivamente. La CL_{50} obtenida para el EAT fue de 306.2 ppm y para la FPEAT fue de 909.9 ppm. La CL_{50} para la FPEAT de *TiL* llega casi a las 1000 ppm (909.9 ppm) y es casi 3 veces mayor a la del EAT por lo que puede considerarse a la FPEAT como el extracto que se puede utilizar con mayor seguridad, pues se requiere de una mayor concentración para matar a la mitad de la población en comparación con el EAT el cual requiere de una menor concentración, con lo anterior, podemos decir que la FPEAT es meno tóxica que el EAT de *TiL*.

EXPERIMENTO 3: Curva dosis respuesta cuantitativa al EAT y a la FPEAT de *TiL* “In vivo”.

Con esta curva podemos determinar la toxicidad y letalidad mediante la obtención de la DL_{50} en ratones. Se administraron ambos, extracto y fracción de *TiL* (por separado) en ratones a las siguientes dosis: 31.25, 62.5, 125, 250 y 500 mg/kg. A estas dosis ningún ratón murió por lo que los resultados obtenidos fueron bastante satisfactorios y los extractos de *TiL* indican un amplio margen de seguridad y pueden utilizarse.



A estas dosis, los ratones no presentaron efectos adversos tales como diarrea, sangrado y piloerección (Parrota John, 1990). Es necesario e importante conocer si el extracto provocaba diarrea ya que como se sabe, el tamarindo se utiliza como un laxante de origen natural (Ross Iván, 1999), lo que significaría una desventaja para la administración de estos extractos. El que no hubiese diarrea significa una gran ventaja para continuar estudiando la posibilidad de utilizar estos extractos de *TiL* para tratar la DM y sobre todo administrarlos por vía oral, lo que le significaría una gran aceptación por parte de los pacientes ya que no tendría que administrarse mediante inyecciones como en el caso de la insulina.

EXPERIMENTO 4: Curva de tolerancia a glucosa, insulina y EAT de *TiL* “In vivo”.

La realización de estas curvas como mencionamos anteriormente, tienen una gran importancia ya que no se encuentran reportadas en la literatura, pues en el texto relacionado que se encontró (García-González Mildred, 2002) se presentan los resultados como un dato puntual (se hace una única determinación de la [glucosa], después de un cierto tiempo de haber administrado la carga correspondiente) y no de forma que se permita observar la manera en que son metabolizadas estas sustancias a través del tiempo. Para realizar estas curvas se administró una carga de glucosa, insulina y EAT de *TiL*, respectivamente y se cuantificó la [glucosa] a los ratones cada 15 min durante 90 min.

En la gráfica 4, se observa que inmediatamente después de la administración de la glucosa, la [glucosa] sanguínea tienen un aumento significativo el cual permanece hasta los 90 min. La [glucosa] máxima se observa a los 30 min y posteriormente comienza a disminuir de manera gradual lo que indica que la glucosa es metabolizada para regular los niveles de glucosa sanguínea (Shils Maurice, 2002).



En la gráfica 5, hay una disminución significativa de la [glucosa] a partir de los 15 min y hasta el final del experimento. A partir de los 45 min la [glucosa] fue tan baja que no pudo ser determinada por el glucómetro ya que la mínima [glucosa] que se puede medir es 10 mg/dL. No se observó un incremento de la [glucosa] después de la administración de la insulina lo que significa que requiere de más tiempo para ser metabolizada en comparación con la glucosa (como se observa en la curva de tolerancia a la glucosa).

En la curva de tolerancia al EAT de *TiL* (gráfica 6), se observa un aumento significativo en la [glucosa] de los 15 a los 60 min el cual desaparece posteriormente. Este aumento en la [glucosa] no puede ser atribuido al EAT de *TiL* ya que no es muy grande y además, se conoce que dicho extracto tiene actividad hipoglucemiante (Zamora-Hernández Sandra, 2005). Dicha actividad no se observa en el transcurso de los 90 min debido a que el extracto se administra por vía intragástrica, lo que hace que el extracto tarde más tiempo en ser absorbido en comparación con la glucosa y la insulina que fueron administradas por otras vías de absorción más rápidas (i. p. y s. c., respectivamente).

EXPERIMENTO 5: Determinación y cuantificación de la [glucosa] en ratones íntegros, controles y diabéticos con la administración de la FPEAT de *TiL*.

Para realizar este experimento primero se indujo la DM a los ratones mediante la administración de Stz. En la gráfica 7, se observa un aumento significativo de la [glucosa] sanguínea al final de la administración de la Stz en todos los grupos excepto en el íntegro en el cual la [glucosa] permaneció constante. Los valores de la [glucosa] del día 5 en todos los animales de los grupos a los que se les administró Stz resultaron ser mayores a 200 mg/dL lo que indica que los ratones eran diabéticos (Wright James, 1988).



Después de haber inducido la DM y establecer los horarios de administración, se administraron los tratamientos correspondientes durante 26 días. En la gráfica 8, se observa que se presenta la mayor [glucosa] sanguínea en el día 6, mismo día en el que se inicia el tratamiento con insulina. A partir del día 8 hay una notoria disminución de la [glucosa] la cual permanece casi constante hasta el final del tratamiento, aunque los valores de [glucosa] durante este periodo son significativamente mayores comparados con el del día 1 del experimento se encuentran dentro de los valores normales de [glucosa] sanguínea.

Los resultados de los rd tratados con la FPEAT (gráfica 9) y con la FPEAT+Insulina (gráfica 10) presentaron un comportamiento similar al de los tratados con insulina. En el caso del tratamiento con la FPEAT+Insulina existe una disminución máxima de la [glucosa] el día 14 y a partir del día 17 comienza un ligero aumento en la [glucosa] hasta el final del tratamiento.

Posteriormente, se compararon los diferentes tratamientos con los controles (íntegro y al que se le administró el Vh) para establecer si el tratamiento era efectivo. En la gráfica 11, se comparan los valores de [glucosa] del grupo tratado con insulina y los controles. Existe un aumento significativo de la [glucosa] respecto al grupo íntegro a partir del día 4 y hasta el final del experimento, se observa la [glucosa] máxima el día 6, que es cuando inicia el tratamiento; en el día 8 hay un descenso drástico de la [glucosa] el cual se mantiene hasta el final del tratamiento, estos valores a pesar de ser diferentes significativamente con los del grupo íntegro son cercanos y se mantienen dentro de los valores normales (≤ 200 mg/dL). Respecto al grupo al que se le administró el Vh, en los valores de [glucosa] hay una diferencia significativa a partir del día 8 pues en los rd tratados la [glucosa] disminuye mientras que en los rd no



tratados estos valores se incrementan hasta alcanzar al final del experimento valores cercanos a los 500 mg/dL.

En la gráfica 12, se comparan los resultados del tratamiento con la FPEAT de *TiL* y los controles. Se observa un aumento significativo a partir del día 4 respecto al grupo íntegro, la [glucosa] máxima se presenta el día 6, y a partir del día 8 hasta el 14 hay una disminución paulatina de la [glucosa] la cual se mantiene casi constante a partir del día 14 y hasta el final del tratamiento. Aunque los valores de la [glucosa] durante el tratamiento son mayores que los del grupo íntegro se mantienen dentro de los niveles de glucosa normales. Existe una diferencia significativa con el Vh a partir del día 8 ya que para este día el tratamiento con la fracción comienza a disminuir la [glucosa] mientras que en los rd sin tratamiento la [glucosa] sigue incrementándose al pasar de los días.

En la comparación del tratamiento de la FPEAT+Insulina y los controles (gráfica 13) se observa un comportamiento similar al obtenido con la FPEAT. A partir del día 8 hay una disminución en la [glucosa] respecto al grupo íntegro la cual presenta la mayor disminución el día 14 para posteriormente incrementarse ligeramente hacia el final del tratamiento. Aunque, los valores de la [glucosa] son significativamente mayores durante el tratamiento estos valores se mantienen dentro de los considerados normales. En comparación con el grupo al que se le administró solamente el Vh hay una diferencia significativa a partir del día 8 en el cual el tratamiento comienza a tener efecto mientras que en los rd no tratados la [glucosa] se eleva sin control.

Se compararon los diferentes tratamientos para ver cual había tenido mayor eficacia. Se observa que existe una diferencia significativa entre los tratamiento desde el inicio del mismo; dicha diferencia desaparece en el día 14 entre el grupo tratado con insulina y el grupo



tratado con la FPEAT+Insulina, pero nuevamente se presenta a partir del día 17 pues los valores de la [glucosa] en el grupo tratado con la FPEAT+Insulina comienzan a incrementarse hasta llegar a ser similares a los obtenidos por la FPEAT pues en los días 29 y 32 (al final del tratamiento) no se existe diferencia significativa con ambos tratamientos.

A pesar de que con el tratamiento con la FPEAT+Insulina se llegan a obtener valores de [glucosa] cercanos a los obtenidos con insulina, dicho tratamiento no mantiene la [glucosa] sin variaciones pues después de obtenerse una máxima disminución los valores se incrementaron ligeramente, efecto que no se observó en los rd tratados con la FPEAT de *TiL* en donde los valores se mantuvieron casi constantes, aunque los valores obtenidos son mayores a los obtenidos con insulina. Por lo anterior, el tratamiento con la FPEAT resulta ser el mejor aunque debería evaluarse el uso de una dosis mayor a la utilizada (80 mg/kg) para ver si se obtiene una mayor disminución en la [glucosa] y estos resultados son similares a los obtenidos con la insulina.

En este experimento también se monitorearon el peso corporal, la cantidad de alimento y el volumen de agua consumidos (American Diabetes Association, 2007). En la gráfica 15, se compara el peso corporal por semana de los animales de los diferentes grupos con los del íntegro. Se observa en todos los grupos un aumento gradual en el peso corporal a lo largo de las 5 semanas, pero también existe una diferencia significativa a partir de la segunda semana y hasta la quinta en todos los grupos tratados y el Vh pues los valores son menores con respecto a los del grupo íntegro, lo que indica que en los grupos con rd el incremento fue menor que en los ratones íntegros.

En la gráfica 16, se compara el consumo de alimento a lo largo de las 5 semanas que duró el experimento entre los animales de los diferentes grupos y el íntegro. Se observa que en



el grupo íntegro, el tratado con insulina y con la FPEAT casi no hay variaciones en la cantidad de alimento consumido. En el caso del grupo tratado con la FPEAT+Insulina hay una disminución significativa con respecto al grupo íntegro a partir de la segunda semana y hasta la última, caso contrario se presenta en el grupo al que se le administró solamente el Vh en el que existe un aumento significativo en la cantidad de alimento consumido a partir de la segunda semana del experimento.

La comparación del consumo de agua de los animales de los diferentes grupos con el íntegro se presenta en la gráfica 17. Se observa que en los grupos tratados existe un aumento significativo en las primeras semanas mientras que en las últimas se observa una disminución significativa debido a que hay una disminución en el consumo de agua a lo largo de las semanas del tratamiento, caso contrario al que se observa en el grupo íntegro en el que se incrementó la cantidad de agua consumida al pasar de las semanas. En el caso del grupo administrado con el Vh hay un incremento significativo desde la primera semana del experimento debido a la presencia de polidipsia, pues en este grupo la DM no fue tratada.

Con lo anterior, se expone una ventaja más para utilizar la FPEAT como tratamiento para la DM pues se demuestra que al ser administrado se pueden controlar síntomas de la DM tales como polifagia y polidipsia.



9.0 CONCLUSIONES

1. La mayor [glucosa] sanguínea en ratones íntegros se presentó a las 7:00 h y la menor a las 19:00 h.
2. La CL_{50} en AS para el EAT de *TiL* fue de 306.2 ppm y para la FPEAT fue de 909.9 ppm.
3. No hubo letalidad en ratones con alguno de los extractos de *TiL* a las dosis probadas, esto indica que tienen un amplio margen de seguridad. Además, no se presentaron efectos adversos.
4. La glucosa es metabolizada por los ratones en un periodo de 90 min, mientras que la insulina requiere de un mayor tiempo y el EAT de *TiL* requiere de mucho mayor tiempo pues en los 90 min ni siquiera se observa el efecto hipoglucemiante pues en este tiempo no se ha absorbido todavía.
5. Con la administración de la FPEAT de *TiL* se reduce la hiperglucemia y los valores de la [glucosa] se mantienen casi constantes, además de que se reducen síntomas de la DM como la polifagia y polidipsia.
6. Con los experimentos realizados y los datos obtenidos se plantea continuar investigando:
 - a) Presencia o no de otras fracciones de *TiL*.
 - b) Extrapolar el uso del extracto de *TiL* y/o sus fracciones en humanos, con el desarrollo de un buen protocolo.



BIBLIOGRAFÍA

1. American Diabetes Association, Diagnosis and classification of diabetes mellitus, *Diabetes Care*, 2007; 30(1): pp 542-547.
2. American Diabetes Association, Síntomas de la diabetes.
<http://www.diabetes.org/espanol/todo-sobre-la-diabetes/sintomas.jsp> 29-mayo-2007.
3. Andrade-Cetto A, Heinrich Michael, Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes, *J Ethnopharmacol*, 2005; 99 (3): 325-348.
4. Armitage P, Berry G, *Statistical methods in medical research*, 3ª edición, Ed. Blackwell Scientific Publications, Gran Bretaña, 1994, pp 106-110.
5. Barquera S, Tovar-Guzmán V, Campos-Nonato I, González-Villalpando C, Rivera-Dommarco J, Geography of diabetes mellitus mortality in Mexico: An epidemiologic transition analysis, *Med Res*, 2003; 34(5): 407-414.
6. Bate KL, Jerume G, Preventing complications of diabetes, *Med J Aust*, 2003; 179(9): 498-503.
7. Best y Taylor, Dvorkin MA, Cardinali DP, *Bases Fisiológicas de la Práctica Médica*, 13ª edición, Ed. Panamericana, Madrid, España, 2003, pp 701,704, 724, 728, 729.
8. Connection, Chapter 43: Diabetes mellitus and the metabolic syndrome.
<http://connection.lww.com/Products/porth7e/Ch43.asp> 17-enero-2007
9. Craig CR, Stitzel RE, *Modern pharmacology with clinical applications*, 6a edición, Ed. Lippincott Williams y Wilkins, Estados Unidos, 2004, pp 768, 771, 774, 775.
10. Déciga-Campos M, Rivero-Cruz I, Arriaga-Alba M, Castañeda-Corral M, Ángeles-López GE, Navarrete A, Mata R, Acute toxicity and mutagenic activity of mexican plants used in traditional medicine, *J Ethnopharmacol*, 2007; 110 (2): 334-342.
11. Diabetes, Entendiendo la diabetes, *Diabetes en México*.
<http://www.diabetes.org.mx/diabetes/queComun.asp> 15-enero-2007.
12. Diabetes, Entendiendo la diabetes, Signos de alerta.
<http://www.diabetes.org.mx/diabetes/signos.asp> 29-mayo-2007.
13. Diabetes, Entendiendo la diabetes, Tipos de diabetes.
<http://www.diabetes.org.mx/diabetes/tipos.asp> 15-enero-2007.
14. Diabetes, Entendiendo la diabetes, Tratamiento para la diabetes.
<http://www.diabetes.org.mx/diabetes/tratamientos.asp> 23-enero-2007.



- 15.** Diabetes juvenil, Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus tipo 1, Clasificación de la diabetes mellitus.
http://www.diabetesjuvenil.com/documentos_html/dj_diagnostico_clasificacion_diabetes_mellitus_2.asp 12-febrero-2007

- 16.** Diabetes y más, Breve historia, Breve historia de la diabetes: Desde la antigüedad hasta el descubrimiento de la insulina.
<http://www.diabetesymas.com/BreveHistoria.php> 16-enero-2007.

- 17.** Diseases and conditions, Diabetic Nephropathy.
<http://health.allrefer.com/health/diabetic-nephropathy-sclerosis-pancreas-and-kidneys.html> 17-enero-2007.

- 18.** DrugBank, Streptozotocin.
<http://redpoll.pharmacy.ualberta.ca/drugbank/cgi-bin/getCard.cgi?CARD=APRD00209.txt> 17-mayo-2007.

- 19.** Epidemiología, Secretaría de Salud, 49(22), Semana 49, México, 2005, pág 2.

- 20.** Federación Mexicana de Diabetes, Diabetes, Diabetes en números.
<http://www.fmdiabetes.com/www/diabetes/dnumeros.asp> 23-enero-2007.

- 21.** Federación Mexicana de Diabetes, Diabetes, Historia de la diabetes mellitus y descubrimiento de la insulina.
<http://www.fmdiabetes.com/www/diabetes/historias.asp?Id=20030314113402> 16-enero-2007.

- 22.** Federación Mexicana de Diabetes, Diabetes, La era de la insulina.
<http://www.fmdiabetes.com/www/diabetes/historias.asp?Id=20030314113631> 16-enero-2007.

- 23.** Federación Mexicana de Diabetes, Diabetes, Retinopatía diabética.
<http://www.fmdiabetes.com/v2/paginas/diabetes.php?sec=complicaciones&key=1181129257390> 19-junio-2006.

- 24.** Friedlander AH, Chaudhuri G, MD, Altman L, A past medical history of gestational diabetes: Its medical significance and its dental implications, Oral surgery, oral medicine, oral pathology oral radiology and endodontology, 2007; 103(2): 157-163.

- 25.** García-González M, Coto-Morales T, González-Camacho S, Pazos L, Toxicidad subcrónica del extracto acuoso de las hojas y los brotes florales de *Stachytarpheta jamaicensis* (L.) Vahl. (Verbenaceae), Rev Cubana Plant Med, 2002; 7 (2): 100-103.

- 26.** Goodman y Gilman's, Brunton LL, Lazo JS, Darker KL, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11ª edición, Estados Unidos, 2006, pp 1613, 1614.

- 27.** Guyton AC, Hall JE, Tratado de Fisiología Médica, 10ª edición, Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México, 2001, pp 1063, 1064, 1075.



28. Harvey RA, Champe PC, Ferrier DR, Bioquímica, 3ª edición, Ed. Mc Graw-Hill, México, 2005, pp 350, 352-354.
29. Hernández-Galicia E, Aguilar-Contreras A, Aguilar-Santa María L, Román-Ramos R, Chávez-Miranda AA, García-Vega LM, Flores-Saenz JL, Alarcón-Aguilar FJ, Studies on hypoglycemic activity of mexican medicinal plants, Proc. West. Pharmacol. Soc., 2002; 45: 118-124.
30. Hill J, How to diagnose diabetes, Nurse Time, 2005; 101(16): 28-30.
31. Hipernatural, Tamarindo, *Tamarindus indica*.
<http://www.hipernatural.com/fr/plttamarindo.htm> 18-enero-2007.
32. Huesca, P., Cada hora mueren seis mexicanos por diabetes, La Crónica de hoy, 14 de noviembre de 2006.
33. Ize-Ludlow D, Sperling MA, The classification of diabetes mellitus: a conceptual framework, *Pediatr Clin North Am*, 2005; 52(6): 1533-1552.
34. Forsbach-Sánchez G, Tamez-Peréz HE, Vazquez-Lara J, Diabetes and pregnancy, *Med Res*, 2005; 36(3): 291-299.
35. Koda-Kimble MA, Young LY, Kradjan WA, Guglielmo BJ, Alldredge BK, Curelli RL, Applied therapeutics. The clinical use of drugs, 8ª edición, Ed. Lippincott Williams y Wilkins, Estados Unidos, 2005, pp 50-7, 50-73, 50-76, 50-78.
36. Maiti R, Jana D, Das UK, Ghosh D, Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of *Tamarindus indica* in streptozotocin-induced diabetic rats, *J Ethnopharmacol*, 2004; 92 (1): 85-91.
37. Manual interactivo del paciente, Insulina.
http://www.iqb.es/d_mellitus/paciente/manual1/cap08.htm 25-agosto-2006.
38. Medline Plus, Enciclopedia médica en español, Insulina.
<http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/druginfo/medmaster/a682611-es.html> 24-agosto-2006.
39. Medline Plus, Enciclopedia médica en español. Islotes de Langerhans.
http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/17151.htm 02-febrero-2007.
40. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Ruduell VW, Bioquímica de Harper, 15ª edición, Ed. El Manual Moderno, México, 2001, pp 698-702.
41. Organización Mundial de la Salud, Diabetes.
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html> 18-enero-2007.



42. Parrotta JA, *Tamarindus indica* L. Tamrind, SO-ITF-SM30, Department of Agricultura, Forest Service, Southern Forest Experiment Station, Nueva Orleans, 1990, pp 519-523.
43. Plantas medicinales y diabetes, Plantas antidiabéticas con principios activos sin caracterizar.
http://www.iqb.es/d_mellitus/medicinas/plantas05.htm 23-enero-2007.
44. Portal IPTEK, Asam Jawa, *Tamarindus indica* Linn.
www.iptek.net.id/ind/pd_tanobat/view.php?id=132 18-enero-2007.
45. Programa de actualización médica continua, Mecanismos fisiopatológicos de la diabetes mellitus tipo 2.
http://www.medilegis.com/bancoconocimiento/T/Tribuna101n6diabetes_p10-18/diabetes.htm 02-febrero-2007
46. Ramos HG, Méndez JD, Diabetes mellitus experimental, *Ciencia Veterinaria*, 1994; 6: 347-377.
47. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK, *Farmacología*, 5ª edición, Ed. Elsevier, Madrid, España, 2004, pp 380, 385, 386, 388-391.
48. Rees DA, Alcolado JC, Animal models of diabetes mellitus, *Diabet Med*, 2005; 22: 359-370.
49. Report on carcinogens. 11ª edición. Streptozotcin. CAS No. 18883-66-4.
<http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/eleventh/profiles/s163stre.pdf> 23-mayo-2007.
50. Roden M, Diabetes mellitus-definition, classification and diagnosis, *Acta Med Austriaca*, 2004; 31(5): 156-157.
51. Ross IA, *Medicinal plants of the world: Chemical constituents, traditional and modern uses*, 1ª edición, Ed. Humana Press, New Jersey, Estados Unidos, 1999, pp 291, 292.
52. Rull JA, Aguilar-Salinas CA, Rojas R, Rios-Torres JM, Gómez-Pérez FJ, Olaiz G, Epidemiology of type 2 diabetes in Mexico, *Med Res*, 2005; 36(3): 188-196.
53. Shils ME, Olson JA, Shik M, Ross AC, *Nutrición en Salud y Enfermedad*, Vol. 2, 9ª edición, Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, México, 2002, pp 1577, 1578, 1582-1586, 1603.
54. Temple R, Diabetes in pregnancy, *Medicine*, 2006; 34(3): 111-112.
55. Villarreal-Ríos E, Salinas-Martínez AM, Medina-Jáuregui A, Garza-Elizondo ME, Núñez-Rocha G, Chuy-Díaz ER, The cost of diabetes mellitus and its impact on health spending in Mexico, *Med Res*, 2000; 31(5): 511-514.



56. Wikipedia, Streptozotocin.

<http://en.wikipedia.org/wiki/Streptozotocin> 17-mayo-2007.

57. Wright JR, Lefkowitz JB, Schreiner G, Lacy PE, Essential fatty acid deficiency prevents multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in CD-1 mice, Proc Natl Acad Sci U S A, 1988; 85 (16): 6137-6141.

58. Zamora-Hernández SI, Efecto antidiabético comparativo de extractos acuosos de la semilla de *Tamarindus indica* Linn con insulina y glibenclamida, Tesis de la Facultad de Química, UNAM, México, 2005.