



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto del extracto acuoso de *Opuntia streptacantha* Lem, sobre la secreción de insulina postprandial en ratas NAD-STZ

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
**MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

Biol. Ana Laura Soto Constantino

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: Dr. Adolfo Andrade Cetto

COMITÉ TUTOR: Dra. Marcia Hiriart Urdanivia

Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval

MÉXICO, D.F.

SEPTIEMBRE, 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

OFICIO FCIE/DEP/422/12

ASUNTO: Oficio de Jurado

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
P r e s e n t e

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 21 de mayo de 2012 se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL) del (la) alumno (a) SOTO CONSTANTINO ANA LAURA con número de cuenta 98336384 con la tesis titulada "Efecto de *Opuntia streptacantha* Lem sobre la secreción de insulina postprandial en ratas NAD-STZ", realizada bajo la dirección del (la) DR. ADOLFO ANDRADE CETTO:

Presidente: DRA. MARÍA CRISTINA REVILLA MONSALVE
Vocal: DRA. ELIA MARTHA PÉREZ ARMENDÁRIZ
Secretario: DRA. MARCIA HIRIART URDANIVIA
Suplente: DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ
Suplente: DRA. NORMA ARACELI BOBADILLA SANDOVAL

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 29 de agosto de 2012

M. del Coro Arizmendi
Dra. María del Coro Arizmendi Arriaga
Coordinadora del Programa

MCAA/MJFM/ASR/ipp



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.

Al programa de Becas para Estudios del Posgrado del CONACYT

Al Proyecto PAPIIT INV 228510

Al Proyecto CONACYT CB2010-151264

A mi Tutor Dr. Adolfo Andrade Cetto agradezco las enseñanzas y el apoyo y la espera para que este proyecto se concretara.

A los miembros del Comité Tutorial: Dra. Marcia Hiriart Urdanivia muchas gracias por sus comentarios durante todo el proceso del trabajo, Dra. Norma Bobadilla Sandoval, muchas gracias por sus ideas en cada tutorial para que todo fuera más dinámico.

A los demás miembros del Jurado: Dra. María Cristina Revilla Monsalve por su ardua revisión de la tesis y sus atinados comentarios, a la Dra. Martha Pérez Armendáriz muchas gracias por sus revisiones y su tiempo, yo se que estuvo muy ocupada pero nos regalo un excelente congreso a todos los asistentes; al Dr. René Cárdenas Vazquez por compartir sus conocimientos y despertar en mi la inquietud de buscar respuestas.

Y mi profundo agradecimiento a la Biol. Isabel Mejía Luna, por ayudarme en la búsqueda bibliográfica, además de brindarme su sincera amistad.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

Quiero agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México a la que debo toda mi formación académica.

A mis Padres por estar siempre apoyándome y por quererme.

A Pepe por estar siempre apoyándome y soportándome en cualquier momento.

Agradezco a Jaime Becerra por su amistad incondicional y su apoyo en momentos difíciles, además por sus sabios consejos tanto académicos como personales, tú sabes cuánto te quiero.

A Isa por brindarme su amistad y apoyarme, te quiero mucho.

A mi hermanita Brenda por acompañarme todas las tardes que escribía esta tesis, gracias por hacerme reír.

Agradezco a mi tutor Dr. Adolfo Andrade por apoyarme y por sus consejos, gracias por recibirme en su laboratorio.

Agradezco especialmente a todos los chicos del laboratorio de Etnofarmacología, Jaz, Marel, Christian, Pao, Luisa, Naye, Palapa por su ayuda, su compañía, por compartir risas y conocimientos. También agradezco a los chicos nuevos en el lab. (no tan nuevos ya) Artemisa, Marisol, David, Gerardo, Sagrario, Ileana, Grisel, Rocio y Viridiana por compartir sus inquietudes y escucharme cuando les di clase.

A Paty Olgún que también es parte del laboratorio por sus amenas charlas, y su contagiosa sonrisa, sin ella al lab. de Etnofarmacología estaría incompleto

Un agradecimiento especial a mis entrenadores Prof. Antonio Solórzano González, y Prof. Antonio Solórzano Uzeta de la ABAUNAM por enseñarme a sentir esa pasión por practicar box, y por apoyarme en momentos difíciles que sin ellos y el deporte no hubiera superado.

También quiero agradecer a mis amigos de la ABAUNAM Lucy, Ángeles, Magdala, Alina, Eunice, Surya, Johanna (Mimi), Rodrigo, Acevedo, Luis Bernal (Jarocho), Búfalo, Robert, Pedro Pablo, Rigo por escucharme, aconsejarme y sobre todo por compartir sus triunfos.

Agradezco a la Sra. Celina Herrera y al Sr. Isidro Rosas por abrirme las puertas de su casa y apoyarme como si fuera parte de su familia.

Dedico este trabajo en el que puse mucho esfuerzo, a mis padres Olivia y Enrique, y a mis hermanas Brenda y Ale por creer en mí y apoyarme toda mi vida.

ÍNDICE

1. Resumen.....	1
1. Abstract.....	3
2. Introducción.....	4
3. Antecedentes.....	8
3.1 Definición de Diabetes.....	8
3.1.1 Clasificación de Diabetes.....	9
3.1.2 Alteración a la Tolerancia a la Glucosa.....	12
3.1.3 Mecanismo de secreción de Insulina inducido por Glucosa.....	14
3.1.4 Hipoglucemiantes Orales secretagogos de Insulina.....	18
3.2 Modelo Animal STZ-NA.....	21
3.3 Etnofarmacología.....	23
3.3.1 Plantas Hipoglucemiantes.....	25
3.3.2 Opuntia Streptacantha Lem.....	27
3.3.2.1 Antecedentes Fitoquímicos.....	27
3.3.2.2 Antecedentes Farmacológicos.....	27
4. Objetivos.....	29
5. Hipótesis.....	30
6. Metodología.....	31
6.1 Obtención de Extractos.....	31
6.2 Inducción de Diabetes.....	31
6.3 Diseño Experimental.....	32
7. Resultados.....	35
8. Discusión.....	39
9. Conclusión.....	42
10. Literatura Citada.....	43
11. Apéndice Modelos Animales para el estudio de Diabetes tipo 2.....	48

1. RESUMEN

Tradicionalmente el licuado de *Opuntia streptacantha* Lem., (nopal) es usado en nuestro país para controlar a los pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Estudios previos realizados por nuestro grupo de trabajo, mostraron que impide el pico hiperglucémico, y esta actividad no está relacionada con la inhibición de las alfa glucosidasas intestinales. Por ello en este trabajo se propuso que el efecto del nopal puede ser debido a una acción sobre la secreción de insulina, lo que explicaría su uso tradicional.

Este estudio se realizó en un marco Etnofarmacológico tomando en cuenta tres ejes: la enfermedad (Diabetes Mellitus tipo 2), el uso tradicional del nopal para el tratamiento de la misma y probar este en un modelo animal de diabetes tipo 1 moderada (ratas NAD-STZ).

Para ello se realizó la colecta del nopal en el mercado de Milpa Alta en la ciudad de México, utilizando solo pencas pequeñas que son las que normalmente se consumen. A partir de ellas se elaboraron dos tipos de extractos; el licuado, similar al usado tradicionalmente y el jugo, obtenido por medio de una prensa hidráulica.

Para el estudio se utilizaron ratas sanas y ratas con diabetes inducida, se realizaron dos experimento, al primero se le administró una carga de glucosa (CG) y el fármaco repaglinida, al segundo se le administró solamente el fármaco tolbutamida, con la finalidad de medir la elevación en la concentración plasmática de insulina producida por los fármacos. En estos mismos modelos se probaron los extractos de nopal.

Los resultados obtenidos muestran que; en los modelos usados ambos fármacos producen una elevación en la concentración basal de insulina plasmática y que el nopal impide el pico hiperglucémico y esta acción no está relacionada con la modificación de la insulina plasmática.

Los datos presentados en este estudio nos permiten concluir que el nopal impide el pico hiperglucémico en ratas diabéticas a las que se les aplicó una carga de glucosa y este efecto no está relacionado con la concentración basal de insulina.

1. ABSTRACT

Traditionally *Opuntia streptacantha* Lem (Nopal) liquid, is used in our country to monitor patients with type 2 diabetes. Previous studies by our group, showed that prevents hyperglucemic peak, and this activity is not related to the inhibition of intestinal alpha glucosidases. So this paper suggested that the effect of nopal may be due to an action on insulin secretion, which may explain its traditional use.

This study was conducted in a framework Etnopharmacologic considering three axes: the disease (type 2 diabetes), the traditional use of cactus to treat it and try this in an animal model of moderate type 1 diabetes (rat NAD- STZ).

This was achieved cactus collection market in Milpa Alta Mexico City, using only small pads which are normally consumed. From these two types were prepared extracts, the liquefied similar to traditionally used and the juice obtained by means of a hydraulic press.

The study utilized for healthy rats and rats with induced diabetes, two experiments were performed, the first group was given a glucose load (CG) and the drug repaglinide, the second was given only the drug tolbutamide, in order to measure elevation in plasma concentration of insulin produced by the drugs. In these same models were tested extracts of nopal.

The results show that, in the models used both drugs produced an elevation in basal plasma insulin concentration and nopal prevents hyperglycemic peak and this action is not related to changes in plasma insulin.

The data presented in this study allow us to conclude that the nopal prevents hyperglycemic peak in diabetic rats that were administered a glucose load and this effect is not related to basal insulin concentration

2. INTRODUCCIÓN

Los cambios en el estilo de vida producidos en los últimos años, han modificado los patrones de enfermedad y de muerte en nuestro país. Además de estos cambios, la mayor esperanza de vida es factor importante en dicha modificación. Los sistemas de salud deben responder a esa necesidad de cambio y ser capaces de generar estrategias nuevas ante los problemas de salud actuales.

La diabetes mellitus tipo 2 es una enfermedad crónico-degenerativa que afecta a un gran número de personas a nivel mundial; en México específicamente, es considerada como la primer causa de muerte, de acuerdo a los datos de la Secretaría de Salud (SSA) en el 2011 (Figura 1).

PRINCIPALES CAUSAS DE MORTALIDAD GENERAL 2008 NACIONAL

Orden	Descripción	Defunciones	Tasa ^{1/}	%
	TOTAL	538 288	504.6	100
1	Diabetes mellitus	75 572	70.8	14.0
2	Enfermedades Isquémicas del Corazón	59 579	55.8	11.1
3	Enfermedades cerebrovasculares	30 212	28.3	5.6
4	Cirrosis	28 422	26.6	5.3

Figura1. Fuente: SSA 2011

Siendo la diabetes mellitus tipo 2 una de las enfermedades más importantes actualmente y la obesidad uno de los factores que predispone a presentarla, podemos observar el efecto de los cambios en el comportamiento alimentario de la población. Tanto en las sociedades desarrolladas como en las subdesarrolladas. Desde esta perspectiva, Contreras y García explican la influencia de estos cambios en el aumento de enfermedades de origen metabólico, a partir de la intensificación del sobreconsumo o subconsumo de determinados componentes nutricionales en los alimentos:

A pesar de la relativa accesibilidad a los alimentos y de la oportunidad de elegir entre múltiples ofertas, algunos problemas de salud parecen derivarse del sobreconsumo de alimentos [...] Comer poca fibra y pocos hidratos de carbono complejos y, contrariamente consumir demasiadas proteínas de origen animal con un aporte elevado de lípidos saturados e ingerir azúcares simples, así como excesivas calorías, repercute negativamente en la salud. La malnutrición [...] ya sea por el consumo excesivo o carencial de ciertos alimentos, se relaciona actualmente con el incremento de enfermedades coronarias, cerebro-vasculares y óseas, anemia, neoplasias, diabetes, cirrosis hepática o caries e incluso con el de otras que, presentándose en forma de trastornos psicológicos y comportando la desestructuración del comportamiento en las comidas, ocasionan problemas graves de salud física y mental (Contreras y García, 2005: 317, 318).

La alimentación afecta diferentes aspectos de la vida incluyendo la salud humana, esta situación ha adquirido mayor relevancia en la actualidad, en razón de los patrones de consumo vinculados a un estilo de vida; es decir, los cambios ocurridos en el plano cultural referidos a la cantidad y calidad de los alimentos que se consumen, se relacionan básicamente con cambios sociales y psicológicos:

Mennell (1985) ha apuntado hacia el contexto de un amplio y duradero proceso social de cambios en el control del apetito en un sentido cuantitativo. La cantidad de alimentos que los humanos pueden ingerir no está solamente determinada por factores biológicos sino que está fuertemente influenciada por presiones culturales, sociales y psicológicas [...] Por otra parte, la gente come para satisfacerse a sí misma (aspira a un modo de vida determinado, a expresar su personalidad, halagar a sus invitados, etc.) y no a los nutricionistas. Consecuentemente, decía Burnett (1979: 346-347), no cabe esperar mucha racionalidad dietética de las elecciones alimentarias de los consumidores (Ídem: ant 333).

Estos cambios producidos en la alimentación han provocado el aumento de enfermedades atribuidas a desordenes metabólicos, como la diabetes tipo 2. Estos problemas de salud son abordados de manera diferente en cada país, para el caso de México se ha reportado el uso de plantas medicinales en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2, una planta que ha sido relevante en las últimas décadas es el nopal (objeto de este trabajo).

De acuerdo a los objetivos que se plantean en este trabajo y refiriéndonos en un marco Etnofarmacológico se describe lo siguiente: Desde la llegada de los españoles y hasta fechas recientes numerosas publicaciones han señalado, con bases biológicas y ecológicas, la interacción entre el nopal y el hombre. Esta

interacción se ha descrito detalladamente cuando el nopal es empleado como substrato para la crianza de la grana cochinilla, como forraje y alimento para el ser humano; pero escasamente cuando el nopal es utilizado por sus propiedades medicinales.

En las últimas dos décadas el nopal ha sido motivo de gran interés popular y científico por supuestas propiedades hipoglucemiantes, lo cual se pone de manifiesto por la demanda internacional en los últimos años.

Las investigaciones sobre la utilidad del nopal en el tratamiento del diabético se iniciaron en la década de 1980. De entrada debemos aclarar que el nopal nunca fue utilizado para estos fines en épocas anteriores y toda propaganda que atribuye el conocimiento de tales propiedades hipoglucemiantes a los aztecas no es real (Basurto-Santos et al 2006). El hecho es que los investigadores detectaron en aquellos años que la población de regiones como Milpa Alta y Xochimilco, productoras de nopal con fines alimentarios, hacían uso de esta planta para aliviar los síntomas de la diabetes. En aquel entonces, Ibáñez y Meckes (1983), demostraron que una fracción semipurificada del jugo de *O. streptacantha*, produjo disminución significativa de los niveles sanguíneos de glucosa y triglicéridos en conejos normoglucémicos o con hiperglucemia inducida.

En ese mismo período de investigación y por más de diez años, el doctor Alberto Frati-Munari y su grupo de colaboradores, realizaron numerosos estudios con pacientes diabéticos y con sujetos normales, en 1983 este grupo de trabajo administró 100g de nopal asado a sujetos sanos 20 minutos antes de realizarle una prueba oral de tolerancia a la glucosa, confirmando que impide la elevación de la glucosa a los 120 y 180 minutos. Para 1987 Frati Munari y colaboradores concluyeron que el licuado fresco de nopal, administrado por vía oral a individuos sanos, no modifica la concentración basal de la glucosa o de la insulina sérica. En contraste, se describe que impide el pico hiperglucémico en individuos sanos con hiperglucemia inducida por vía oral pero no por vía intravenosa.

Por otro lado Becerra-Jiménez (2005) en su trabajo con un modelo *in vivo* para diabetes tipo 2, ratas diabéticas n5-STZ, demostró que el efecto de *Opuntia streptacantha* Lem impide el pico hiperglucémico a los 30 minutos de su administración, en una curva de tolerancia a la maltosa, efecto similar al producido por el control positivo acarbosa, un fármaco inhibidor de las alfa-glucosidasas.

Becerra Jiménez en 2009 reporta que *Opuntia* no presenta un acción de inhibidor enzimático sobre la hidrólisis de carbohidratos o la absorción intestinal de estos, pero concluye que esta planta impide el pico hiperglucémico a los 30 min de su administración después de una carga de maltosa.

3. ANTECEDENTES

La diabetes mellitus es una de las enfermedades crónicas más comunes en la mayoría de los países y su prevalencia ha aumentado en número y significancia para las instituciones de salud pública de cada país.

Se han realizado varias estimaciones previas del número de personas con diabetes mellitus en el mundo. La Organización Mundial de la Salud (por sus siglas en inglés WHO) publicó estimados para los años 2000 y 2030 (WHO, 1999 y 2009)

3.1 DIABETES MELLITUS

En 1985 se estimó que 30 millones de personas alrededor del mundo tenían diabetes tipo 2, para 1995 esta cifra se incrementó a 135 millones (WHO, 1999). La WHO estimó que el número de personas con diabetes alrededor del mundo en el año 2000 fue de 177 millones, para el año 2030 el organismo predice que existirán 370 millones de adultos diabéticos en el mundo (WHO, 2009). Esto implica un incremento del 120% en el número de casos.

Un análisis realizado por Shaw y sus colaboradores publicado en 2010, seleccionó 133 estudios de 91 países que fueron publicados en un periodo de 10 años (enero 1989 a marzo 2009), sobre la prevalencia de la diabetes mellitus; en este estudio estiman que en el 2010 había 285 millones de personas con diabetes mellitus en el mundo, distribuidas de manera dispar. También encontraron diferencias en la edad promedio en que aparece la diabetes en los países desarrollados y los países en vías de desarrollo: en los primeros es sobre los 60 años; en cambio, en los países en vías de desarrollo la prevalencia de esta enfermedad es entre los 40 y 60 años.

Además mencionan que este patrón de edad seguirá para 2030, pero los países en vías de desarrollo incrementarán la edad media de incidencia de diabetes; esto se deberá principalmente a la creciente urbanización en dichos países y el consiguiente cambio en el estilo de vida de sus poblaciones. Un dato relevante

sobre nuestro país publicado en este estudio fue la estimación de 6,8 millones de diabéticos para el 2010, por lo cual ocupa el decimo lugar mundial; e hicieron una estimación que lo sitúa para el 2030 en la séptima posición mundial con un total de 13,3 millones de diabéticos.

3.1.1 CLASIFICACIÓN DE DIABETES

La clasificación de diabetes según la American Diabetes Association (ADA) y la WHO en 2009, incluyen 4 clases clínicas de las cuales solo se describirán 2:

Diabetes Tipo 1: Este tipo de diabetes se debe a una destrucción autoinmune completa de las células β con ausencia total de insulina. La destrucción autoinmune de las células β es variable en algunos individuos: es rápida en los niños y adolescentes, y puede ser lenta en adultos (ADA 2009).

Esta destrucción autoinmune de las células β tiene múltiples factores genéticos y también puede estar relacionada con factores ambientales, pero de éstos no se conoce lo suficiente aún. Aunque los pacientes que presentan esta enfermedad no suelen ser obesos, esta característica se puede presentar en algunos individuos que la padecen; además estos pacientes pueden presentar otro tipo de desorden autoinmune como la enfermedad de Graves, hepatitis autoinmune, vitíligo, entre otras. Este tipo de diabetes se desarrolla principalmente en niños y adolescentes, pero se ha notado un incremento en etapas de la vida más avanzadas (en la vejez).

La primera manifestación de la enfermedad en niños y adolescentes es la cetoacidosis, y en individuos adultos se puede presentar una hiperglucemia moderada en ayuno, que puede agravarse en presencia de una infección o estrés. (ADA 2009)

Diabetes Tipo 2: Se caracteriza por una falla en la acción de la insulina y/o una secreción deficiente de esta hormona. Una alteración temprana en la enfermedad

es la resistencia a la insulina; un estado en el cual la insulina plasmática es incapaz de ejercer sus efectos biológicos a concentraciones que son efectivas en los sujetos sanos. La resistencia a la insulina lleva a una disminución en la captación de la glucosa y una menor síntesis de glucógeno en los tejidos periféricos. (Shulman, 2000)

La resistencia a la insulina también provoca un defecto en la supresión de la producción de glucosa hepática. Igualmente, la resistencia a la acción antilipolítica de la insulina favorece la degradación de los triglicéridos en el tejido adiposo y la generación de ácidos grasos libres, los cuales interfieren con las señales del receptor de insulina. (Saltiel y Kahn, 2001)

Los cambios en la concentración de adipocinas en el suero también son parte del estado de resistencia a la insulina. En etapas previas al inicio de la diabetes tipo 2, la resistencia a la insulina tiene como consecuencia una menor entrada de glucosa en el músculo, hígado y tejido adiposo; y por ende persistencia de concentraciones de glucosa elevadas en sangre, las cuales estimulan la secreción de insulina y ocasionan hiperinsulinemia. Inicialmente, esta hiperinsulinemia es capaz de superar a la resistencia a la insulina. El estado diabético se desarrolla cuando la secreción de insulina no puede compensar la resistencia a la insulina, y es en esta etapa que la hiperglucemia tanto en ayuno como posprandial se presenta. (Shulman, 2000)

Se han realizado numerosos esfuerzos para comprender las bases moleculares de la diabetes tipo 2. En la actualidad se sabe que un defecto en la señalización de la insulina a nivel post receptor es la principal característica de la resistencia a la insulina en la diabetes tipo 2, como resultado, las acciones metabólicas de la insulina se ven afectadas. Varios mecanismos como la desfosforilación de la tirosina del receptor de insulina, el desequilibrio en la fosforilación serina/treonina, o la internalización del receptor de insulina, debilitan la señalización de la insulina. (Zick, 2004)

Un número de moléculas asociadas a la resistencia a la insulina como los ácidos grasos libres, la interleucina-6 o el TNF-alfa, afectan la señalización del receptor de insulina. Lo relevante es que la mayoría de ellos están relacionados con el tejido adiposo.

Los factores transcripcionales como el receptor gamma activado de proliferación de los peroxisomas (PPAR gamma) y el coactivador-1 alfa del receptor gamma activado de proliferación de los peroxisomas (PGC-1 alpha), también se han encontrado asociados a la resistencia a la insulina. (Schinner,2005)

La función de la célula β juega un papel crucial en la determinación del progreso hacia la diabetes tipo 2. Los defectos en la expresión de los genes de la célula β , como los encontrados en las formas monogénicas de diabetes (MODY); o defectos secundarios de la célula β , ocasionados por glucotoxicidad, aumento en los ácidos grasos libres, citocinas y/o disfunción mitocondrial, pueden estar implicados en la fisiopatología de la diabetes tipo 2.(Rhodes, 2005)

Las otras formas de diabetes se definen debido a causas específicas por ejemplo, defectos genéticos en la función de las células β , defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino (como fibrosis quística), y diabetes inducida por fármacos (como los utilizados en el tratamiento del SIDA), (ADA 2009).

De acuerdo a esta definición y a la relevancia que ha tomado esta enfermedad en la última década la ADA y la WHO han incluido dos criterios importantes que ayudan a la diagnosis de esta: IFG (Impaired Fasting Glucose) e IGT (Impaired Glucose Tolerance).

3.1.2 ALTERACION DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA

El impacto sanitario que ha generado esta enfermedad obliga a las instituciones de salud pública a considerar la importancia de su prevención y diagnóstico temprano. Para ello es de gran interés la identificación de las personas con alto riesgo de desarrollar diabetes. En este sentido, se han establecido criterios diagnósticos (Tabla 1) por la ADA en 1997 y por un comité asesor de la WHO en 1999, que han facilitado la detección temprana de los trastornos en la tolerancia a los carbohidratos, ya que han disminuido los valores de glucemia en ayuno para el diagnóstico de la prediabetes, de 110 mg/dl a 100 mg/dl (6.1 mmol/L a 5.6 mmol/L).

Los términos IFG (Impaired Fasting Glucose) e IGT (Impaired Glucose Tolerance), se refieren a estadios metabólicos intermedios entre la homeostasis normal de la glucosa y la diabetes mellitus (DM). Son estadios previos al desarrollo de la diabetes. No son entidades clínicas propiamente dichas, pero su importancia radica en que se ha demostrado que constituyen factores de riesgo para el desarrollo de DM (WHO, 2009).

La prevalencia de la IFG, IGT y diabetes, han sido ampliamente estudiadas en una población adulta de los EEUU, a través del NANHES III (Third National Health and Nutrition Survey). La prevalencia de diabetes fue estimada en 5.1% para adultos \geq de 20 años de acuerdo a los viejos criterios de la WHO (1985). Usando los criterios de la ADA (1997), los datos del NANHES III indican que la diabetes afecta a 7.8% de los adultos \geq de 20 años; o sea que, la prevalencia de diabetes no diagnosticada es de 2.7%. IFG fue encontrada en 6.9% \geq de 20 años e IGT en 15.6% de adultos entre 40 y 74 años (Harris M. et al, 1998).

Quizás los porcentajes no reflejan la importancia de estos hallazgos, pero si pensamos en la alta prevalencia de diabetes en el mundo, estos porcentajes implican el diagnóstico de nuevos diabéticos y de la alteración en la tolerancia a la glucosa en millones de personas en el mundo, que podría ayudar a prevenir la

diabetes en personas que presentan estos desordenes metabólicos (ADA, 2010). Por otro lado, el tratamiento principal no farmacológico es el ejercicio y la dieta.

De acuerdo a lo anterior y la propuesta de nuestro trabajo sobre explorar si el nopal tiene algún efecto sobre la secreción de insulina hemos decidido incluir el mecanismo primordial por el cual se secreta insulina y es siendo estimulado por glucosa.

TABLA 1 Criterios diagnósticos de diabetes

1	Glucosa en ayuno ≥ 126 mg/dl .El ayuno es de 8 horas previas sin consumo de alimento.
2	Síntomas de hiperglucemia casual, glucosa en plasma ≥ 200 mg/dl. Casual es definido como cualquier momento del día sin tomar en cuenta el tiempo de la ultima comida. Los síntomas clásicos de hiperglucemia incluyen poliuria, polidipsia y pérdida de peso inexplicable.
3	Glucosa en plasma ≥ 200 mg/dl después de 2 horas durante una prueba de tolerancia a la glucosa. El test es descrito por la WHO usando una carga de glucosa de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.

Diabetes Care, Volume 32, supplement 1, January 2009

3.1.3 MECANISMO DE SECRECIÓN DE INSULINA INDUCIDO POR GLUCOSA.

Los niveles de glucosa en sangre son controlados por la liberación rápida pulsátil de insulina de las células β .

Las células β pancreáticas secretan insulina en respuesta al incremento extracelular de glucosa.

El proceso de estimulación y posterior secreción de insulina, necesita que la glucosa sea transportada y metabolizada dentro del citoplasma para estimular la exocitosis.

La células β pancreáticas actúan como sensores de glucosa, regulando la salida de insulina en respuesta al nivel extracelular de glucosa. (McDonald et al 2005).

Existen tres características principales del metabolismo citosólico de la glucosa en las células β .

1. La glucosa es transportada a través de la membrana de la célula β por un transportador específico (GLUT 2 en roedores).
2. La glucosa se encuentra en el citosol, y ésta es fosforilada a glucosa-6 fosfato por la glucocinasa, que es considerada como el sensor de glucosa en la célula β .
3. Una vez fosforilada la glucosa es metabolizada por medio de la glucólisis, de la cual se obtiene piruvato NADH y ATP.

El piruvato es un sustrato para el ciclo de Krebs, y de éste vamos a obtener ATP. (Esquema 1)

La glucosa va a provocar la despolarización de la membrana, esto se sabe porque en la ausencia de ésta las células β en roedores son eléctricamente silenciosas, con un potencial de membrana en reposo de -70 mV debido a la alta entrada de potasio en estas células.

La reducción de la entrada de potasio, por el estímulo de la glucosa, conduce a la despolarización de la membrana e inicia la actividad eléctrica, que se caracteriza por despolarizaciones parciales, seguidos de amplios potenciales de acción.

El cierre de los canales de potasio dependientes de ATP nos dirige a la despolarización de la membrana de las células β .

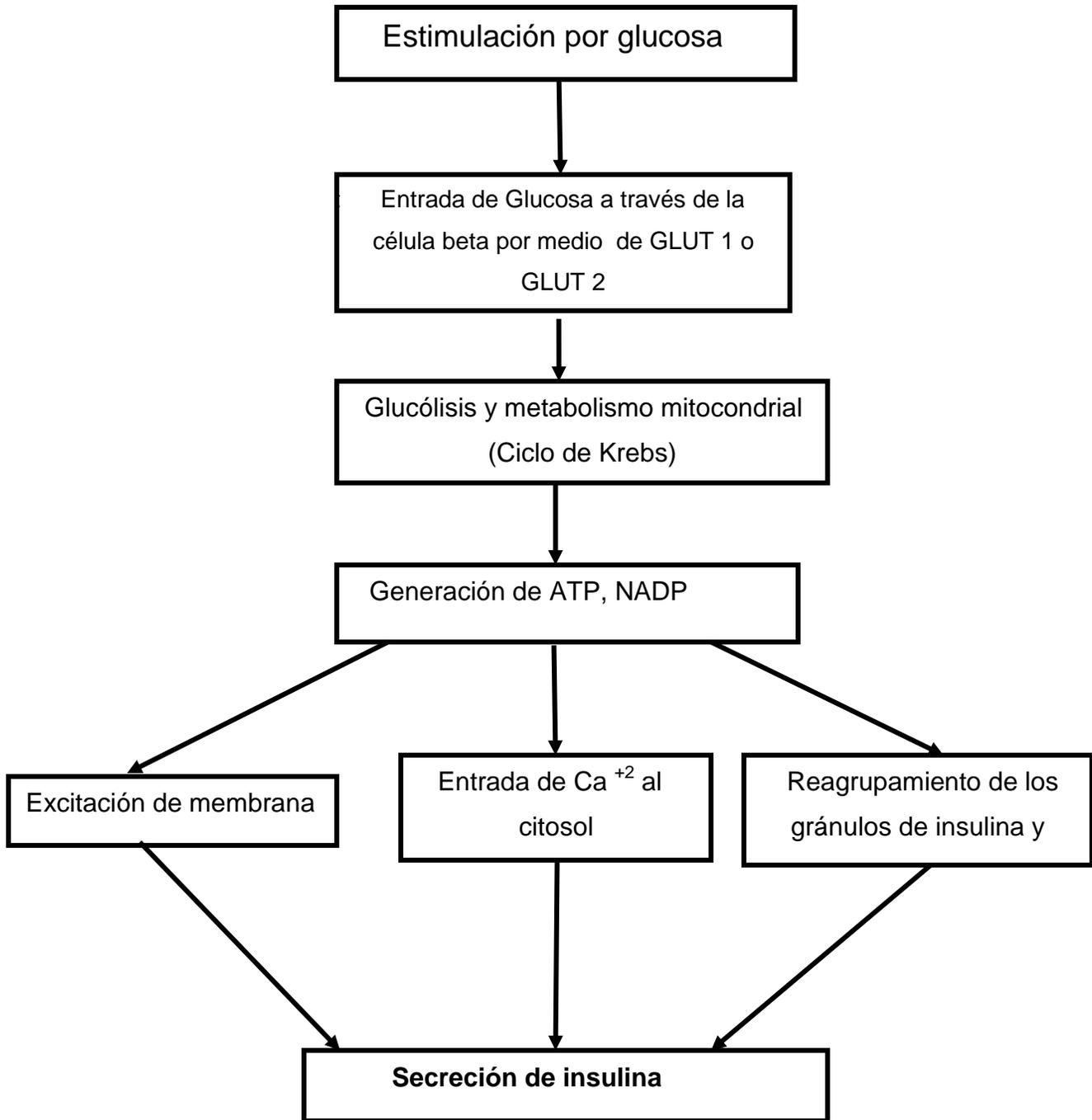
La despolarización de la membrana produce un potencial de acción y éste provoca la apertura de los canales de Calcio (Ca^{+2}) dependientes de voltaje, y el influjo de calcio dirige a la exocitosis de insulina. (Hiriart y Aguilar- Bryan 2008)

Los potenciales de acción culminan por la apertura de los canales de potasio dependientes de voltaje, los cuales limitan la entrada de Ca^{+2} y por tanto la liberación de insulina, y finalmente hay una repolarización de la membrana la cual regresa a su potencial de reposo inicial. (Esquema 2)

La insulina es una hormona anabólica, esencial para mantener la homeostasis de la glucosa, porque ésta incrementa la recaptación de glucosa en muchos tipos de células, para promover el almacenamiento de nutrientes. Como resultado hay un decremento en las concentraciones de glucosa y entonces el sistema vuelve a un estado euglicémico y cesa la liberación de insulina. (Hiriart y Aguilar- Bryan 2008)

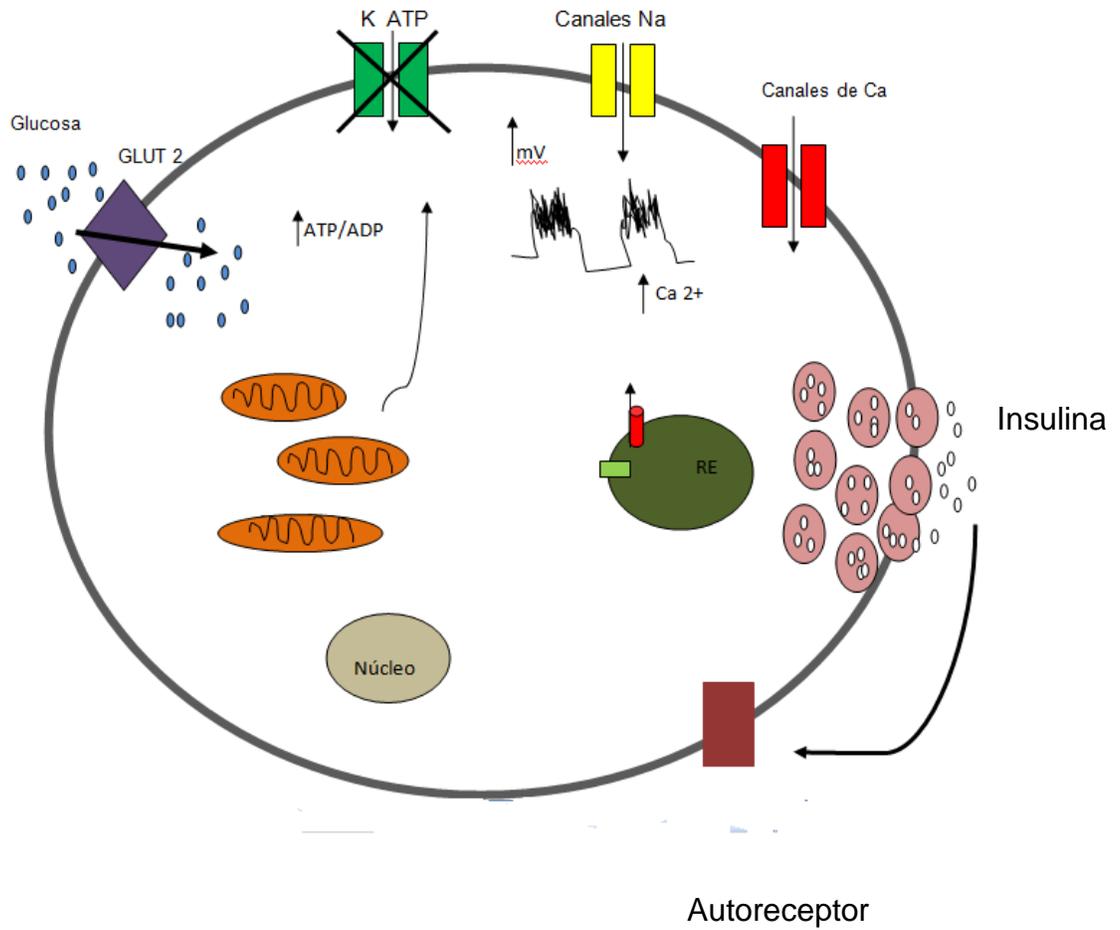
Existen algunos agentes insulíntrópicos que actúan estimulando la secreción de insulina o amplificándola. Los iniciadores de la secreción de insulina incluyen a la glucosa y las sulfonilureas que actúan cerrando los canales de K_{ATP} .

La estimulación por glucosa a las células β es mayor en comparación de una variedad de agentes insulíntrópicos. Entre estos agentes insulíntrópicos se encuentran las hormonas intestinales (incretinas) que estimulan la producción de AMP cíclico y los agentes que activan las fosfolipasa C- β (PLC- β), y tienen la capacidad de incrementar la secreción de insulina, en presencia de glucosa, esto resulta en la activación de la PKA y la proteína cinasa C (PKC), en turno, que puede fosforilar y activar los canales K_{ATP} y movilizar las vesículas secretoras de insulina (Doyle, 2003).



Esquema 1 Modificado de McDonald *et. al.* 2005

Secreción de insulina estimulada por glucosa



Esquema 2. Modificado de Hiriart y Aguilar-Bryan 2008

3.1.4 HIPOGLUCEMIANTES ORALES SECRETAGOGOS DE INSULINA.

Entre los hipoglucemiantes orales se encuentran las sulfonilureas, biguanidas, meglitinidas, tiazolidinedionas e inhibidores de las alfa-glucosidasas, los cuales se encargan de controlar las principales causas de la hiperglucemia, como son la deficiencia en la producción de insulina, la producción de glucosa hepática, la resistencia periférica a la insulina y la absorción de glucosa a nivel intestinal, respectivamente. Cuando no es suficiente el tratamiento con los agentes orales se administra insulina.

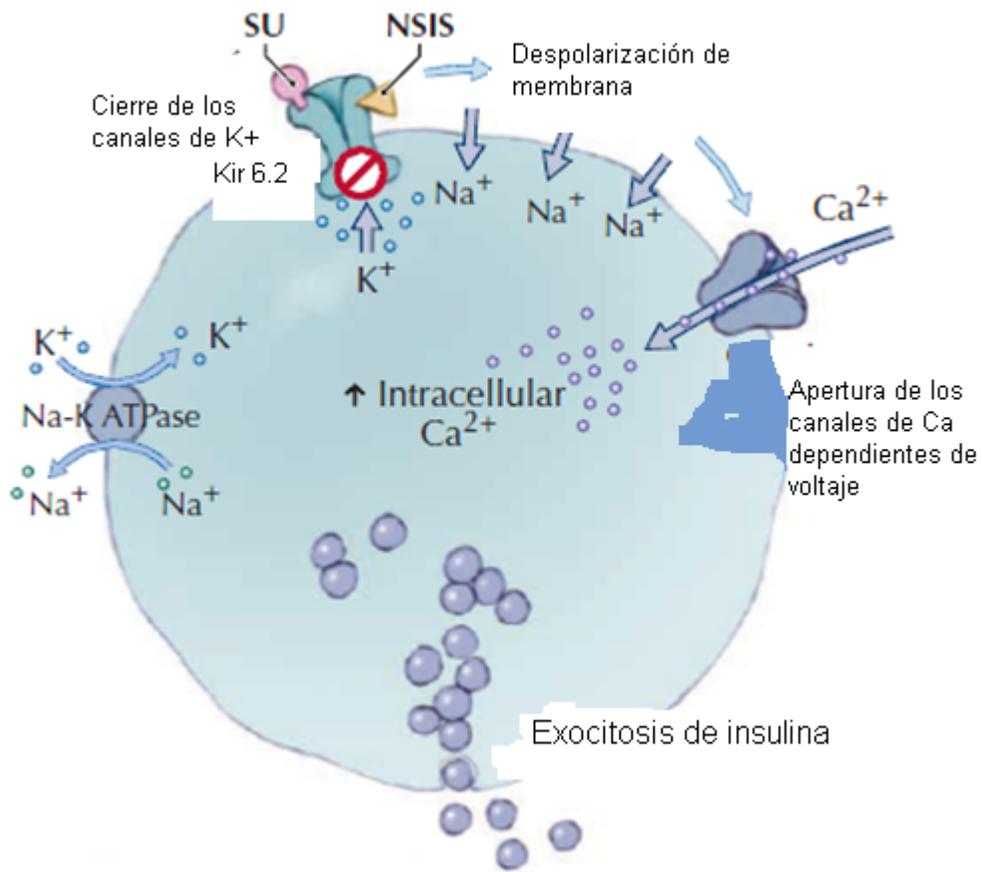
En este trabajo hacemos énfasis en los hipoglucemiantes que funcionan como secretagogos de insulina ya que se utilizaron dos diferentes fármacos que tienen esta función como controles positivos en los experimentos (tolbutamida y repaglinida).

Los secretagogos de insulina existentes en la actualidad estimulan la secreción de insulina al provocar el cierre del canal de potasio dependiente de ATP en la membrana plasmática de la célula β (Esquema 3). Cuando se cierra este canal se acumula potasio en la membrana plasmática causando una despolarización de membrana, y provocando la entrada de calcio a la célula β , provocando la exocitosis de los gránulos de insulina (Phillips y Twigg 2010)

Tolbutamida	Repaglinida
Es una sulfonilurea	Es un derivado del ácido benzóico
Se une al SUR 1(Receptor de sulfonilurea 1) en la superficie de la célula β	Su mecanismo de acción es similar al de las sulfonilureas
Provoca el cierre de los canales de Potasio dependientes de ATP, lo que impide el flujo de potasio a la célula	Se une al SUR 1 pero en un sitio diferente al de la tolbutamida , y presenta una cinética diferente
Esto resulta en la despolarización de la membrana y provoca la apertura de las canales de Ca^{+2} dependientes de voltaje	Su acción es más rápida y su vida media es más corta
Se metaboliza en el hígado y es desechada por los riñones	Se metaboliza en el hígado a través del sistema del citocromo p450
Reduce las complicaciones macro y microvasculares	Se toma antes de las comidas
Produce hipoglucemia , ganancia de peso y esta contraindicada en pacientes que tengan fallas leves o severas en el hígado	Se puede dejar de tomar si se salta una comida ,lo que resulta conveniente para personas ancianas con falta de apetito
La presentación farmacéutica es en tabletas de 500mg, y la dosis máxima es de 3g al día	Su presentación farmacéutica es de tabletas de 0.5, 1 y 2 mg , la dosis máxima es de 16 mg al d

Información tomada de Cheng y Fantus 2005

**Sitio de acción de Secretagogos de insulina
Sulfonilureas y Meglitinidas (Repaglinida)**



Esquema 3. Modificado de Cheng y Fantus 2005

3.2 MODELO NAD-STZ

Existen diferentes modelos animales que reproducen algunos rasgos de la diabetes tipo 2 (apéndice 1), pero en artículos recientes se ha reportado el uso de un modelo animal de rata adulta tratada con estreptozotocina conjuntamente con nicotinamida. Este modelo fue desarrollado por Massiello P. en 1998, y consiste en administrar una dosis de NAD (nicotinamida) 15 minutos antes de aplicar una dosis de STZ (estreptozotocina).

La estreptozotocina, es un antibiótico que deriva de *Streptomyces acromogenes* y una glucosamina estructural derivada de nitrosourea, la cual tiene un efecto tóxico selectivo sobre las células β del páncreas e induce diabetes.

Aunque el mecanismo exacto producido por la STZ no está claro, se ha propuesto un posible sitio de acción en el DNA nuclear. La estreptozotocina se introduce a las células β a través del transportador de glucosa GLUT 2 y ésta a su vez incrementa la producción de radicales libres causando un daño en el DNA, seguida por la activación de la enzima nuclear poly ADP-ribosa sintetasa, la cual está involucrada en la reparación del DNA. Esto conduce al agotamiento del sustrato de la enzima nuclear poly ADP-ribosa sintetasa, el dinucleótido de adenina nicotinamida (NAD), lo cual resulta en la reducción de la síntesis de insulina en las células β y la muerte celular. (Shnedl *et. al*, 1994,; Burkart *et. al*, 1999)

Esta citotoxicidad inducida por la estreptozotocina, es menor en presencia de la nicotinamida, un componente del NAD la cual inhibe la actividad de la poly ADP-ribosa sintetasa y previene el agotamiento de NAD en las células β pancreáticas. (Tahara, Atsuo, et al.2008).

A ratas Sprague-Dawley machos de 2 meses, se les aplicó una dosis de 230mg/kg de NAD vía intraperitoneal, 15 minutos antes de la administración de

STZ de 65 mg/kg vía intravenosa. Esta combinación provoca un desarrollo moderado y estable de la hiperglucemia, sin ningún cambio significativo en los niveles de insulina en plasma. Este modelo nos brinda una ventaja para la investigación de agentes insulíntrópicos en el tratamiento de la diabetes tipo 2. (Massiello P. 1998)

Atsuo Tahara et al, (2008) demostraron en sus resultados (Figura 2) cómo se comporta este modelo cuando se prueba con hipoglucemiantes orales entre ellos las sulfonilureas (un hipoglucemiante oral usado en este proyecto).

Peso corporal, glucosa en plasma, insulina en plasma en ratas sanas, ratas diabéticas Inducidas con STZ y ratas diabéticas NAD-STZ

	Normal	STZ	STZ + NAD		
			50 mg/kg	100 mg/kg	200 mg/kg
Peso corporal (g)	308 ± 8	243 ± 4	264 ± 13	295 ± 6	313 ± 4
Glucosa en plasma, [mg/dl]	124 ± 2	643 ± 12	386 ± 18	206 ± 3	137 ± 10
Insulina en plasma [ng/ml]	1.85±0.08	0.54±0.07	0.91 ±0.09	1.42±0.08	1.85±0.15

Figura 2. Modificada de Atsuo Tahara et al. 2008

Se hace referencia a esta tabla, porque podemos observar los valores de insulina en plasma de ratas normales y diabéticas NAD-STZ que son comparables a los resultados obtenidos en los experimentos realizados en este trabajo.

3.3 ETNOFARMACOLOGÍA

Holmstedt y Brunh (1983) definieron a la Etnofarmacología como: “La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos tradicionalmente empleados u observados por el hombre”. Sin embargo, la definición que se acepta en nuestros días fue propuesta por Schultes (1991), quien la define como: “La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional”.

La etnofarmacología tiene como objetivo principal el rescatar y documentar la herencia cultural antes de que ésta se pierda, así como investigar y evaluar los agentes empleados.

La etnofarmacología es una ciencia interdisciplinaria, ya que abarca las observaciones en campo, así como también la descripción del uso y preparación de los remedios, la identificación botánica del material obtenido, también engloba los estudios fitoquímicos que son muy importantes para aislar los compuestos presentes en las plantas, así como los estudios farmacológicos.

Esta disciplina ha tomado una gran relevancia en los últimos años, ya que varias compañías farmacéuticas están interesadas en las plantas y su potencial para obtener agentes terapéuticos que ayuden al tratamiento de algunas enfermedades de gran prevalencia entre la población.

Los hombres de antiguas culturas utilizaban plantas, animales y hongos para curar enfermedades; estos conocimientos se transmitían oralmente de generación en generación. Tiempo después estos conocimientos se escribieron en libros especializados de herbolaria y medicina tradicional.

El papel de la etnofarmacología es importante en las sociedades actuales porque se pueden obtener nuevos agentes terapéuticos que han sido empleados en la medicina tradicional, estandarizando sus componentes químicos para garantizar

el uso correcto y específico de estos remedios utilizados en culturas antiguas y comunidades indígenas actuales.

El término medicina tradicional es una generalización de todas aquellas prácticas médicas, que no forman parte de la medicina alópata convencional. Dentro de estas prácticas están la medicina tradicional china, el ayurveda hindú, y las diversas formas de medicina indígena. Pero como toda generalización siempre hay un vacío conceptual que no nos permite precisar en el valor de los componentes.

La WHO (2002-2005) define medicina tradicional como: “prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y/o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades”

Como sabemos la medicina tradicional es ampliamente practicada en nuestro país, pero se basa en el conocimiento empírico y se utilizan como remedios caseros que no presentan estandarización, y mucho menos fueron farmacológicamente probados, lo cual representa un riesgo para quien los consume; además no se conoce con certeza si están presentes los principios activos. Esto representa un problema, en donde la solución es aplicar los principios etnofarmacológicos, que incluyen el validar la medicina tradicional con datos científicos.

De acuerdo a esto, la importancia de este trabajo es validar con datos científicos el uso tradicional de plantas hipoglucemiantes en nuestro país en comunidades rurales y urbanas, enfocándonos en el nopal.

3.3.1 PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES

El empleo de las plantas medicinales con fines curativos es una práctica que se ha utilizado desde tiempo inmemorial. Durante mucho tiempo los remedios naturales, y sobre todo las plantas medicinales fueron el principal recurso del cual disponían los curanderos. Esto hizo que se profundizara en el conocimiento de las especies vegetales que poseen propiedades medicinales para ampliar la experiencia en el empleo de los productos que de ellas se extraen (Soumyanath, 2006).

Actualmente se conocen numerosas especies con posible actividad hipoglucemiante, como la goma guar (*Cyamopsis tetragonoloba*) y la alholva (*Trigonella foenum-graecum*); otras son menos conocidas y proceden de diferentes medicinas tradicionales, entre ellas se cuentan la china, la hindú y la mexicana (Ídem).

Para el caso de México, Andrade-Cetto, y Heinrich, en 2005 reportaron que al menos 306 especies de 235 géneros y 93 familias son usadas como agentes hipoglucemiantes. Entre las familias más utilizadas se encuentran: Asteraceae, Fabaceae, Cactaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae y Laminaceae. Se estima que esta cifra puede duplicarse, debido a todas las especies que no han sido documentadas.

A pesar de los numerosos estudios que se han realizado a nivel nacional y mundial, y la gran cantidad de compuestos aislados de numerosas plantas reportadas en la literatura, en la actualidad sólo se ha obtenido un derivado de plantas medicinales útil como hipoglucemiante: la metformina sintetizada de *Galega officinalis* (Andrade-Cetto, 1999).

Los estudios farmacológicos que se han realizado sobre plantas hipoglucemiantes van de lo más simple a lo más complejo, pero un problema que en general

presentan es que en pocos se ha aislado el principio activo, en la mayoría de éstos sólo se comprueba si presenta una actividad hipoglucemiante o no.

Por tanto, es necesario realizar más estudios interdisciplinarios, haciendo uso de la fitoquímica, y así poder determinar el principio activo, tanto como la farmacología para poder encontrar si existe un efecto hipoglucemiante, de la fisiología, sistemática y de otras muchas disciplinas, y así poder encontrar un agente hipoglucemiante .

3.3.2 *Opuntia streptacantha* Lem.

Se distribuye en los estados del Hidalgo, Estado de México y el Distrito Federal, en altitudes de 2300-2700 msnm (Akcelrad, 2001).

Es utilizada para los siguientes padecimientos: reumatismo, quemaduras, infecciones, hidratante de la piel, úlcera estomacal, disentería y diabetes (Argueta, 1994).

3.3.2.1 Antecedentes Fitoquímicos

Opuntia forma principalmente dos compuestos de carbohidratos en los cladodios: los encontrados en el mucílago y las pectinas. El polisacárido del mucílago y los de las pectinas muestran residuos de ácido galacturónico, arabinosa, ramnosa, galactosa, xilosa y ácido urónico (Goycolea, 2003, Alarcón -Aguilar et al., 2003) Becerra Jiménez en 2009 reportó un nuevo compuesto aislado para *Opuntia streptacantha* Lem. el ácido para-hidroxi-benciacético.

3.3.2.2 Antecedentes farmacológicos.

A finales de la década de los 80 un grupo de investigación de nuestro país condujo varios estudios clínicos en humanos usando cladodios asados de *O. streptacantha* Lem. Una dosis de 100 g de nopal asado fue administrada a voluntarios sanos, 20 min antes de iniciar la prueba de tolerancia oral a la glucosa, y demostró que se impide la elevación de la glucemia a los 120 y 180 min, y disminuye la concentración de insulina sanguínea (Fрати-Munari et al., 1983).

Fрати-Munari y colaboradores en 1987 concluyeron que el licuado fresco de nopal, cuya especie no fue identificada, administrado por vía oral a individuos sanos, no modifica la concentración basal de la glucosa o de la insulina sérica.

Estudios clínicos realizados por Najm y Desiree (2010), Shane Mc Wroter (2001, 2005), Shapiro y Gang (2002) y Yeh *et. al* (2003) reportan un efecto sobre el control de la glucosa en sangre de *Opuntia* en pacientes con diabetes tipo 2.

Un estudio con OpunDia, una preparación hecha con el extracto de cladodios y frutos de *Opuntia ficus indica*, muestran una baja en los niveles de glucosa después de la administración de una carga de glucosa (Godard *et. al* 2010).

Becerra-Jiménez (2009) en su trabajo con el modelo *in vivo* para diabetes tipo 2, de ratas diabéticas n5-STZ, demostró que el efecto de *Opuntia streptacantha* Lem impide el pico hiperglucémico a los 30 minutos de su administración, en una curva de tolerancia a la maltosa, efecto similar al producido por el control positivo Acarbosa, un fármaco inhibidor de las alfa-glucosidasas.

Becerra Jiménez y Andrade Cetto en 2012 reportaron que *Opuntia* no presentó una acción como inhibidor enzimático sobre la hidrólisis de carbohidratos o la absorción intestinal de estos, pero concluyen que esta planta impidió el pico hiperglucémico a los 90 min de su administración en una curva de tolerancia a maltosa.

Como se observa de los antecedentes mencionados, son varios los autores que han propuesto que el nopal impide el pico hiperglucémico después de administrar una carga de glucosa, y esta actividad es debida a un mecanismo relacionado con la digestión de carbohidratos, ya sea en el proceso de hidrólisis o en la absorción intestinal de glucosa. Pero como demostraron, éste no es el mecanismo por el cual actúa esta planta; por lo tanto en este proyecto sugerimos que *Opuntia* puede tener una acción similar a la repaglinida, estimulando la secreción de insulina después de la administración de glucosa.

4. OBJETIVOS

Objetivo Principal:

Demostrar si el efecto sobre el pico hiperglucémico de *O. streptacantha* Lem. está relacionado con la concentración plasmática de insulina.

Objetivos particulares

- Probar el efecto de la Tolbutamida sobre los niveles de insulina y glucosa plasmática en ratas control y ratas NAD-STZ.
- Probar el efecto de la repaglinida sobre los niveles de insulina y glucosa en plasma en el modelo NAD-STZ y compararlo contra ratas sanas.
- Probar el efecto del licuado liofilizado de *Opuntia streptacantha* Lem sobre la secreción de insulina en ratas diabéticas NAD-STZ con carga de glucosa.
- Probar el efecto del licuado liofilizado de *Opuntia streptacantha* Lem sobre la secreción de insulina en ratas diabéticas NAD-STZ sin carga de glucosa.
- Probar el efecto del jugo de *Opuntia streptacantha* Lem sobre la secreción de insulina en ratas diabéticas NAD-STZ con carga de glucosa

5. HIPÓTESIS

- Nula: El efecto de la administración del licuado liofilizado y el jugo de *Opuntia streptacantha* Lem. estimula la secreción de insulina en respuesta a una carga de glucosa, en ratas NAD-STZ.
- Alternativa: El licuado liofilizado y el jugo de *Opuntia streptacantha* Lem no estimula la secreción de insulina, en ratas NAD-STZ.

6. METODOLOGÍA

6.1 ELABORACIÓN DE EXTRACTOS DE *Opuntia streptacantha* Lem.

El material botánico fue colectado por Andrade-Cetto con el número de colecta ETNOF196 en el mercado de nopales, en la delegación Milpa Alta del Distrito Federal, México. Un ejemplar fue depositado en el Herbario IMSS bajo el número 15048.

El extracto se elaboró a partir de cladodios jóvenes frescos (con un peso promedio de 100 g.) a los cuales les fueron removidas las espinas para después ser molidos, a manera de licuado, en una licuadora convencional hasta obtener una mezcla de apariencia uniforme. El licuado homogenizado se congeló a -40°C en un congelador marca Revco y posteriormente se liofilizó en una liofilizadora marca Labconco modelo Freezone 2.5.

Se elaboró un segundo extracto, que se obtuvo sometiendo 100g de cladodios a una presión de 150 kg/cm^2 , en una prensa hidráulica marca Hafico, para obtener en promedio 15 ml de jugo que posteriormente fue suministrado a las ratas.

6.2 INDUCCIÓN DE DIABETES

Se utilizaron 4 ratas macho de la cepa Wistar para cada grupo experimental, de 2 meses de edad a las cuales se les aplicó una dosis de 230mg/kg de NAD (nicotinamida SIGMA Aldrich N3014) vía intraperitoneal, 15 minutos antes de la administración de STZ (SIGMA Aldrich S0130) a una dosis de 65 mg/kg vía intravenosa. Las ratas que presentaron niveles de glucosa $\geq 155\text{ mg/dl}$ fueron incluidas en los grupos diabéticos. Las ratas permanecieron en una sala a 25°C con 55% de humedad, en un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad. Las ratas tuvieron acceso *ad libitum* al alimento (Purina Ralston) y el agua durante todo el experimento.

6.3 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se realizaron curvas de glucosa, en ratas diabéticas NAD-STZ, para determinar si había secreción de insulina normal o deficiente. Se tomaron muestras de 50 μ L de sangre proveniente de la vena caudal de la cola en los tiempos 0, 40, 80 y 120 minutos. Una parte de la muestra fue centrifugada, se obtuvo plasma y se realizó una prueba ELISA de insulina

Posteriormente se valoró y comparó la eficacia de la tolbutamida (fármaco control) en las ratas sanas y las ratas diabéticas, realizándose curvas de glucosa en los siguientes grupos de tratamiento con una n=4.

Grupos	Tratamiento	Observaciones
1	Control	Niveles normales de insulina en plasma
2	Control Tolbutamida (100mg/Kg)	Comparar contra control aumento en la insulina plasmática
3	Diabético	Comparar contra control los niveles de insulina plasmática
4	Diabético Tolbutamida (100 mg/Kg)	Comparar contra diabético sin tratamiento los niveles de insulina plasmática, así como comparar los niveles contra el control tratado con tolbutamida.

Ya que el objetivo de esta investigación fue probar el efecto de *Opuntia streptacantha* Lem, sobre la variación en los niveles de insulina plasmática en ratas diabéticas NAD-STZ, se plantearon dos experimentos: 1) Se probó el nopal en una curva de tolerancia a la glucosa y se comparó su acción contra el grupo al que se le administró repaglinida: y 2) se probó el nopal sin carga de glucosa y se comparó contra una sulfonilurea tolbutamida.

Para estos experimentos se utilizó el siguiente método:

Se realizó una curva de tolerancia a la glucosa a los diferentes grupos experimentales:

Grupos	Tratamiento	Observaciones
1 Control	Carga de glucosa 2g/kg	Rata normal a la que se le administra una carga de glucosa vía oral
2 Control	Carga de glucosa + Repaglinida	Rata normal a la que se la administra repaglinida 16 mg/Kg) vía oral 5 min antes de dar la carga de glucosa
3 Diabético	Carga de glucosa 2g/Kg	Rata diabética a la que se le administra una carga de glucosa vía oral
4 Diabético	Carga de glucosa + repaglinida	Rata diabética a la que se la administra repaglinida (16 mg/Kg) vía oral 5 min antes de dar la carga de glucosa (2g/kg)

Se tomaron muestras de sangre en los tiempos 0, 40, 80, 120 minutos; en los grupos control y diabético se administró vía oral una carga de glucosa anhidra a una dosis de 2g/Kg, después de tomar la muestra del tiempo 0, esta dosis se disolvió en 1 mL de agua. En el grupo control y diabético que fueron tratados con repaglinida; se administró la repaglinida a una dosis de 16 mg/ Kg, disuelta en 1mL de solución fisiológica, después de tomar la muestra del tiempo 0; después de 5 minutos se administró la carga de glucosa anhidra a una dosis de 2g/ kg.

Posteriormente se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa, pero administrando el licuado liofilizado y el jugo de *Opuntia streptacantha Lem.* a una dosis que se estableció extrapolando el peso de una persona normal de 70 kg a una rata de 250 g.

Del extracto se obtuvieron en promedio 3.15 g de un cladodio de 118.39 g el cual se licuó y posteriormente se congeló para poder ser liofilizado. Estos 3.15 g equivalen a lo que una persona de 70 kg tomaría, así que se hizo una extrapolación a una rata de 250 g y lo que se obtuvo fue una dosis de 0.1 g/Kg.

Esta dosis se disolvió en 1 mL de solución fisiológica, se administró por vía oral 5 minutos antes, de suministrar 2g/kg de glucosa anhidra por la misma vía. Para el caso del jugo que se encontraba en una concentración de 0.1ml/kg, se tomo 1 mL que fue administrado por vía oral después de tomar la muestra del tiempo 0.

Se realizaron los siguientes grupos de tratamiento con una n=4

Grupos	Tratamiento	Observaciones
1 Diabético	Licuada Nopal 0.1g/kg + Carga de glucosa 2g/kg	Rata diabética a la que se administra el licuado de nopal previo a la administración de la carga de glucosa.
2 Diabético	Licuada de Nopal 0.1g/kg	Rata diabética a la que se le administra licuado de nopal solamente.
3 Diabético	Jugo de Nopal 0.1mL/kg + Carga de glucosa 2g/kg	Rata diabética a la que se le suministra jugo de nopal previo a la administración de la carga de glucosa.

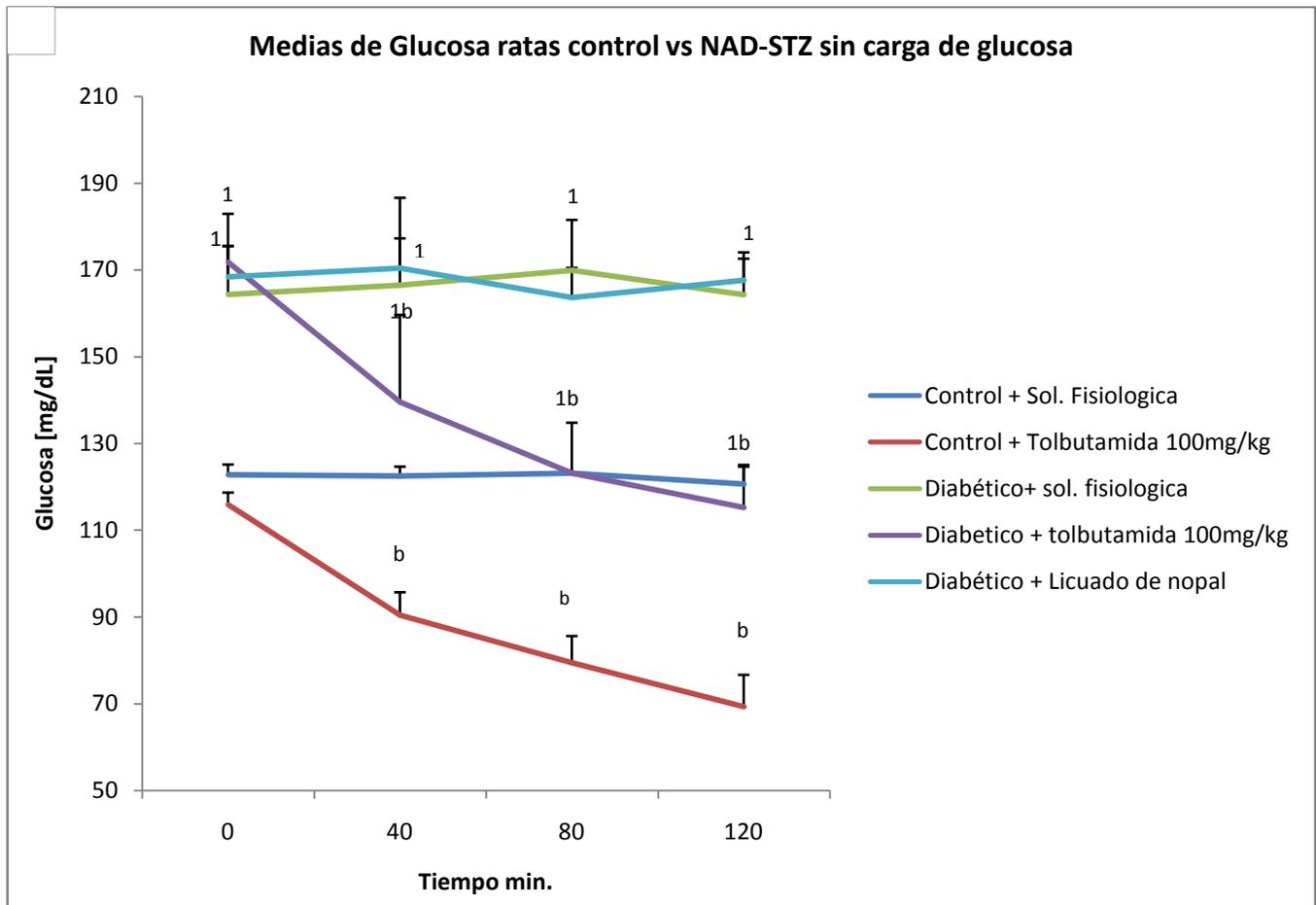
Se realizó la toma de muestras en la vena caudal de la cola de la rata en los siguientes tiempos 0, 40, 80 y 120 min para obtener los valores de glucosa en sangre, el sobrante se centrifugo para obtener plasma y poder realizar la técnica de ELISA, para obtener los valores de insulina.

7. RESULTADOS

En la gráfica 1 podemos observar que existe una diferencia significativa en los valores de glucosa entre los grupos control y diabéticos en el tiempo inicial. Otro aspecto relevante es que los grupos tratados con tolbutamida disminuyeron sus niveles plasmáticos de glucosa a partir del tiempo 40.

Cabe resaltar que el grupo tratado con licuado de nopal no presenta diferencias significativas contra el grupo diabético tratado con solución fisiológica y además no presenta un comportamiento similar al los grupos tratados con tolbutamida.

Gráfica 1.



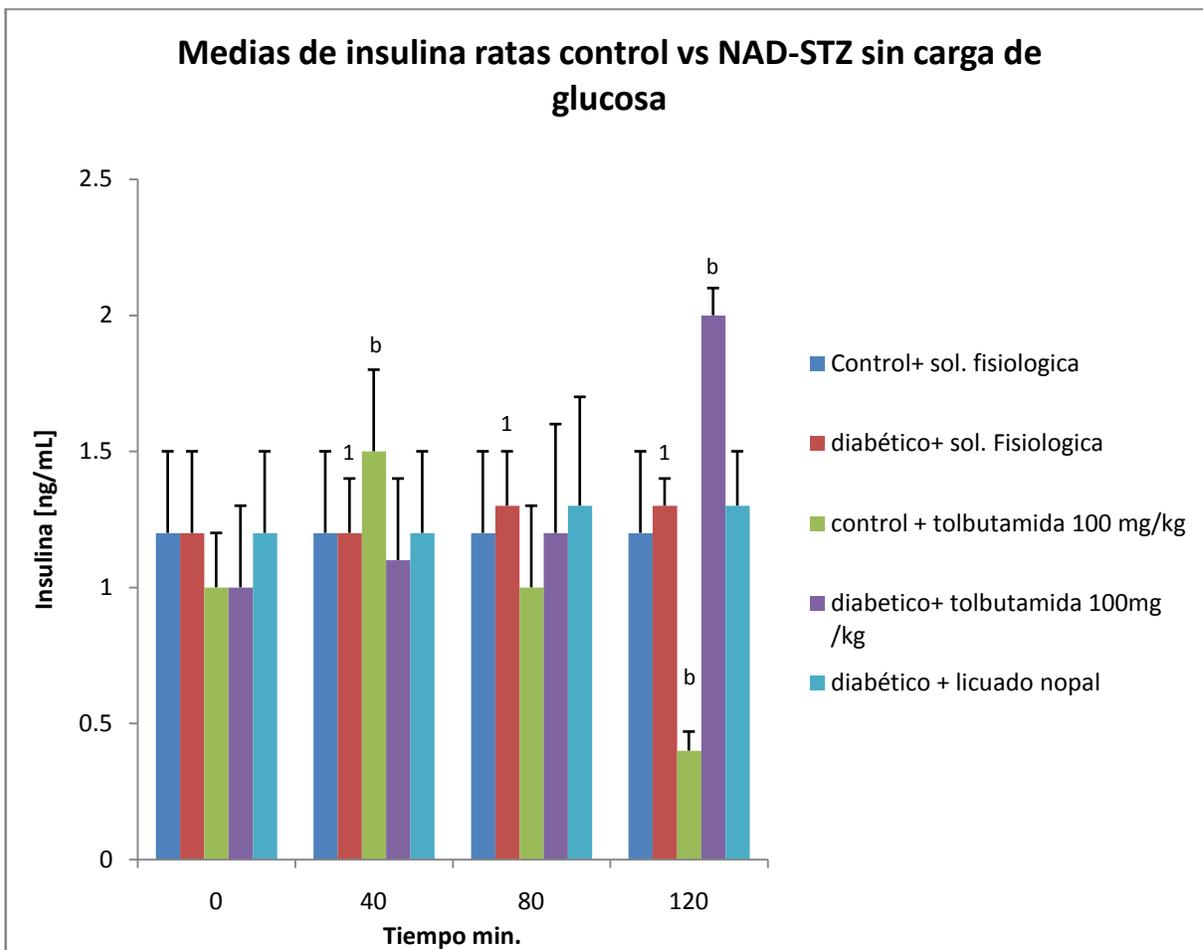
1 muestra diferencias significativas contra el control en el tiempo de la muestra

^a muestra diferencias significativas contra el tiempo cero

^b muestra diferencias significativas contra el tiempo cero y el control en el tiempo de la muestra.

Significancia a partir de $p \leq 0.05$

Gráfica 2.



1 muestra diferencias significativas contra el control en el tiempo de la muestra

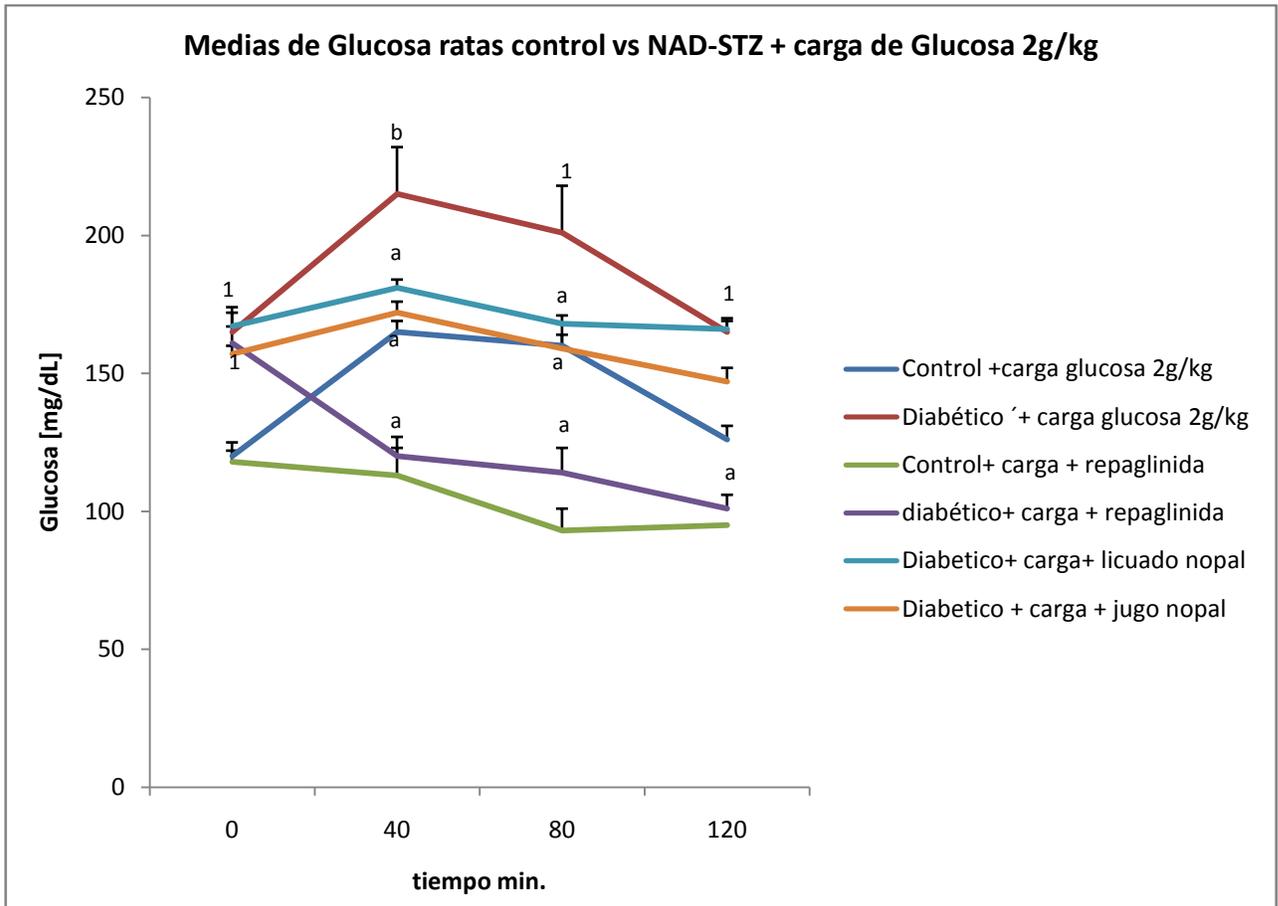
^a muestra diferencias significativas contra el tiempo cero

^b muestra diferencias significativas contra el tiempo cero y el control en el tiempo de la muestra.

Significancia a partir de $p \leq 0.05$

En esta gráfica podemos observar que los niveles medios de insulina plasmática no presentan diferencias significativas en ningún grupo para el tiempo 0. Los grupos tratados con tolbutamida, para el caso del grupo control presentó un incremento en la insulina plasmática en el tiempo 40, a diferencia de esto el grupo diabético tratado con tolbutamida presentó este incremento pero de manera tardía en el tiempo 120. También es importante resaltar que el grupo diabético tratado con licuado de nopal no presento diferencias significativas en los niveles de insulina plasmática con el grupo control y el grupo diabético a los que se les administró solución fisiológica.

Gráfica 3



1 muestra diferencias significativas contra el control en el tiempo de la muestra

^a muestra diferencias significativas contra el tiempo cero

^b muestra diferencias significativas contra el tiempo cero y el control en el tiempo de la muestra.

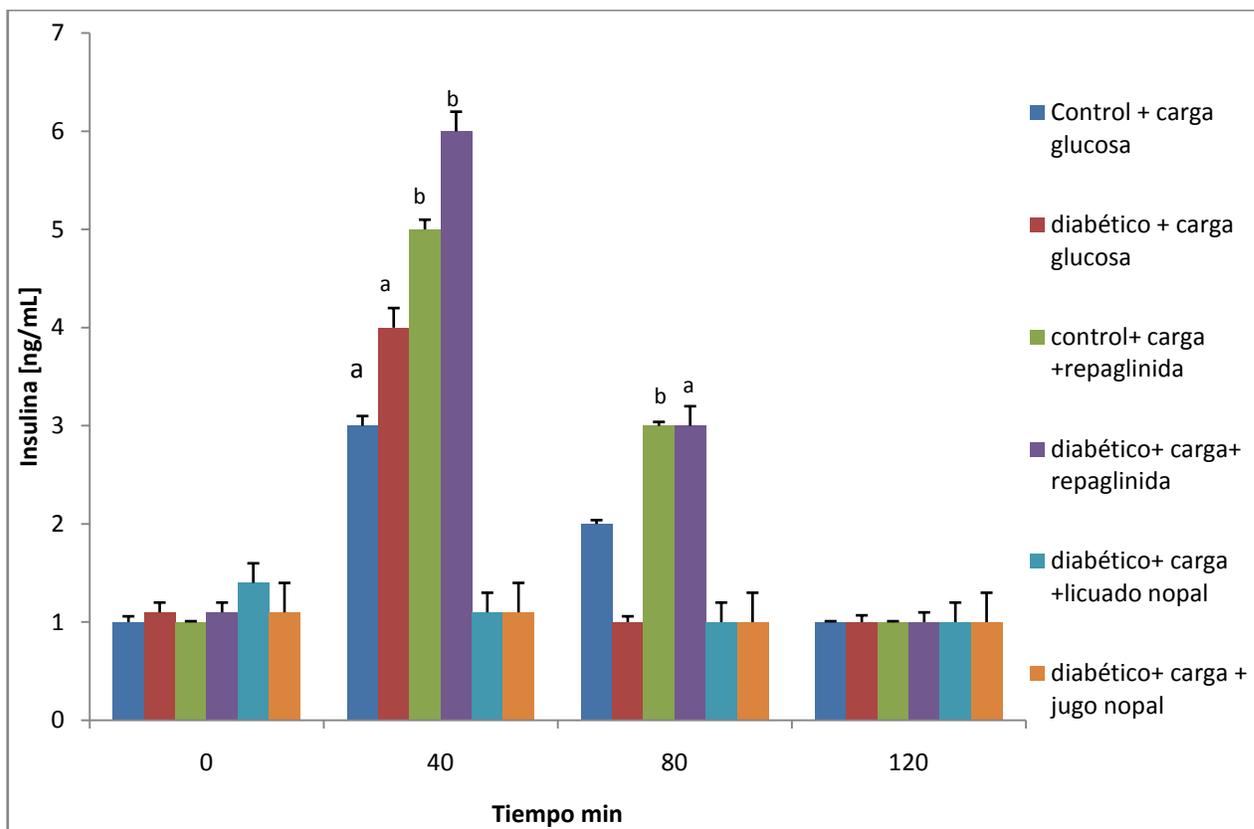
Significancia a partir de $p \leq 0.05$

En esta gráfica podemos observar que el grupo control como el diabético incrementan sus niveles de glucosa a partir del tiempo 40 después de que se ha administrado la carga de glucosa. También se observa que los grupos tratados con repaglinida muestran un decremento de los niveles de glucosa con respecto a los grupos que no se les administró repaglinida.

Para el caso de los grupos tratados con licuado y jugo de nopal se puede observar claramente que se impide el pico hiperglucémico a partir del tiempo 40, este comportamiento no es comparable a los grupos tratados con repaglinida, pero en comparación con los grupos a los que solo se les administró la carga de glucosa la diferencia es significativa en el tiempo 40.

Gráfica 4.

Medias de insulina en ratas control vs NAD-STZ + carga de glucosa 2g/kg



1 muestra diferencias significativas contra el control en el tiempo de la muestra

^a muestra diferencias significativas contra el tiempo cero

^b muestra diferencias significativas contra el tiempo cero y el control en el tiempo de la muestra.

Significancia a partir de $p \leq 0.05$

En esta gráfica podemos observar que los niveles de insulina plasmática se incrementan en el tiempo 40 en los grupos control y diabético a los que se administró la carga de glucosa; a los grupos que además de la carga de glucosa se les administró repaglinida mostraron un incremento mayor en los niveles de insulina plasmática para el tiempo 40. En los grupos tratados con licuado y jugo de nopal podemos observar que no existen diferencias significativas contra el tiempo 0, es decir no se muestra un incremento en la insulina plasmática.

8. DISCUSIÓN

- El nivel de insulina basal en todos los grupos de tratamiento, tanto diabético como no diabético, es similar ya que no existen diferencias significativas. Este hecho es comparable a los resultados obtenidos por Atsuo Tahara en 2008, de acuerdo a estos resultados podemos afirmar que el modelo es adecuado para observar si existe un incremento de los niveles de insulina plasmática provocado por hipoglucemiantes orales.

En las ratas control y diabética NAD-STZ, ambas tratadas con tolbutamida observamos el siguiente comportamiento.

- En las ratas no diabéticas o control (ND) se muestra un incremento del 64% (con respecto al tiempo 0) en el tiempo 40, y un posterior decremento de la insulina plasmática en los tiempos de medición siguientes. Este comportamiento nos sugiere que las ratas sanas al estar en ayuno durante 2h, además de ser tratadas con una secretagogo de insulina, éstas dejan de secretar insulina posiblemente porque no hay aumento en las concentraciones de glucosa.
- En las ratas diabéticas NAD-STZ notamos un incremento del 65%(respecto al tiempo 0) en el tiempo 120 lo que nos muestra un incremento gradual en el tiempo, a diferencia, de las ratas control, este comportamiento nos sugiere que la primera fase de secreción de insulina está fallando.

La concentración de la insulina en el tiempo 40 del grupo control es claramente cercana a la concentración de insulina en el tiempo 120 del grupo diabético (64% en control y 65% en diabético).

El experimento en el que se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa podemos observar lo siguiente:

- El grupo ND presenta un incremento de glucosa del 37% en el tiempo 40 debido a la administración de la carga de glucosa anhidra, y en los siguientes tiempos se observa un decremento. En comparación con el grupo diabético que recibió el mismo tratamiento, podemos observar que el incremento de la glucosa para el tiempo 40 es similar, pero existe una diferencia significativa en la glucosa basal, lo que distingue al grupo diabético del ND. Además tenemos que el grupo diabético tarda en estabilizar sus niveles de glucosa después de haber recibido una carga de glucosa.
- En cuanto a los niveles de insulina pudimos observar, que en ambos grupos, el ND y el diabético, estos niveles son similares tanto en los niveles de insulina basal como en el tiempo 40 donde se observa un incremento. Además se observa que en el tiempo 80 y 120 para el grupo diabético una disminución de los niveles de insulina.

A los grupos que conjuntamente se les administró la carga de glucosa y repaglinida, obtuvieron lo siguiente:

- Comparando el grupo ND vs el diabético en los niveles de glucosa observamos que existen diferencias significativas en la glucemia basal lo que nos permite diferenciar nuestro grupo ND del Diabético, también se observa claramente que el fármaco funciona como hipoglucemiante en el grupo diabético y en el grupo control, pero no causa una hipoglucemia mayor si se compara con otros fármacos como las sulfonilureas.
- En el caso de los niveles de insulina ambos grupos presentan niveles basales similares lo que nos demostró que este modelo de inducción de diabetes secreta insulina, muy importante para poder probar fármacos secretagogos y plantas hipoglucemiantes que se crea que puedan tener una acción similar al fármaco secretagogo.

Se observó un incremento en ambos grupos provocado por la repaglinida y potenciado por la carga de glucosa.

Para los grupos a los que se les administró el licuado de nopal observamos:

- El primero se le administró una carga de glucosa anhidra ya que de acuerdo a los datos obtenidos por Becerra Jiménez en 2005, y 2009 reporta que el licuado de nopal impide el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia, resultados que comprobamos. De acuerdo a nuestras hipótesis sobre que el licuado de nopal poseía un mecanismo de acción similar a la repaglinida no logramos comprobarlo ya que los niveles de insulina en el tiempo del experimento se mantuvieron similares a los basales.

Para el segundo grupo solo administramos el licuado de nopal, con la finalidad de compararlo con el grupo al que se le administró tolbutamida y poder afirmar que la acción del nopal solo es antihyperglucemiante y no hipoglucemiante, lo que encontramos fue que los niveles de glucosa no variaron en el tiempo de duración del experimento y no hubo diferencias significativas contra el grupo diabético al que se le administró solución fisiológica. Los valores de insulina presentaron el mismo comportamiento.

9. CONCLUSIÓN

Podemos concluir que el mecanismo por el cual el nopal impide el pico hiperglucémico no es estimulando a la secreción de insulina.

En este trabajo se probaron dos extractos para desestimar la acción del alto contenido de fibra sobre la absorción de carbohidratos.

A pesar de lo anterior, se comprobó nuevamente que *Opuntia streptacantha* Lem. impide el pico hiperglucémico en una curva de tolerancia a la glucosa.

Se sugiere realizar más estudios farmacológicos para conocer el mecanismo por el cual actúa.

10. LITERATURA CITADA.

- A.D.A. 2010. American Diabetes Association. Página de Red: www.diabetes.org; accedida en octubre de 2010.
- Akcelrad L. 2001. Cactaceae. en Rzedowski GC de, J. Rzedowski (ed). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.
- Alarcon-Aguilar FJ, Banderas-Dorantes T, Gutierrez-Leon A, Vazquez-Carrillo L, Flores Saenz JL, Roman-Ramos R.2003. Hypoglycemic activity of two polysaccharides isolated from *Opuntia ficus-indica* and *Opuntia streptacantha*. Proc West Pharmacol Soc 46: 139-42.
- Andrade Cetto, A. 1999. Estudio etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal & Chalm. Y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias, UNAM. 100p.
- Andrade-Cetto A. y Hienrich M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology. 99, 325-48.
- Ascroft F.M.(1996), Mechanism of the glycaemic effects of sulfonylureas. Horm Metab Res;28:456-463.
- Bakkali-Nadi A, Malaisse-Lagae F, Malaisse WJ. Insulinotropic action of meglitinide analogs: concentration-response relationship and nutrient dependency. Diabetes Res 1994; 27: 81-7.
- Bakkali-Nadi A, Malaisse-Lagae F, Malaisse WJ. Ionophoretic activity of meglitinide analogues. Diabetes Res 1994; 27: 61-71.
- Basurto Santos Denni, Lorenzana-Jiménez Marte, Magos-Guerrero Gil Alfonso, 2006, Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2, Rev. Fac. Med. UNAM Vol.49, Num.4.
- Becerra Jiménez J. 2005. Estudio sobre el efecto de 5 plantas hipoglucemiantes mexicanas sobre la absorción de glucosa intestinal, en

ratas (n-stz) diabéticas. Tesis de Licenciatura, Facultad de Ciencias, UNAM. 75 p.

- Becerra Jiménez Jaime, 2009. Efecto de *Opuntia streptacantha* Lem. Sobre la absorción de glucosa a nivel intestinal. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias UNAM, 63p.
- Becerra Jiménez Jaime, Andrade-Cetto Adolfo, 2012. Effect of *Opuntia streptacantha* Lem.on alpha glucosidase activity . J. Ethnopharmacology 139:493-496.
- Contreras Hernández, Jesús y Mabel García Arnáiz. 2005. Alimentación y Cultura. Perspectivas antropológicas, Ariel, Barcelona.
- De Fronzo RA.1999, Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. An Intern Med ; 131: 281-303pp
- Doyle, M. and Egan 2003. Pharmacological agents that directly modulate insulin secretion. Pharmacological Reviews. Vol 55 Issue 1, 105-131.
- Frati-Munari AC, Fernández-Harp JA, Banales-Ham M, Ariza-Andraca CR. 1983. Decreased blood glucose and insulin by nopal (*Opuntia* sp.). Arch Invest Med 14: 269-274.
- Frati-Munari AC, Fernández-Harp JA, de la Riva H, Ariza-Andraca R, del Carmen Torres M. 1983. Effects of nopal (*Opuntia* sp.) on serum lipids, glycemia and body weight. Arch Invest Med 14: 117-125.
- Frati-Munari AC, Yever-Garces A, Islas-Andrade S, Ariza-Andraca CR, Chavez-Negrete A. 1987. Studies on the mechanism of “hypoglycemic” effect of nopal (*Opuntia* sp.). Arch Invest Med 18: 7-12
- Fuhlendorff J, Rorsman P, Kofod H, Brand CL, Rolin B, Mackay P, et al. Stimulation of insulin release by repaglinide and glibenclamide involves both common and distinct processes. Diabetes 1998, 47: 345-51.
- Godard, M., Ewing, B., Pischel, I., Ziegler, A., Benedek, B., Feistel, B., 2010. Acute blood glucose lowering effects and long-term safety of OpunDia
- TM supplementation in pre-diabetic males and females. Journal of Ethnopharmacology 130, 631–634.

- Goycoolea FM and Cárdenas A. 2003. Pectins from *Opuntia* spp.: A Short Review. *J. PACD* 5: 17-29.
- Harris M., Flegal K.M., Eastman R.C., Eberhardt M.S., Cowie C.C. 1998 Racial and ethnic differences in glycemic control of adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 22:403-8
- Hiriart M. and Aguilar- Bryan L., 2008 Channel regulation of glucose sensing in the pancreatic β -cell. *Am JPhysiol Endocrinol Metab* 295:E1298-E1306.
- Holmstedt B., and Bruhn Jan G. 1983. Ethnopharmacology-A challenge, *Journal of Ethnopharmacology*, 7: 251-256.

- Ibáñez, C., y L. Meckes. 1983. Efecto de un producto semipurificado obtenido de *Opuntia streptacantha* L. (nopal), sobre la glucemia y la trigliceridemia del conejo. *Arch. Inv. Médica (Mex)*. 14: 437.
- Leclercq-Meyer V, Ladriere L, Fuhlendorff J, Malaisse WJ. Stimulation of insulin and somatostatin release by two meglitinides analogs. *Endocrine* 1997; 7: 311-7.
- MacDonald PE, Joseph JW, Rorsman P. Glucose-sensing mechanisms in pancreatic β -cells (Review). *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 360: 2211–2225, 2005

- Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, *et al.* Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes* 1998; 47 : 224-9.
- Mooradian AD, Thurman JE. Drug therapy of postprandialhyperglycaemia. *Drugs* 1999; 57: 19-29.
- Najm, W., Desiree, L., 2010. Herbals used for diabetes, obesity and metabolic syndrome. *Primare Care: Clinics in Office Practice* 37, 237–254.
- Rhodes, C.J., *Type 2 diabetes-a matter of beta-cell life and death?* *Science*, 2005. 307(5708): p. 380-4.
- Roman-Ramos R, Flores-Saenz JL, Alarcón-Aguilar FJ. 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *J Ethnopharmacol* 48: 25-32.

- Saltiel, A.R. and C.R. Kahn, *Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism*. Nature, 2001. 414(6865): p. 799-806.
- Secretaría de Salud. Informe
- Schinner, S., et al., *Molecular mechanisms of insulin resistance*. Diabet Med, 2005. 22(6): p. 674-82.
- Shulman, G.I., *Cellular mechanisms of insulin resistance*. J Clin Invest, 2000. 106(2): p. 171-6.
- Schultes O. 1991. Historical perspective and future of ethnopharmacology. J Ethnopharmacol 32: 7-24.
- Shane-McWhorter, L., 2001. Biological complementary therapies: a focus on botanical products in diabetes. Diabetes Spectrum 14, 199–208.
- Shane-Mc Whorter, L., 2005. Botanical dietary supplements and the treatment of diabetes: what is the evidence? Current Diabetes Reports 5,
- 391–398.
- Shapiro, K., Gong,W., 2002. Natural products used for diabetes. Journal of the American Pharmaceutical Association 42, 217–226.
- Yeh, G.Y., Eisenberg, D.M., Kaptchuk, T.J., Phillips, R.S., 2003. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. Diabetes Care 26, 1277–1281.
- Soumyanath Amadala. 2006. Tradicional Medicines for Modern Times Antidiabetic Plants. Taylor and Francis group. Boca Florida, EU. 314 pp
- Srinivasan k., Ramaro P., 2007. Animal models in type 2 diabetes research: an overview. Indian J Med Res 125,pp 451-472
- Tahara A., Matsayama-Yokono A., Nakano R. Someya Yuka and Shimbasaki M., Hypoglycemic effects of antidiabetic drugs in Streptozotocin-Nicotinamide-induced mildly diabetic and Streptozotocin-induced severely diabetic rats. 2008 Nordic Pharmacological Society *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*.Tahara Atsuo
- WHO. 2009. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia: report os WHO/IDE consultation. 50p www.who.org. Accedida en octubre 2010.

- Zick, Y., *Uncoupling insulin signalling by serine/threonine phosphorylation: a molecular basis for insulin resistance*. *Biochem Soc Trans*, 2004. 32(Pt 5): p. 812-6.

11. APENDICE 1: MODELOS ANIMALES PARA EL ESTUDIO DE LA DIABETES TIPO 2.

La investigación etnofarmacológica requiere de un modelo *in vivo* y/o *in vitro*, que permita reproducir de la manera más fidedigna posible la fisiopatología que pretende atacar mediante fármacos.

Modelo	Ventajas	Desventajas
Animales diabéticos espontáneos	<ul style="list-style-type: none"> -Desarrollo de diabetes tipo 2, originada por factores genéticos y desarrollan características similares a la diabetes tipo2 en humanos. -Se da principalmente en animales endogamos en los cuales los antecedentes genéticos son homogéneos y los factores ambientales pueden ser controlados. -La variabilidad de los resultados es mínima y se requiere de una muestra pequeña. 	<ul style="list-style-type: none"> -Son altamente endogamos, la herencia es homogénea y principalmente monogenética. El desarrollo de diabetes es determinada genéticamente diferente a lo que sucede en humanos -Existe una disponibilidad limitada, y es costoso -Mortalidad debida a cetosis. -Necesitan en el tiempo tratamiento con insulina.
Animales diabéticos inducidos por dieta	Desarrollo de diabetes asociado a la obesidad como resultado de la sobre alimentación	<ul style="list-style-type: none"> Requiere un periodo largo de régimen dietario -No desarrolla hiperglucemia franca, por lo que no se puede realizar pruebas sostenibles con agentes antidiabéticos
Animales diabéticos inducidos por agentes químicos	<ul style="list-style-type: none"> Pérdida selectiva de células β pancreáticas (alloxan/STZ) dejando células alfa y delta intactas -La secreción de insulina residual permite que los animales sobrevivan por un periodo largo sin tratamiento de insulina. -La mortalidad por cetosis es relativamente baja. -Comparado con otros modelos es relativamente barato y fácil de mantener. -En el modelo con STZ se inyectan adultos o neonatos. 	<ul style="list-style-type: none"> Desarrollan hiperglucemia por acción citotóxica en las células β. Hay una producción deficiente de insulina y como consecuencia resistencia a la insulina. -El modelo es poco estable en la etapa en que hay regeneración pancreática. Por lo tanto se debe tener cuidado en la evaluación del funcionamiento de las células β durante un experimento a largo plazo. -Variabilidad en el desarrollo de la hiperglucemia -Acción tóxica de los agentes químicos en otros órganos del cuerpo
Animales diabéticos por procedimiento quirúrgico	<ul style="list-style-type: none"> Evita los efectos citotóxicos de los diabetógenos químicos en otros órganos. -El modelo reproduce características parecidas, como la reducción de la masa de los islotes de células β pancreáticas, a la diabetes tipo2 humana. 	<ul style="list-style-type: none"> Envuelve técnicas incómodas y procedimientos postoperatorios. -Ocurren algunos problemas digestivos como resultado de la escisión del páncreas (deficiencia de amilasa). -Deficiencia en la respuesta reguladora de la hipoglucemia, por falta de actividad de las células α liberadoras de glucagón. -Mortalidad Alta
Animales diabéticos transgénicos/knock out	-El efecto de una pequeña mutación los puede hacer diabéticos y ser investigados in vivo.	<ul style="list-style-type: none"> -Procedimiento sofisticado y costoso -Costoso para experimentos regulares.

Tomado de: K. Srinivasan & P. Ramarao 2007

En la siguiente tabla se presenta una comparación entre algunos modelos animales con disminución de las células β , además de presentar sus ventajas y desventajas.

Modelo	RI asociada	Ventajas	Desventajas	Sugerencias
ZDF ratas	Si	Modelo genético asociado con obesidad y RI; fase prediabética presente	Background genético específico (alteración en el receptor de leptina) afectando el apetito; disfunción de las células β , con bases genéticas desconocidas, un marcado metabolismo anormal de lípidos	Estudios sobre el mecanismo de acción de descompensación y de glucotoxicidad
P. obesus gerbils	si	Modelo genético inducido, por exceso nutricional	Background genético particular, adaptado un ambiente desértico; alto costo de los animales	Estudios sobre el mecanismo de acción de descompensación, inducida por cambios en la dieta.
GK ratas	No	Modelo genético espontáneo que no deriva de la obesidad, sino por crianza selectiva de ratas Wistar; presentan una moderada hiperglucemia	Disfunción de las Células β con bases genéticas desconocidas; una pobre respuesta de la insulina a la glucosa in vivo y in vitro.	Estudios sobre las complicaciones de una diabetes crónica
n-STZ ratas	No	Hiperglucemia moderada	Células β sobrantes derivan de una regeneración y aparentemente no están bien diferenciadas, hay una menor respuesta de la insulina a la glucosa y tolbutamida en un páncreas perfundido	Estudios sobre las complicaciones de la hiperglucemia crónica
STZ-NA ratas	No	Fácil inducción en adultos jóvenes, presentan una leve hiperglucemia, las células β residuales están bien diferenciadas; la insulina tiene respuesta in vivo e in vitro a la glucosa y tolbutamida	Células β restantes se encuentran potencialmente dañadas por la STZ; leve resistencia a la insulina, sin embargo se puede inducir con dieta alta en grasas, Hiperglucemia solo sin ayuno	Estudios sobre nuevos fármacos secretagogos de insulina. Estudios a largo plazo de leve/moderada hiperglucemia.

Tomada de: Masiello P., 2006, p.886.

Modelos animales con reducción de las células β inducidas químicamente.

A diferencia de la pancreatectomía, la inducción química de la diabetes ofrece una ventaja en la preservación de ambas poblaciones de células exocrinas y endócrinas.

Además las buenas condiciones de los animales, que permiten realizar estudios sobre los efectos de una dieta con alto contenido en grasas.

Dentro de esta clasificación se encuentran los modelos n-STZ y STZ-NA los cuales de acuerdo a nuestro propósito de investigación, que es demostrar si el nopal presenta una actividad de secretagogo de insulina (Masiello P. et al., 2006).