



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto del extracto acuoso de *Rhipsalis baccifera*  
(Cactaceae) en ratones hiperglucémicos

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

MARÍA GUADALUPE BRIONES VIDAL

TUTORA:

DRA. ELIA BROSLA NARANJO RODRÍGUEZ

Ciudad Universitaria, CDMX, 2019





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.

Datos del alumno

Briones

Vidal

María Guadalupe

58401775

Universidad Nacional Autónoma de

México

Facultad de Ciencias

Biología

310032391

Datos del tutor

Dra.

Elia Brosla

Naranjo

Rodríguez

Datos de sinodal 1

Dra.

Eva

Aguirre

Hernández

Datos de sinodal 2

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

Datos de sinodal 3

Dr.

René de Jesús

Cárdenas

Vázquez

Datos de sinodal 4

Dra.

Helia Reyna

Osuna

Fernández

Datos del trabajo escrito

Efecto del extracto acuoso de *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae) en ratones hiperglucémicos

58 p

2019

## *Agradecimientos académicos*

A la Facultad de Ciencias y la Universidad Nacional Autónoma de México por ser la casa de estudios donde pude recibir mi formación profesional.

A la Dra. Elia Brosla Naranjo Rodríguez, por permitirme trabajar con ella y desarrollar este proyecto.

A la Dra. Eva Aguirre Hernández, por su apoyo en el análisis fitoquímico, así como los valiosos aportes y consejos que me brindó en la revisión del trabajo escrito.

A los Doctores Adolfo Andrade Cetto, René de Jesús Cárdenas y la Dra. Helia Reyna Osuna, por formar parte de mi jurado y por sus observaciones en la revisión de la tesis.

Al Dr. Ibrahim Castro, Biol. Beatriz Hernández Téllez, Prof. Agustín Reyo por todo su apoyo en la realización de este proyecto, por los consejos que me brindaron, los conocimientos que compartieron conmigo y las enseñanzas que me dejaron.

A todos los profesores, doctores y compañeros que fueron parte de mi formación académica, dentro y fuera de la Facultad.

# *Agradecimientos*

A mis padres, Lety y David, por su apoyo incondicional en cada uno de los aspectos de mi vida. Por siempre cuidarme y apoyarme. Por guiarme. Por su paciencia y comprensión. Gracias infinitas a ustedes.

A mi hermano, por siempre hacerme sonreír y querer seguir aquí.

A los amigos que tuve en la prepa, Carlitos, Oswi y Alberto, gracias por su apoyo, por ser como mis hermanos, por los buenos y malos ratos, y siempre gracias por todas las enseñanzas que recibí de ustedes.

A los amigos que hice en la Uni: Pablo, Diego, Karen, Pau y Betsy. Por hacer del camino en nuestra formación como biólogos una experiencia increíble, un gran viaje (:P). Gracias por su apoyo y sus consejos. Son unas personas increíbles y los admiro mucho.

Un agradecimiento enorme a Vane, que más que una amiga se volvió una hermana. Gracias por siempre estar. En las buenas y malas, en lo fácil y difícil, en lo bonito y en lo feo, en la sobriedad y la locura (jaja). Gracias por el crecimiento, el apoyo y la confianza que siempre me has brindado. Atesoro nuestra amistad con todo el corazón. Te adoro.

Gracias enormes a Alberto, por siempre apoyarme, cuidarme, aconsejarme y acompañarme. Por todo lo que has hecho por mí. Por todo lo que hemos pasado juntos, lo que hemos aprendido y compartido. Has sido un pilar para mí en el desarrollo de este proyecto. Me has hecho crecer y ver las cosas de manera diferente. Y me has dejado una enseñanza de vida única.

También a todos los profesores que dejaron una huella en mi formación y me hicieron admirar la vida en sus diferentes y bellas formas. Al profesor Saúl Cano, la profesora Gina Nieto, la Dra. Eva Aguirre, el Profesor Octavio. A mis profesores del CELE, porque el aprender alemán hizo todo más bonito e interesante. A las doctoras Alma y Mirna, y el Dr. Nicolini del INMEGEN, por darme la primera oportunidad de estar en un laboratorio. Y con mucho cariño a la doctora Milagros Méndez, por todas sus enseñanzas y apoyo, tiene toda mi admiración, cariño y respeto.

Y a todos los que alguna vez estuvieron y ya no están.

# Índice

Listado de figuras y tablas.....	6
<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>8</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>11</b>
3.1. Rhipsalis baccifera .....	11
3.1.1 Descripción botánica.....	11
3.1.2 Clasificación y distribución.....	12
3.1.3 Usos tradicionales .....	13
3.1.4 Fitoquímica.....	15
3.2 Diabetes Mellitus .....	15
3.2.1 Descripción de la enfermedad.....	15
3.2.2 Síntomas y complicaciones .....	16
3.2.3 Prevalencia .....	16
3.2.4 Tipos de diabetes.....	17
3.3 Tratamiento .....	23
3.3.1 Modificaciones en el estilo de vida.....	23
3.3.2 Tratamiento Farmacológico .....	24
3.3.3 Tratamiento por herbolaria.....	26
3.4 Metabolismo de glucosa.....	29
3.5 Modelos animales para el estudio de la DM .....	30
3.5.1 Modelos espontáneos .....	30
3.5.2 Modelos inducidos .....	31
<b>4. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>33</b>
<b>5. OBJETIVOS.....</b>	<b>33</b>
5.1 Objetivo general.....	33
5.2 Objetivos particulares.....	33
<b>6. HIPÓTESIS .....</b>	<b>34</b>
<b>7. MATERIALES Y MÉTODO.....</b>	<b>34</b>
7.1 Colecta del material vegetal .....	34
7.2 Preparación del extracto.....	35

7.3 Evaluación del efecto hipoglucemiante.....	36
7.3.1 Manejo de los animales de experimentación.....	36
7.3.2 Curva de concentración de Glucosa de 24 horas.....	36
7.3.3 Inducción de hiperglucemia .....	37
7.3.4 Preparación de tratamientos .....	38
7.3.5 Tratamiento crónico con el extracto de <i>R. baccifera</i> .....	38
7.4 Análisis estadístico.....	39
7.5 Análisis fitoquímico del extracto acuoso de <i>R. baccifera</i> .....	39
<b>8. RESULTADOS</b> .....	40
8.1 Obtención del extracto acuoso .....	40
8.2 Curva de concentración de glucosa 24 h.....	40
8.3 Inducción de hiperglucemia .....	41
8.4 Tratamiento crónico con el extracto de <i>R. baccifera</i> .....	43
8.4.1 Concentración de glucosa en sangre .....	43
8.4.2 Peso de los animales.....	45
8.5 Prueba Oral de Tolerancia de Glucosa (POTG).....	46
8.6 Análisis fitoquímico del extracto .....	48
<b>9. DISCUSIÓN</b> .....	48
<b>10. CONCLUSIONES</b> .....	50
<b>11. REFERENCIAS</b> .....	52

## Listado de figuras y tablas.

### Figuras

**Figura 1.** Ejemplar de *Rhipsalis baccifera*

**Figura 2.** Distribución de *R. baccifera* en México (INEGI, 2018)

**Figura 3.** Ejemplar herborizado de *R. baccifera* registrado en el Herbario Nacional.

**Figura 4.** Proceso de liofilización: a) Baño frío de acetona y hielo seco, b) frascos con la infusión congelada en proceso sublimación, c) extracto liofilizado obtenido.

**Figura 5.** Extracto liofilizado de *R. baccifera*

**Figura 6.** Variación en la concentración de glucosa en sangre (mg/dL) de ratones normoglucémicos durante 24 horas. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar. El ANDEVA no mostró diferencias significativas, por lo que no se aplicó prueba *post-hoc*.

**Figura 7.** Cambios en la concentración de glucosa en el grupo control (n=6) y el grupo diabético (n=30). T0 = antes de administración de STZ-NA, T5 = quinto día post-administración STZ-NA, T7 = séptimo día post-administración STZ-NA. Media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de t-Student pareada para el grupo control y una prueba de Wilcoxon para el grupo con STZ-NA. \* =  $p < 0.05$

**Figura 8.** Cambios en peso de los ratones del grupo control y el grupo con STZ-NA. T0 = antes de administración, T5 = día 5 post-administración, T7 = día 7 post-administración. Media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de t-Student pareada. \* =  $p < 0.05$ .

**Figura 9.** Concentración de glucosa en sangre (mg/dL) de los ratones en ayunas durante el tratamiento crónico. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar.

**Figura 10.** Porcentaje de Variación en la concentración de glucosa debido al tratamiento. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. Sólo ocurrieron diferencias significativas entre los grupos diabéticos y el control. \* =  $p < 0.05$

**Figura 11.** Porcentaje de variación en el peso de los ratones. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. No hubo diferencias significativas.

**Figura 12.** Prueba oral de tolerancia a la glucosa en ratones con tratamiento crónico. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar.

**Figura 13.** Área bajo la curva la POTG. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. Sólo ocurrieron diferencias significativas entre los grupos diabéticos y el control.  $*=p<0.05$

**Figura 14.** Cromatografía en capa fina del extracto acuoso de *R. baccifera* y estándares de flavonoides. Ext= extracto acuoso de *R. baccifera*, Quer.= quercetina, Rut.= rutina.

## **Tablas**

**Tabla 1.** Usos medicinales de *R. baccifera*

**Tabla 2.** Algunos genes conocidos, potenciales marcadores de DMT2. Tomado de (González-Sarmiento *et al.*, 2008)

**Tabla 3.** Especies de la familia Cactaceae reportadas en México como hipoglucemiantes. (Tomado de Andrade-Cetto & Heinrich, 2005)

**Tabla 4.** Hormonas reguladoras de la glucemia, órganos donde se sintetizan y su función (Tomado de Aronoff *et al.*, 2004).

**Tabla 5.** Grupos experimentales y su tratamiento correspondiente.

**Tabla 6.** Placas de cromatografía en capa fina.

## 1. RESUMEN

*Rhipsalis baccifera* (J.S. Muell) es un cactus epífito, de tallos largos, delgados y colgantes. En México se utiliza tradicionalmente como tratamiento contra la Diabetes Mellitus. Sin embargo, a la fecha existe escasa investigación científica sobre sus efectos como antidiabético.

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, causada por alteraciones en la secreción y/o acción de la insulina. La Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) es la más común, presente en el 90-95% de los pacientes diabéticos, por lo que se ha vuelto un verdadero problema de Salud Pública y socioeconómico.

El propósito de este proyecto fue evaluar el efecto del extracto acuoso de *R. baccifera* sobre la concentración de glucosa en un modelo murino de DMT2 inducida por Estreptozotocina (STZ) y Nicotinamida (NA).

Se colectaron ejemplares de *R. baccifera* en el mes de noviembre de 2017 en el municipio de Xochitlan de Vicente Suárez, Puebla. A partir de los tallos frescos se preparó una infusión que posteriormente fue liofilizada.

Se utilizaron ratones macho ICR a los que se les indujo hiperglucemia con STZ-NA vía intraperitoneal (150 y 110 mg/kg, respectivamente). Al grupo control se le administró la solución vehículo correspondiente. Una vez establecida la hiperglucemia, los ratones fueron separados en 6 grupos experimentales: Control normoglucémico, control negativo (hiperglucémico + solución salina), control positivo (diabético + Glibenclamida 5 mg/kg), y tres grupos con el extracto acuoso de *R. baccifera* a 1, 10 y 100 mg/kg, respectivamente. Durante 9 semanas se administró vía intragástrica cada 24 horas el tratamiento correspondiente. Cada semana se cuantificó la concentración de glucosa en ayunas y al final del tratamiento se aplicó una Prueba oral de tolerancia a la glucosa.

No se observó un efecto hipoglucemiante en ninguna de las dosis evaluadas del extracto acuoso de *Rhipsalis baccifera* ni con el tratamiento de glibenclamida en este modelo experimental de diabetes. Una posible causa de esto es la elevada hiperglucemia inducida

por la STZ-NA, que causó tal daño en el páncreas, impidiendo la respuesta por parte de las células  $\beta$  ante la administración de glibenclamida. Por otro lado, el método de obtención del extracto también pudo haber influido, ya que pudo haber provocado la degradación de algunos compuestos termolábiles.

El análisis fitoquímico preliminar del extracto reveló la presencia de quercetina y rutina, compuestos con actividad hipoglucemiante previamente reportada, por lo que no se puede descartar que *R. baccifera* tenga actividad hipoglucemiante.

Los resultados obtenidos en la presente investigación no permiten descartar la actividad hipoglucemiante atribuida a *R. baccifera*, por lo que se sugieren posteriores estudios.

## 2. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es considerada una epidemia a nivel mundial. Se estima que cerca de 422 millones de personas tenían diabetes en 2014 (Organización Mundial de la Salud, 2017) y la cifra va en aumento. México se encuentra entre los países con mayor número de diabéticos, donde más del 9% de la población adulta ha sido diagnosticada con DM (Hernández-Ávila *et al.*, 2013). Además, la DM es la primera causa de muerte a nivel nacional, con una tasa de mortalidad que aumenta 3% cada año (Gil-Velázquez *et al.*, 2013). Debido a esto, la DM representa un fuerte desafío, tanto para la sociedad como para los servicios de salud.

En países en vías de desarrollo, cerca del 80% de la población, sobre todo la rural, se basa en remedios de la medicina tradicional para cubrir las necesidades del cuidado de su salud. Por otro lado, en países desarrollados, ha resurgido el interés por la medicina herbal, dada la preferencia del consumo de productos naturales (Bais *et al.*, 2017). Es así como la herbolaria se ha convertido en una de las vías más socorridas para el control de la DM y que ofrecen al enfermo la esperanza de encontrar una curación (Aguilar-Contreras & Xolalpa-Molina, 2002).

*Rhipsalis baccifera* es un cactus epífita utilizado en México como antidiabético y es consumido a modo de una infusión preparada con los tallos. Sin embargo, a la fecha no hay estudios que comprueben su actividad antidiabética o hipoglucemiante.

Por ello, el propósito de este trabajo fue evaluar el efecto de un extracto acuoso de *R. baccifera* en un modelo murino de diabetes mellitus inducida por estreptozotocina-nicotinamida.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1. *Rhipsalis baccifera*

##### 3.1.1 Descripción botánica

*Rhipsalis baccifera* (J. S. Muell) Stearn es un cactus epífita que se caracteriza por tener tallos largos, delgados y colgantes. Sus raíces son fibrosas y con el tiempo se desarrollan raíces adventicias. Los tallos son de 10 a 20 cm de largo, cilíndricos y delgados, con ramificación acrótona, dicotómica o en verticilos de 6 a 8 ramas, con textura suave y color verde claro (Anderson, 2001; Arias *et al.*, 2012) (Figura 1). Las flores crecen en primavera o invierno, en areolas laterales, próximas al ápice del tallo, con pericarpelo globoso y verdoso, carecen de aroma y su antesis dura 2 días (Almeida *et al.*, 2013; Anderson, 2001; Arias *et al.*, 2012; Cota-Sánchez, 2004).

Los frutos son globosos, de 4.5 a 8 mm de largo y 4.5 a 7 mm de ancho, color blanco o con tintes rosados, traslúcidos y de rápida maduración; cada uno contiene de 10 a 100 semillas negras y pequeñas (Anderson, 2001; Arias *et al.*, 2012). Éstas presentan un apéndice gelatinoso en la región del hilo micropilar, el cual les permite adherirse al forófito o planta huésped (Guaraldo *et al.*, 2013).



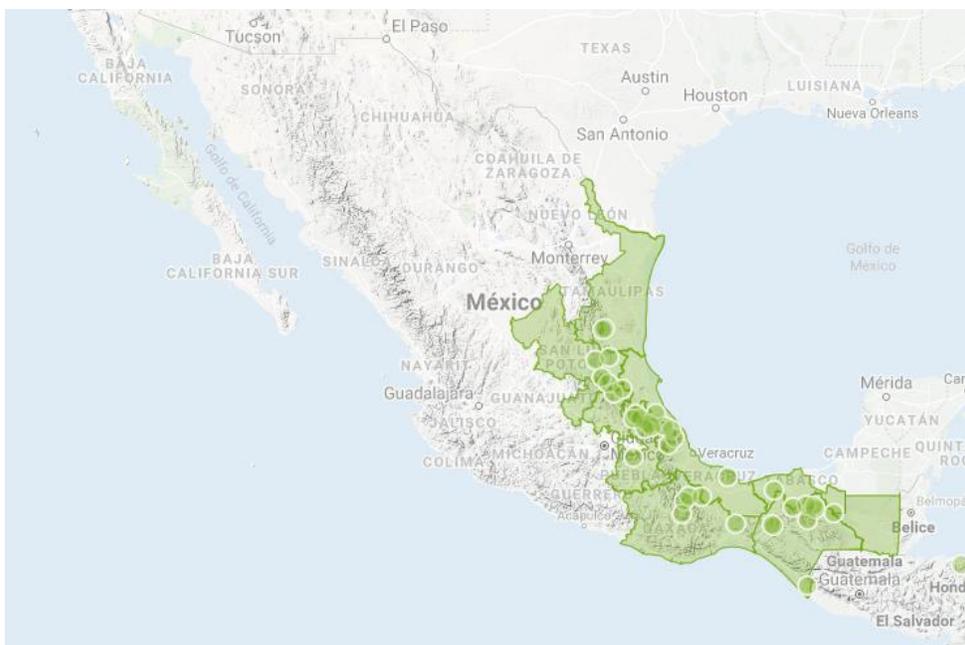
**Figura 1.** Ejemplar de *Rhipsalis baccifera*

### 3.1.2 Clasificación y distribución

Reino: Plantae  
Orden: Caryophyllales  
Familia: Cactaceae  
Subfamilia: Cactoideae  
Tribu: Rhipsalideae  
Género: *Rhipsalis*  
Especie: *R. baccifera*  
(Anderson, 2001)

Las especies de *Rhipsalis* son representativas de la flora epífita del Neotrópico, pero la especie *R. baccifera* se encuentra, además, ampliamente distribuida en el Paleotrópico. Su rango de distribución abarca desde el norte de Argentina hasta Florida y las Islas del Caribe, además de África tropical, Madagascar y Sri Lanka, siendo la única especie de cactus con poblaciones naturales fuera del continente americano (Anderson, 2001; Calvente *et al.*, 2011; Cota-Sánchez & Bomfim-Patricio, 2010).

En México, la especie *R. baccifera* subsp. *baccifera* se encuentra distribuida en los estados de Campeche, Chiapas, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán, señalados en la Figura 2 (Guzmán *et al.*, 2003; Villaseñor, 2016).



**Figura 2.** Distribución de *R. baccifera* en México (INEGI, 2018)

### 3.1.3 Usos tradicionales

El amplio rango de distribución de *R. baccifera* ha permitido que una gran diversidad de comunidades la conozcan y den diferentes usos, que van desde alimenticio hasta medicinal. El uso de *R. baccifera* en la medicina tradicional es diverso, así como su forma de consumo (Tabla 1).

**Tabla 1.** Usos medicinales de *R. baccifera*

Uso medicinal	País de consumo	Forma de consumo	Referencia
Antidiabético	México	Infusión de tallos o planta completa, masticando los frutos frescos.	(Aguilar-Contreras & Xolalpa-Molina, 2002; Andrade-Cetto & Heinrich, 2005; Villavicencio & Pérez, 2006)
Antiinflamatorio	Cuba	Cataplasma, macerado, extracto o infusión.	(Fuentes, 2005)
Analgésico	Colombia	-No existe información-	(Carbonó-Delahoz & Dib-Diazgranados, 2013)
Fracturas	México	Emplasto.	(Meza-Nivón., 2011)
Mordedura de serpiente	Bolivia  Guayana Francesa	El tallo se mastica y se bebe su jugo.  Tallo triturado junto con el jugo de <i>Lonchocarpus chrysophyllus</i> .	(Bourdy, Chavez De Michel, & Roca-Coulthard, 2004)  (De Filippis, Maina, &

			Crepin, 2004)
Herida de mantarraya	Brasil Guayana Francesa	Cataplasma con el tallo de la planta, junto con <i>Philodendron sp.</i>	(De Filippis, Maina, & Crepin, 2004, Arreola <i>et al.</i> , 2013)
Contra problemas digestivos	México	Macerado junto con otras plantas.	(Meza-Nivón., 2011; Villavicencio & Pérez, 2006)
Contra enfermedades infecciosas	Brasil	Infusión con los tallos.	(Brandelli, Vieira, Macedo, & Tasca, 2013)
Antitumoral	Brasil	-No existe información-	(Valente <i>et al.</i> , 2007)
Otros	México	Jugo de los frutos (contra mezquinos), infusión de la raíz (contra abscesos), los tallos (ansiolítico).	(Guzmán-Gutiérrez, Reyes-Chilpa, & Bonilla-Jaime, 2014; Meza-Nivón., 2011; Villavicencio & Pérez, 2006)

A pesar de la gran diversidad de usos medicinales reportados para *R. baccifera*, a la fecha se han realizado pocos estudios científicos que comprueben su efectividad contra los distintos padecimientos por los que se utiliza, así como los mecanismos de acción que subyacen su potencial farmacológico. Entre los trabajos que evalúan el efecto de *R. baccifera*, se encuentra el estudio realizado por Feng *et al.* (1962) donde se estudia su

efecto espasmogénico y vasoconstrictor, y en estudios más recientes se evalúa su efecto como antibiótico (Brandelli *et al.*, 2013) y antitumoral (Valente *et al.*, 2007).

#### 3.1.4 Fitoquímica

En un trabajo realizado por Bautista-San Juan *et al.*, (2017), se analizó la composición química de diferentes extractos del tallo y frutos de *R. baccifera*. Para ello utilizaron 10 g de material vegetal (tallos frescos y secados a 40 y 60°C), a los que se agregaron 60 ml de disolventes en el siguiente orden: metanol-agua (3:7), metanol, diclorometano y hexano. Se dejaron por 72 horas, en oscuridad y a temperatura ambiente para obtener por separado los correspondientes extractos. Para la detección de flavonoides utilizaron la prueba de Shinoda, para taninos agregaron a cada extracto cloruro férrico al 5%; para saponinas agregaron aceite mineral con agitación vigorosa, y para la detección de alcaloides utilizaron el reactivo de Dragendorff.

En los tallos se encontró la presencia de terpenos, taninos, saponinas y alcaloides, mientras que en los frutos sólo terpenos, taninos y saponinas. Los autores sugieren que el potencial de los elagitaninos para prevenir la obesidad, podría sustentar el uso de *R. baccifera* como antidiabético o hipoglucemiante (Bautista-San Juan *et al.*, 2017).

Respecto a la familia Cactaceae, estudios fitoquímicos de tallos, raíces, flores y frutos de diferentes especies, han llevado a la detección y aislamiento de triterpenoides, glicósidos de triterpenoides, esteroides, flavonoides, glicósidos de flavonoides, alcaloides, pigmentos de betalaina, entre otros (Valente *et al.*, 2007).

### 3.2 Diabetes Mellitus

#### 3.2.1 Descripción de la enfermedad

La Diabetes Mellitus (DM) es un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia, la cual es provocada por defectos en la secreción y/o acción de la insulina. Los procesos patogénicos involucrados en el desarrollo de diabetes son diversos, y van desde la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas, hasta anomalías que resultan en una resistencia a la insulina (American Diabetes Association, 2014).

### 3.2.2 Síntomas y complicaciones

Los síntomas clásicos de DM son poliuria (excreción muy abundante de orina), polidipsia (sed excesiva), polifagia (sensación urgente de hambre), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio, los cuales pueden aparecer súbitamente (Almaguer-Herrera *et al.*, 2012; Organización Mundial de la Salud, 2017).

La DM puede producir daño a los vasos sanguíneos, derivando en micro y macroangiopatías. Las microangiopatías provocan principalmente daños en la retina, el glomérulo renal y el sistema nervioso periférico, mientras que en las macroangiopatías el sistema cardiovascular es el más afectado (González-Sarmiento *et al.*, 2008). Estas complicaciones, a largo plazo, pueden derivar en retinopatía con potencial pérdida de la visión, nefropatía, que puede llevar a fallo renal, neuropatía periférica con riesgo de úlceras en los pies, amputaciones o artropatía de Charcot, así como neuropatía autónoma, la cual provoca síntomas gastrointestinales, genitourinarios y cardiovasculares, así como disfunción sexual. Por su parte, la hiperglicemia crónica también puede llevar a deterioro en el crecimiento, así como la susceptibilidad a ciertas infecciones (American Diabetes Association, 2014).

### 3.2.3 Prevalencia

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), cerca de 422 millones de personas tenían diabetes en 2014, casi cuatro veces más que en 1980, y la prevalencia ha aumentado con mayor rapidez en países con medianos y bajos ingresos. Se estima que en 2015 la DM fue causa directa de 1.6 millones de muertes, y otras 2.2 millones fueron atribuidas a la hiperglicemia (Organización Mundial de la Salud, 2017).

México se encuentra entre los países con mayor número de diabéticos, sólo después de China, India, Estados Unidos y Rusia (Hernández-Ávila *et al.*, 2013). Además, en México la DM es la primera causa de muerte a nivel nacional, con una tasa de mortalidad que aumenta 3% cada año (Gil-Velázquez *et al.*, 2013). Tan sólo en 2012, poco más del 9% de la población adulta en México reportó tener un diagnóstico previo de diabetes, lo que equivale a 6.4 millones de personas, y es más frecuente en mujeres que en hombres. Del

total de personas diagnosticadas con diabetes, sólo el 85.75% atiende esta condición, ya sea en alguna institución de salud pública o en el sector privado (Hernández-Ávila *et al.*, 2013).

En México se han impulsado políticas intersectoriales relacionadas con la salud alimentaria para combatir uno de los más importantes factores de riesgo, que es la obesidad. Así mismo, desde hace más de una década se han diseñado estrategias con el propósito de mejorar la atención que se otorga a los pacientes que ya padecen la enfermedad, tales como PREVENIMSS, PREVENISSSTE, grupos de autoayuda, Unidades de Especialidades Médicas para Enfermedades Crónicas, entre otras (Hernández-Ávila *et al.*, 2013).

### 3.2.4 Tipos de diabetes

Desde mediados del siglo XIX se han identificado al menos dos tipos de DM, los cuales se distinguían por presentarse en pacientes obesos o en delgados. Draper y colaboradores (citado por Arias-Díaz *et al.*, 2007) clasificaron la DM en grupo I y II, siendo característica de la primera su aparición en etapas juveniles y en personas delgadas, mientras que la segunda se presenta en adultos con exceso de grasa corporal. Lister y colaboradores (citado por Arias-Díaz *et al.*, 2007) designaron a estos tipos corporales como Tipo I y Tipo II, aunque esta terminología no tuvo general aceptación sino hasta 1976, cuando fue reintroducida por A.G. Cudworth (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

La mayoría de los casos de diabetes entran en estas dos grandes categorías etiopatogénicas, conocidas como Tipo 1 (antes llamada insulino-dependiente o juvenil, la cual es causada por la deficiencia absoluta en la secreción de insulina), y la Tipo 2 (antes llamada no insulino-dependiente o de la edad adulta), la cual es la más prevalente y es causada tanto por la resistencia a la acción de la insulina como por su secreción inadecuada (American Diabetes Association, 2014; Organización Mundial de la Salud, 2017). El asignar un tipo de diabetes a un individuo depende regularmente de las circunstancias presentes al momento del diagnóstico y muchos individuos no caben en una sola clase (American Diabetes Association, 2014).

#### 3.2.4.1 Diabetes Mellitus Tipo 1 (DMT1)

Este tipo de DM representa el 10% de los casos de diabetes, con un pico de incidencia entre los 10-14 años. La DMT1 se caracteriza por la destrucción autoinmune de células  $\beta$

pancreáticas, lo que generalmente lleva a una deficiencia absoluta de insulina. Este tipo de DM, a su vez se puede diferenciar en tipo autoinmune e idiopático (American Diabetes Association, 2014; González-Sarmiento *et al.*, 2008) .

#### *a. Autoinmune*

Este tipo de DM1, como su nombre lo indica, se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  pancreáticas. La tasa de destrucción es variable, aunque generalmente es más alta en niños que en adultos. Algunos pacientes presentan como primera manifestación de la enfermedad una acumulación de cetonas en la sangre (cetoacidosis), derivadas del metabolismo de lípidos que ocurre cuando el cuerpo no puede utilizar la glucosa como fuente de energía (American Diabetes Association, 2015). Otros pacientes presentan ligera hiperglucemia en ayunas que se dispara a severa y/o cetoacidosis en presencia de una infección o estrés. Algunos individuos pueden retener cierta actividad de sus células  $\beta$ , suficiente para evitar una cetoacidosis, pero eventualmente se volverán dependientes de insulina, por lo que a este tipo de DM se le conocía como insulino-dependiente. La destrucción autoinmune de las células  $\beta$  tiene múltiples predisposiciones genéticas, así como algunos factores ambientales, los cuales aún no se tienen bien definidos. Los pacientes que padecen DM1 también suelen ser propensos a otro tipo de enfermedades autoinmunes, tales como enfermedad de Grave, de Addison, tiroiditis de Hashimoto, vitiligo, celiaquía, Miastenia gravis y anemia perniciosa (American Diabetes Association, 2014).

#### *b. Idiopática*

En esta forma de DM1 los pacientes presentan déficit en la producción de insulina, sin mostrar evidencia de autoinmunidad de células  $\beta$  y sin ser propensos a cetoacidosis. Se ha encontrado que este tipo de DM es heredable y la mayoría de los pacientes son de ascendencia africana o asiática (American Diabetes Association, 2014; González-Sarmiento *et al.*, 2008).

#### 3.2.4.2 Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

Este tipo de diabetes aparece durante el embarazo y se presentan valores de hiperglucemia generalmente menores a los establecidos para diagnosticar diabetes. Las mujeres que

padecen este tipo de diabetes, tienen mayor riesgo de sufrir complicaciones durante su embarazo, así como de desarrollar diabetes de Tipo 2 (Organización Mundial de la Salud, 2017).

#### 3.2.4.3 Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2)

Es el tipo más común de DM, presente en el 90-95% de los casos. Se caracteriza por resistencia a la acción de la insulina a nivel tisular (en hígado, músculo y tejido adiposo) y defecto o insuficiencia en la capacidad secretora de las células  $\beta$  pancreáticas, lo que, en conjunto, lleva inicialmente a una hiperglucemia. La hiperglucemia persistente causa glucotoxicidad, incrementa el estrés oxidativo y lipotoxicidad, que causa una posterior reducción en la secreción de insulina debido al deterioro progresivo de las células  $\beta$  (Upadhyay *et al.*, 2018). El deterioro de la secreción de insulina y los defectos en su acción frecuentemente coexisten en el mismo paciente, pero aún no se tiene claro cuál de las dos anormalidades, si es que sólo una, es la causa primaria de hiperglucemia (American Diabetes Association, 2014).

Una de las características de este tipo de DM es la resistencia a la insulina (RI) a nivel periférico que se puede entender como la disminución de la capacidad de la insulina para ejercer sus acciones biológicas en los tejidos diana a concentraciones que son eficaces en individuos sanos (González-Sarmiento *et al.*, 2008). La RI se relaciona con factores genéticos, obesidad, sedentarismo y la edad (Dendup *et al.*, 2018), y es causada, sobre todo, por la acumulación de ácidos grasos libres en hígado y músculo (Fonseca, 2009).

La RI puede existir desde años antes del diagnóstico de la DM. En una primera fase, la RI es compensada por un incremento en la secreción de insulina, lo que se conoce como hiperinsulinemia compensadora. Sin embargo, con el tiempo este mecanismo falla y la función de las células  $\beta$  se deteriora progresivamente, probablemente por depósito de material amiloide secretado por las células  $\beta$ , los ácidos grasos libres (AGL) y la propia acción de las alteraciones metabólicas; mientras que la RI permanece (González-Sarmiento *et al.*, 2008). Este deterioro suele encontrarse muy avanzado para el momento en que los niveles de glucosa plasmática alcanzan los rangos diabéticos, y continúa empeorando conforme la diabetes avanza (Fonseca, 2009)

La hiperglucemia por sí misma y la elevación de los AGL, que a menudo acompañan a la RI, contribuyen al deterioro de la función de las células  $\beta$  tras la aparición de la enfermedad (González-Sarmiento *et al.*, 2008). Existen dos procesos probablemente implicados en las alteraciones en la secreción de insulina: la glucotoxicidad y lipotoxicidad. En la primera, la hiperglucemia crónica reduce los gránulos de secreción de insulina de las células  $\beta$ , disminuyendo la cantidad de insulina disponible para ser liberado en respuesta a un nuevo estímulo de glucosa. La disminución en los niveles de glucosa permite la regranulación de las células  $\beta$ , seguido de una mejor respuesta aguda de la insulina. En el caso de lipotoxicidad, el incremento prolongado en los niveles de AGL, afecta negativamente la conversión de proinsulina a insulina, afectando eventualmente la secreción de insulina. La infiltración de lípidos hacia los islotes pancreáticos también puede contribuir al deterioro de las células  $\beta$  (Fonseca, 2009).

La acumulación de grasa en hígado, músculos y páncreas, provocada por un consumo excesivo de calorías e inactividad física, así como procesos de inflamación, estrés oxidativo y reticular, también contribuyen al deterioro de las células  $\beta$  pancreáticas (Dendup *et al.*, 2018). Hay datos que soportan la existencia de una predisposición genética al deterioro de las células  $\beta$ , ya que se han encontrado múltiples mutaciones genéticas (Fonseca, 2009).

#### a. Etiología y factores de riesgo para DMT2

La etiología de la enfermedad es multifactorial, en donde intervienen tanto factores genéticos como ambientales, como el consumo excesivo de calorías, el sedentarismo y la obesidad (González-Sarmiento *et al.*, 2008).

##### *Factores genéticos*

Hay gran cantidad de evidencia a favor la existencia de una fuerte predisposición genética a desarrollar DMT2. Se ha visto que no se presenta un patrón mendeliano definido, además, cada genotipo puede mostrar más de una expresión fenotípica, así como varios genotipos pueden dar un fenotipo muy similar. Los defectos genéticos enmarcados en la DMT2 y la RI no son en un solo gen, sino que existe cierto polimorfismo y hay varios genes que pueden estar involucrados (Tabla 2)

**Tabla 2.** Algunos genes conocidos, potenciales marcadores de DMT2. Tomado de (González-Sarmiento *et al.*, 2008)

Metabolismo de glucosa	Acción de insulina	Sensibilidad / RI	Obesidad
GLUT-1	Shc	PPAR- $\gamma$	Leptina
GLUT4	IRS-1-4	PC-1	Resistina
Hexoquinasa II	Fosfatidilinositol		Adiponectina
Fosfofructoquinasa	3 Quinasa ( $\alpha$ , $\beta$ )		TNF- $\alpha$
Glucogenosintetasa	Proteinquinasa $\alpha$ $\beta$		Neuropéptido Y
Glucogenina			Calpaína 10

### *Factores ambientales*

Existen importantes factores que, junto con la presencia de otras enfermedades, suelen estar relacionados con el desarrollo de DMT2. Estos pueden ser socioeconómicos, demográficos o conductuales, tales como obesidad, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, síndrome metabólico y la actividad física (Dendup *et al.*, 2018).

El sobrepeso y la obesidad, junto con la inactividad física y alimentación inadecuada, son los factores de riesgo más importantes involucrados en el desarrollo de la DMT2 (Gil-Velázquez *et al.*, 2013). A pesar de que el origen de DMT2 es multifactorial, cerca del 80% de los pacientes con DMT2 son obesos, lo que sugiere que la obesidad juega un papel central en la progresión de la enfermedad (Malin & Kashyap, 2016).

Además de la obesidad, el tener un Índice de Masa Corporal (IMC)  $>23$  en mujeres y  $>25$  en hombres, aumenta el riesgo de desarrollar DM. Otros factores de riesgo son los antecedentes de enfermedad cardiovascular, la dislipidemia o haber estado en tratamiento de esquizofrenia. En mujeres, además, el síndrome de ovario poliquístico, haber tenido hijos con peso  $>4$  kg y tener antecedentes de Diabetes mellitus gestacional son otros factores de riesgo (Gil-Velázquez *et al.*, 2013).

Se tiene la hipótesis que ciertas características ambientales incrementan la exposición a factores de riesgo de DMT2, al favorecer o no ciertos estresores conductuales, psicosociales y físicos. El ambiente físico y social puede influir en elecciones y comportamientos, por

ejemplo, la disponibilidad y/o proximidad a espacios libres, áreas verdes, sitios para caminar, etc., pueden alentar la actividad física e interacción social. Así mismo, la cercanía a ciertas fuentes de alimento, influyen en el tipo de comida a la que se tiene acceso. Por otro lado, la inseguridad y el desorden social pueden incitar el miedo y aislamiento social e impedir la actividad física. Las actividades sociales también pueden verse afectadas cuando los tiempos de traslado son muy largos. La exposición prolongada a múltiples estresores ambientales adversos puede llevar a la carga alostática y llevar al desgaste de los sistemas fisiológicos del cuerpo que responden a ella. La tensión acumulada por el estrés puede llevar a la liberación de sustancias, tales como cortisol y citosina, que pueden acelerar el desarrollo y progresión de enfermedades crónicas, incluyendo la DMT2. El estrés también puede motivar la alimentación no sana, fumar, beber y afectar el sueño. Estos comportamientos no sanos y la baja salud mental pueden impactar en cambios metabólicos y el peso corporal, lo que, en conjunto, incrementan el riesgo a desarrollar DMT2 (Dendup *et al.*, 2018).

#### b. Diagnóstico

El diagnóstico de DMT2 se basa en la presencia de una de las tres anomalías del metabolismo de glucosa: 1) Alteraciones de la glucosa plasmática en ayunas (AGPA), 2) elevación ocasional de la glucemia en cualquier momento del día y en cualquier circunstancia, siempre que se acompañe de síntomas como poliuria, polidipsia y adelgazamiento, y 3) alteraciones a las dos horas en la prueba oral de tolerancia de glucosa (2h-POTG) (González-Sarmiento *et al.*, 2008)

Durante décadas, el diagnóstico de diabetes se basaba en criterios de glucosa, ya fuera la Glucosa Plasmática en Ayunas (GPA) o 2-h POTG, con el punto de corte diagnóstico de GPA a  $\geq 126$  mg/dL y de  $\geq 200$  mg/dL para 2-h POTG (American Diabetes Association, 2014). En la actualidad, otro marcador de glucemia ampliamente utilizado es la hemoglobina glicosilada (HbA1c). Este valor refleja los niveles promedio de glucosa en un periodo de 2 a 3 meses. Esta prueba juega un papel crítico en el manejo de pacientes con diabetes, ya que se correlaciona bien con complicaciones micro y macrovasculares y es el biomarcador estándar ampliamente utilizado para la adecuación del manejo de la glucemia. Actualmente, estas pruebas ya se encuentran altamente estandarizadas y muestran algunas

ventajas sobre la GPA, ya que no se requiere ayuno y hay menor variación día-a-día entre periodos de estrés o enfermedad; sin embargo, los costos suelen ser más elevados y aún no está disponible en algunas regiones (American Diabetes Association, 2014).

Se puede presentar discordancia entre las diferentes pruebas diagnósticas, las cuales pueden ser provocadas por variabilidad en las mediciones, cambio a través del tiempo o debido a que cada prueba (GPA, 2-h POTG y HbA1c) evalúa diferentes procesos fisiológicos. Como en la mayoría de pruebas diagnósticas, éstas deben repetirse para descartar errores de laboratorio, a menos que el diagnóstico tenga un fundamento clínico, como es la presencia de los síntomas clásicos de hiperglucemia o una crisis hiperglucémica. En el caso de que dos diferentes pruebas se apliquen al mismo paciente y en ambas se obtengan valores superiores al valor umbral, entonces el diagnóstico se confirma. Por el contrario, si los resultados son discordantes, se debe repetir la prueba cuyo valor fue superior al umbral, y el diagnóstico debe hacerse con base en la prueba confirmada (American Diabetes Association, 2014).

### 3.3 Tratamiento

Existen diferentes tratamientos contra la DMT2, los cuales se enfocan en diferentes aspectos de la enfermedad y buscan: 1) la desaparición de los síntomas derivados de la hiperglucemia, 2) evitar las descompensaciones agudas de la enfermedad, y 3) retrasar o disminuir el riesgo de complicaciones a largo plazo (como micro y macroangiopatías), así como la mortalidad; además, se busca mantener una buena calidad de vida para los pacientes (Goday *et al.*, 2001).

#### 3.3.1 Modificaciones en el estilo de vida

Debido a que la obesidad es uno de los principales factores de riesgo para desarrollar DM, uno de los enfoques principales en el tratamiento está orientado a modificar ciertos aspectos en el estilo de vida de los pacientes, para que éstos puedan alcanzar un peso saludable. Se ha reportado que la combinación de una dieta balanceada, junto con un incremento en la actividad física, es una buena estrategia para el tratamiento de DMT2, ya que dosis altas de actividad física generalmente incrementa la sensibilidad a la insulina y la función de las células  $\beta$ . Sin embargo, no todas las personas con hiperglucemia reaccionan de manera

favorable a la intervención en su estilo de vida. Además, aunque las modificaciones en el estilo de vida muestran ser eficaces, en muchos casos se dificulta la adherencia a la dieta y al ejercicio a largo plazo (Malin & Kashyap, 2016).

### 3.3.2 Tratamiento Farmacológico

Debido a las dificultades que se presentan en el tratamiento de DMT2, es necesario el uso de agentes farmacológicos dirigidos a combatir la resistencia a la insulina, la disfunción de las células  $\beta$  y la obesidad.

- *Biguanidas*: La biguanida más utilizada, tanto en adultos como en niños, es la metformina. Éste fármaco incrementa la sensibilidad a la insulina mediante la supresión de la gluconeogénesis hepática, la oposición a la acción del glucagón y la estimulación del consumo de glucosa; además, es una opción atractiva debido a que favorece la pérdida de peso (Goday *et al.*, 2001; Upadhyay *et al.*, 2018). Se pueden presentar algunos efectos secundarios gastrointestinales (náusea, anorexia y diarrea), que tienden a desaparecer después de algunas semanas con el tratamiento. El tratamiento con metformina puede reducir el riesgo de progresión de prediabetes a DM, por lo que puede ser útil en individuos prediabéticos que fallaron en modificar su estilo de vida. Además, el costo de este tratamiento es muy bajo (aproximadamente 10 USD por mes) (Malin & Kashyap, 2016; Upadhyay *et al.*, 2018). Sin embargo, se ha visto que el uso de otras biguanidas (fenformina y buiformina) muestra un elevado riesgo de acidosis láctica, por lo que el uso de biguanidas se ha visto frenado (Goday *et al.*, 2001).
- *Sulfonilureas*: Las sulfonilureas (SU), tales como clorpropamida, gliburida y glibenclamida, son secretagogos de insulina, es decir, estimulan la secreción de insulina. Las SU se unen al receptor de SU (SUR)1 en la membrana de las células  $\beta$ , inhibiendo el canal de  $K^+$  sensible a ATP, lo que genera la despolarización de la célula, abriendo los canales de  $Ca^{2+}$  sensibles a voltaje y permitiendo la fusión de gránulos de insulina con la membrana celular, de esta manera, liberando la insulina al torrente sanguíneo. Dado que este efecto es independiente de las concentraciones de glucosa, existe el riesgo de una hipoglucemia. Pueden ser utilizadas como monoterapia, aunque por lo regular se usa en combinación con metformina. Los efectos secundarios más comunes de las SU son la hipoglucemia y el aumento de peso, aunque la hipoglucemia

suele ser más frecuente en pacientes ancianos o con insuficiencia renal. El costo de este tratamiento es bajo, de 4 a 20 USD por mes (Upadhyay *et al.*, 2018).

- *Meglitinidas o glinidas*: Entre ellas se encuentran la repaglinida, mitglinida y nateglinida. Las mitglinidas, al igual que las SU, actúan uniéndose a SUR1, aunque en un sitio diferente, pero de igual forma llevando a la liberación de insulina. Su afinidad es más baja que la de las SU, por lo que su tiempo de acción es más corto. Al igual que las SU, pueden administrarse como monoterapia o en combinación con otros medicamentos; además, también pueden provocar hipoglucemia y aumento de peso, aunque en menor intensidad que las SU (Upadhyay *et al.*, 2018).
- *Tiazolidinedionas (TZD) o agonistas PPAR-gamma*: Las TZD primariamente actúan en el músculo esquelético y tejido adiposo activando PPAR $\gamma$  (Preoxisome-proliferation-activated Receptor), de esta manera, incrementando el consumo de glucosa en el músculo esquelético (Goday *et al.*, 2001; Upadhyay *et al.*, 2018). Estos fármacos son efectivos para mejorar la sensibilidad a la insulina en tejido adiposo, hígado y músculo, así como para mejorar/restaurar la función de las células  $\beta$ . Sin embargo, hay reservas en su prescripción, ya que puede favorecer el aumento de peso, aunque este aumento en la grasa es parte de su mecanismo para incrementar la sensibilidad a la insulina (Malin & Kashyap, 2016; Upadhyay *et al.*, 2018).
- *Inhibidores de  $\alpha$ -glucosidasas*: El miglitol y acarbosa son los más utilizados. Éstos inhiben de forma competitiva y reversible las alfa glucosidasas de las microvellosidades intestinales, retrasando la absorción de carbohidratos complejos y disminuyendo el pico glucémico postprandial, sin provocar hipoglucemia. La dosis inicial aconsejada es de 25 mg al iniciar la comida, y debe ser aumentada semanalmente para minimizar los efectos secundarios hasta llegar a 300 mg/día, que es la dosis habitual. El efecto secundario más importante observado con estos fármacos es la flatulencia, que se llega a observar en el 30% de los casos, así como diarreas, presentes en el 16% de los casos. Éstos fármacos pueden ser utilizados como monoterapia o en combinación con SUs, metformina o insulina (Goday *et al.*, 2001; Upadhyay *et al.*, 2018).
- *Insulina*: Antes la insulina era considerada como la última opción para el tratamiento de DMT2, cuando la función de las células  $\beta$  se encuentra severamente limitada. Sin embargo, parece ser benéfica en pacientes recién diagnosticados. Sobre todo, puede ser

considerada en primera línea de tratamiento cuando los pacientes presentan HbA1c >9%, síntomas severos, evidencia de cetoacidosis, embarazo, cuando los antidiabéticos orales están contraindicados o no se consiguen los niveles glucémicos deseables con la combinación de medicamentos antidiabéticos (Upadhyay *et al.*, 2018).

### 3.3.3 Tratamiento por herbolaria

La medicina herbal, herbolaria o medicina botánica, se refiere al uso de plantas por su valor terapéutico y medicinal. En países en vías de desarrollo, cerca del 80% de la población, sobre todo la rural, se basa en remedios de la medicina tradicional para cubrir las necesidades del cuidado de su salud. Por otro lado, en países desarrollados, ha resurgido el interés por la medicina herbal, dada la preferencia del consumo de productos naturales (Bais *et al.*, 2017). Es así como la herbolaria se ha convertido en una de las vías más socorridas para el control de la DM y que ofrecen al enfermo la esperanza de encontrar una curación (Aguilar-Contreras & Xolalpa-Molina, 2002).

A lo largo del siglo XX, el conocimiento médico académico sobre la DM comenzó a ser incorporado dentro de la cultura médica popular y, más paulatinamente, en la medicina tradicional indígena. Así fue como gracias a la investigación etnobotánica, se comenzó a registrar la manera en que la población mexicana se refiere a la diabetes, esto es, con base en las ideas sobre la enfermedad que ha construido desde su punto de vista cultural. Por ejemplo, la gente comienza a hablar de “azúcar en la sangre” e identifica como factores causales algunas experiencias emocionales fuertes o un desequilibrio en la dualidad frío-caliente de los alimentos; después se reconocen síntomas como número de micciones al día, la sed y el hambre constantes. De igual manera, surgen formas de diagnóstico como probar directamente la orina. El dulzor en la orina, y por consiguiente, en la sangre, se convirtió en el rasgo característico del padecimiento y la base para la identificación de muchas plantas que fueron incorporadas para su atención. Así, la población mexicana empezó el proceso de ensayo en innumerables plantas para la atención del padecimiento y descubrió algunas variantes que han resultado eficaces en el tratamiento popular de la diabetes (Aguilar-Contreras & Xolalpa-Molina, 2002).

A partir del trabajo etnobotánico, se comenzó la tarea de recuperar el saber médico popular sobre la herbolaria, recolectar las especies medicinales y sistematizar la información. En el caso de DM, se han documentado más de 300 especies usadas como agentes hipoglucemiantes (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005), entre las cuales, las pertenecientes a las familias Asteraceae, Cactaceae y Fabaceae son las más representadas (Aguilar-Contreras & Xolalpa-Molina, 2002).

En la Tabla 4 se enlistan las especies de cactáceas reportadas como hipoglucemiantes en México, incluida *R. baccifera*. El género *Opuntia* es el más representativo, con 8 especies reportadas, seguido de los géneros *Nopalea* y *Pachycereus* con dos especies cada uno.

**Tabla 3.** Especies de la familia Cactaceae reportadas en México como hipoglucemiantes (Tomado de Andrade-Cetto & Heinrich, 2005).

<b>Especie</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Preparación</b>
<i>Aporocactus flagelliformis</i> (L.) Lem.	Flor de junco	Infusión con las flores, infusión de los tallos
<i>Lophocereus schottii</i> (Engelm.) Britton & Rose	Muso	Infusión de los tallos.
<i>Nopalea cochenillifera</i> (L.) Slam-Dyck	Nopal	Tallo crudo
<i>Nopalea inaperta</i> Schott ex Griffiths	Nopal	Tallo crudo
<i>Opuntia atropes</i> Rose	Nopal blanco	Tallo crudo
<i>Opuntia ficus-indica</i> (L.) Mill.	Nopal	Tallo crudo
<i>Opuntia fulgida</i> Engelm.	Choya	Tallo crudo
<i>Opuntia guilanchi</i> Griffiths	Nopal blanco	Tallo crudo
<i>Opuntia imbricata</i> (Haw.) DC.	Xoconostle	Tallo crudo, fruto
<i>Opuntia leucotricha</i> DC.	Duraznillo	Tallo
<i>Opuntia megacantha</i> Salm-Dyck	Nopal blanco	Tallo crudo
<i>Opuntia streptacantha</i> Lem	Nopal	Tallo crudo
<i>Pachycereus marginatus</i> (DC.) Britton & Rose	Órgano, Sahuaro	Tallo crudo
<i>Pachycereus pringlei</i> (S. Watson) Britton & Rose	Cardón	Tallo crudo
<i>Rhipsalis baccifera</i> (J.S. Muell) Steam	Niguilla	Infusión con el tallo, fruto crudo

<i>Stenocereus marginatus</i> (DC.) Berger & Buxb	Órgano de zopilote	Tallo asado
--	--------------------	-------------

Las especies del género *Opuntia* han sido las más estudiadas por sus efectos como hipoglucemiantes, sobre todo la especie *O. ficus-indica*. Se ha encontrado actividad hipoglucemiante en *O. streptacantha*, *O. ficus-indica*, *O. fuliginosa* y *O. lindheimeri*, además, se ha estudiado la composición fitoquímica de sus tallos (cladodios), frutos y semillas (González-Stuart, 2013).

En un trabajo realizado por Guevara-Figueroa y colaboradores (2010), se utilizaron cladodios liofilizados de *O. ficus-indica*, *O. leucothica* y *O. robusta*. Se detectó la presencia de ácidos fenólicos, tales como de ácido ferúlico, el cual se ha asociado con propiedades antidiabéticas y antiinflamatorias; así como ácido salicílico, ácido hidroxibenzoico, ácido coumárico y ácido gálico. También se detectaron flavonoides, principalmente en su forma glicosilada. Por otro lado, se ha evaluado la capacidad antioxidante del aceite extraído de las semillas de *O. ficus-indica*, ya que presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados y compuestos antioxidantes que podrías ser útiles en el manejo de la DM (Berraaouan *et al.*, 2015).

Entre los posibles mecanismos de acción de los productos naturales en el tratamiento de diabetes se encuentran la inhibición de enzimas involucradas en el metabolismo de glucosa, tales como la  $\alpha$ -amilasa y  $\alpha$ -glucosidasa, inhibición de los efectos del consumo de glucosa y transportadores de glucosa, mejoramiento de la secreción de insulina y proliferación de células  $\beta$  pancreáticas, así como por su actividad antioxidante. Además, las fibras vegetales pueden interferir en la absorción de carbohidratos y así tener un efecto sobre los niveles de glucosa (Governa *et al.*, 2018, Bahmani *et al.*, 2014).

A pesar de la gran cantidad de literatura disponible, la efectividad real de las plantas medicinales sigue siendo controversial. La mayoría de las especies utilizadas para el tratamiento de DM muestran inconsistencias clínicas, en su mayoría debidas a la variabilidad del material vegetal o a la forma de preparación (Governa *et al.*, 2018).

### 3.4 Metabolismo de glucosa

Los niveles de glucosa en sangre dependen de dos factores: la cantidad de glucosa que entra a la circulación y la cantidad de glucosa que sale de circulación. La glucosa que entra en circulación proviene de 3 fuentes: absorción intestinal durante la digestión, la glucogenólisis y gluconeogénesis, que ocurren en el hígado. En la regulación homeostática de la glucosa, intervienen varias hormonas que regulan su producción y consumo (Aronoff *et al.*, 2004; Lin & Accili, 2011).

En la Tabla 4 se enumeran algunas de las principales hormonas glucoregulatoras, tales como el glucagón, insulina, amilina, GLP-1 (*Glucagon-Like Peptide-1*), GIP (*Glucose-dependent Insulinotropic Peptide*), epinefrina, cortisol y la hormona de crecimiento. La función de estas hormonas es mantener los niveles de glucosa dentro de cierto rango (60-120 mg/dl); además, regulan su acción entre ellas (regulación parácrina y autócrina) (Aronoff *et al.*, 2004; Lin & Accili, 2011; Torres-Luna, 2013).

**Tabla 4.** Hormonas reguladoras de la glucemia, órganos donde se sintetizan y su función (Tomado de Aronoff *et al.*, 2004).

Hormona	Órgano de síntesis y secreción	Efecto
Glucagón	Páncreas, células $\alpha$	Estimula la degradación de glucógeno en el hígado Promueve la gluconeogénesis hepática Promueve la cetogénesis hepática
Insulina	Páncreas, células $\beta$	Promueve el ingreso de glucosa a las células Suprime la secreción postprandial de glucagón Promueve síntesis de proteínas y grasas Promueve el uso de glucosa como fuente de energía
Amilina	Páncreas, células $\beta$	Suprime la secreción postprandial de glucagón Disminuye el vaciado gástrico Reduce la ingesta de alimento y el peso corporal
GLP-1	Intestino, células L	Incrementa la secreción de insulina dependiente de glucosa

		Suprime la secreción postprandial de glucagón Disminuye el vaciado gástrico Reduce la ingesta de alimento y el peso corporal
--	--	--

### 3.5 Modelos animales para el estudio de la DM

Existen muchos impedimentos para el estudio de la DM en humanos, tales como la variabilidad genética, la esperanza de vida, la diversidad en los estilos de vida, la inaccesibilidad relativa a tejidos y órganos, así como consideraciones de tipo ético. El uso de modelos animales nos permite evadir algunas de estas dificultades y han permitido obtener gran cantidad de información acerca de la enfermedad (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

El desarrollo de modelos animales es necesario para el estudio de sustancias con potencial antidiabético. Sin embargo, a pesar de la variedad de modelos animales disponibles, tanto genéticos como químicos, la mayoría de ellos no se asemejan a la situación clínica de DM2 en humanos debido a la gran heterogeneidad que presenta (Nath *et al.*, 2017). La decisión sobre qué modelo utilizar es multifactorial e, idealmente, los experimentos deberían realizarse en diferentes modelos, considerando que ninguno de ellos refleja completamente la complejidad de la DM2 en humanos; además, se debe tener mucha precaución al hacer cualquier extrapolación al ámbito clínico (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

#### 3.5.1 Modelos espontáneos

Entre los animales, la diabetes es relativamente común, y se puede encontrar en diversas especies, tales como perros, gatos, cerdos, monos y tortugas. En ratones de laboratorio es común encontrar hiperglucemia, hiperinsulinemia y obesidad, aunque por lo general, presentan reversión espontánea de su diabetes, es decir, en edades avanzadas, pueden mostrar niveles normales de insulina y glucosa sanguínea. Estos modelos se mantienen mediante cruces endogámicas y proceden de animales en los que se ha detectado diabetes espontánea o bien, que se han obtenido mediante cruces selectivos para favorecer cierto rasgo fenotípico. Entre estos modelos, se pueden encontrar:

- i. ratón obeso (*ob*): Presenta una mutación en el gen de leptina. Presenta 3 fases de la enfermedad: 1) hiperglucemia, hiperinsulinemia y aumento de peso, 2) disminuyen los niveles de glucosa e insulina, y 3) fase estática, donde los ratones se mantienen obesos, pero con niveles normales de insulina y glucosa (Arias-Díaz & Balibrea, 2007; Ramos & Méndez, 1994).
- ii. ratón diabético (*db*): Presenta una mutación puntual en el gen receptor de leptina. Primero se detecta una hiperinsulinemia, acompañada de hiperglucemia, posteriormente, se mantiene la hiperinsulinemia, hiperglucemia e hiperfagia, pero conforme avanzan de edad pierden peso y mueren, (Arias-Díaz & Balibrea, 2007; Ramos & Méndez, 1994).
- iii. ratón KK: Presenta ligera obesidad e hiperglucemia, así como resistencia a la insulina, hiperinsulinemia compensadora e hiperplasia de células insulares.
- iv. ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO): Este ratón presenta ligera hiperinsulinemia e hiperglucemia no severa entre los 4 y 6 meses de edad (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002; Ramos & Méndez, 1994).
- v. Existen modelos donde la diabetes se desarrolla por el consumo de una dieta hipercalórica, como los ratones *spiny*, las ratas de desierto (*Psammomys obesus*) y el hámster chino (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002; Ramos & Méndez, 1994).
- vi. Otros: Rata Zucker (*fa/fa*) expresa el alelo *fa*, para un receptor de leptina no funcional, y presenta hiperglucemia moderada; el ratón amarillo AY, Rata Goto-Kakizaki (GK) presenta hiperproducción de glucosa, deterioro en secreción de insulina, baja tolerancia a glucosa, RI; rata OLEF que presenta poliuria, polidipsia y obesidad espontánea (Arias-Díaz & Balibrea, 2007; Ramos & Méndez, 1994).

### 3.5.2 Modelos inducidos

Es posible reproducir en animales una o varias manifestaciones clínicas características de DMT2 en humanos mediante diferentes métodos

- i. Inducción con hormonas: La administración excesiva de ciertas hormonas, como glucagón o corticoides, pueden producir estados de hiperglucemia (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002).
- ii. Administración de fármacos: Los fármacos más ampliamente utilizados para la inducción de DM son aloxano y estreptozotocina (STZ), los cuales inducen insulinodeficiencia. Sin embargo, el aloxano puede provocar toxicidad renal, por lo que cada vez es menos utilizado (Arias-Díaz & Balibrea, 2007; Gheibi *et al.*, 2017).

#### 3.5.2.1 Modelo de inducción de DM con Estreptozotocina

La estreptozotocina (STZ) es el la sustancias química más comúnmente utilizado para la inducción de diabetes. Fue aislada por primera vez en 1960 de *Streptomyces achromogenes* y tiene propiedades diabetogénicas debido a que destruye selectivamente las células  $\beta$  pancreáticas. Esta destrucción de debe, principalmente, a la producción excesiva de radicales libres, lo que resulta en el daño funcional de las células  $\beta$  pancreáticas (Tang *et al.*, 2018). Como resultado de esta actividad, los animales experimentan deficiencia de insulina, hiperglucemia, polidipsia y poliuria. La STZ también ha sido ampliamente utilizada en modelos de DMT1, debido a que la patología resultante es muy similar a esta enfermedad en humanos (Furman, 2015).

Para el establecimiento de modelos de DMT2, la STZ se utiliza en combinación con Nicotinamida (NA), la cual protege parcialmente las células  $\beta$  de la STZ. Con esta combinación se puede conseguir un modelo deficiente de insulina, pero no insulino-resistente, y se caracteriza por una hiperglucemia moderada y estable, asociada a la pérdida de cerca del 60% de funcionalidad de las células  $\beta$ . Otro modelo que se asemeja a la DMT2 humana, consiste en alimentar a los animales con una dieta alta en grasa, lo que les genera la resistencia a la insulina, seguido de la administración de pequeñas dosis de STZ para reducir la capacidad de las células  $\beta$  (Furman, 2015).

Para el modelo de inducción de DMT2 mediante NA-STZ, se utilizan preferentemente ratones macho, ya que se sabe que las hembras son menos sensibles a la STZ; además, se

debe evitar la cepa Balb/cJ, ya que estos animales han mostrado ser resistentes a este método de inducción (Furman, 2015).

Una consideración que se debe tener con la administración de la STZ, es que ésta se degrada rápidamente una vez disuelta (en buffer de citrato de sodio pH 4.5), por lo que debe prepararse inmediatamente antes de la inyección y protegerse de la luz (Furman, 2015).

#### **4. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La DM es una enfermedad crónica que se caracteriza por hiperglucemia, la cual afecta diversos órganos y sistemas, deteriorando la calidad de vida de quienes la padecen. Debido a la complejidad de la enfermedad y las complicaciones o dificultades que implican los tratamientos disponibles (acceso, disponibilidad, costo), el uso de plantas medicinales o remedios herbolarios constituye un recurso cada vez más socorrido para el tratamiento de la DM. En México, una de las especies utilizadas como antidiabéticas es *Rhipsalis baccifera*, ya que se le atribuyen propiedades hipoglucemiantes. Debido a esto, es importante analizar el efecto hipoglucemiante atribuido a *R. baccifera* en un modelo murino de DM, ya que podría tratarse de una planta con alto potencial farmacológico.

#### **5. OBJETIVOS**

##### 5.1 Objetivo general

El objetivo general de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto acuoso de *R. baccifera* sobre la concentración de glucosa en sangre de ratones macho ICR con diabetes inducida por STZ-NA.

##### 5.2 Objetivos particulares

- Obtener un extracto acuoso de *Rhipsalis baccifera*.
- Inducir hiperglucemia en los animales de experimentación.
- Cuantificar y comparar la concentración de glucosa entre los diferentes grupos experimentales durante un tratamiento crónico con el extracto.
- Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso por cromatografía en capa fina

## 6. HIPÓTESIS

**Ho:** La concentración de glucosa en sangre no tendrá cambios en los ratones hiperglucémicos que reciban el tratamiento con el extracto acuoso de *R. baccifera*, respecto al grupo control.

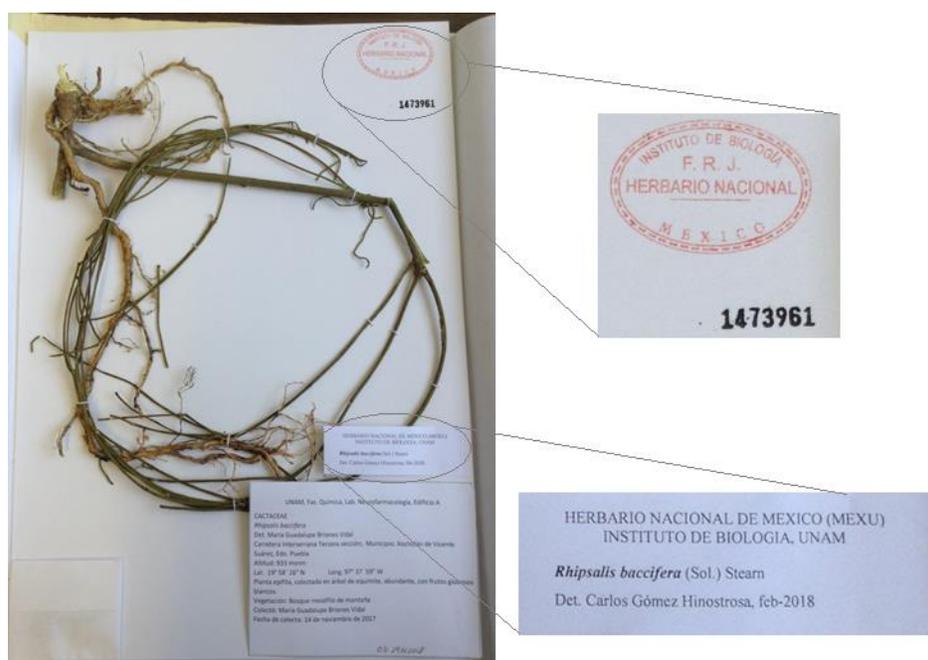
**Ha:** La concentración de glucosa en sangre disminuye en los ratones hiperglucémicos que reciban el tratamiento con el extracto acuoso de *R. baccifera*, respecto al grupo control.

## 7. MATERIALES Y MÉTODO

### 7.1 Colecta del material vegetal

Se realizó una colecta el mes de noviembre de 2017, en el municipio Xochitlán de Vicente Suárez, en la Sierra Norte del estado de Puebla (19° 58' 27'' N y 97° 37' 59'' O, 942 msnm). Ya que esta especie no se encuentra amenazada ni bajo protección especial, no se requirieron permisos de colecta de SEMARNAT.

Del material colectado, se llevó un ejemplar herborizado al Herbario Nacional del Instituto de Biología, UNAM, para su identificación y registro. La identificación la llevó a cabo el M. en C. Carlos Gómez Hinostrosa y se le asignó el número de folio 1473961 (Figura 3).



**Figura 3.** Ejemplar herborizado de *R. baccifera* registrado en el Herbario Nacional.

## 7.2 Preparación del extracto

Se eligió el método de extracción reportado por Brandelli et al., 2013, debido a que la forma de consumo tradicional es una infusión, al igual en nuestro país. Para ello, se preparó una infusión con los tallos frescos, en una proporción 1:10 (g:ml) y después se deshidrató mediante liofilización.

Para la infusión se utilizaron 600 g de tallos frescos en 6 litros de agua. Se calentó agua destilada a 60° C en una parrilla con agitador. Se añadieron los tallos frescos, cortados en fragmentos de 2 cm aproximadamente, y se dejaron en decocción con agitación constante durante 1 hora. Posteriormente, se filtró la infusión con ayuda de una gasa para retirar los tallos. La infusión obtenida fue almacenada en refrigeración (4° C) hasta el momento de la liofilización.

La liofilización se llevó a cabo en el laboratorio 4/A del Edificio A de la Facultad de Química, UNAM, con la asesoría del Profesor Agustín Reyó.

Para este proceso, la infusión fue congelada en un baño frío de acetona (Distribuidora Química ALVI®) y hielo seco (Figura 4). Se utilizó una liofilizadora FreezeDryer 4.5 (Labconco®). El proceso de liofilización dura aproximadamente 24 horas, por lo que fueron necesarios varios ciclos para procesar el total de infusión preparada. Una vez liofilizado, se pesó el extracto seco obtenido y se mantuvo en congelación protegido de la humedad hasta su uso.

El rendimiento fue calculado a partir de la siguiente relación:

$$\frac{\text{Extracto liofilizado obtenido (g)}}{\text{Planta fresca utilizada (g)}} \times 100$$



**Figura 4.** Proceso de liofilización: a) Baño frío de acetona y hielo seco, b) frascos con la infusión congelada en proceso sublimación, c) extracto liofilizado obtenido.

### 7.3 Evaluación del efecto hipoglucemiante

#### 7.3.1 Manejo de los animales de experimentación

Se utilizaron ratones ICR machos de 4 semanas (Envigo®) y se les dio una semana de aclimatación. Se mantuvieron en condiciones estándares de temperatura ( $22\pm 1^\circ\text{C}$ ), humedad (50%) y ciclo luz/obscuridad (16/8 h), en cajas de policarbonato y rejillas de acero inoxidable con cama sanitaria (Teklad®), agua y dieta estándar (Teklad Global Rodent Diets®) *ad libitum*. En cada caja se mantuvieron de 3 a 5 ratones para promover su interacción social. Cada tercer día se les hizo cambio de cama sanitaria y limpieza de las cajas. Al presentar poliuria, el cambio de cama sanitaria se hizo diario.

El protocolo utilizado fue aprobado por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (CICUAL) de la Facultad de Química, UNAM.

#### 7.3.2 Curva de concentración de Glucosa de 24 horas.

Se hizo una curva de concentración de glucosa por 24 horas para identificar en qué momento del día se tiene la concentración más alta y así poder elegir el horario de administración para el tratamiento crónico.

Se utilizaron 6 ratones macho ICR de 5 semanas. Se cuantificó la concentración de glucosa cada 3 horas durante 24 horas con glucómetro y tiras reactivas Accu Chek Performa®. La

muestra de sangre se obtuvo mediante un corte en el extremo distal de la cauda. Los ratones se mantuvieron con agua y dieta estándar *ad libitum*.

### 7.3.3 Inducción de hiperglucemia

Se siguió el modelo de inducción de DMT2 con STZ-NA. Se utilizaron ratones ICR machos de 5 semanas, con ayuno de 5 horas (Juárez-Reyes *et al*, 2015; Matsuyama-Yokono *et al*, 2009). Posteriormente, se pesaron con una balanza granataria con canastilla de acero inoxidable. Se cuantificó la concentración de glucosa con glucómetro y tiras reactivas (Accu-Chek Performa®). La muestra de sangre se obtuvo mediante un corte en el extremo distal de la cola de los ratones.

Los ratones se separaron en dos grupos al azar: Control (n=6) y diabético (n=30). Al grupo diabético se le administró vía intraperitoneal (i.p.) una inyección de NA (Sigma®) disuelta en solución salina isotónica 0.9% (NaCl J.T. Baker®) a dosis de 110 mg/kg. Después de 15 minutos, se administró STZ a 150 mg/kg disuelta en buffer de citratos 20 mM pH 4.5 (ambos de Sigma®), preparada al momento, vía i.p. Al grupo control se le administró la solución vehículo en cada caso (solución salina y buffer de citratos).

Al quinto y séptimo día después de la administración de STZ-NA, se cuantificó la concentración de glucosa en ayunas (5 h de ayuno) con glucómetro y tiras reactivas. Una vez establecida la hiperglucemia, los ratones diabéticos fueron separados al azar en los grupos experimentales mencionados en la Tabla 5 y se inició con el tratamiento crónico.

**Tabla 5.** Grupos experimentales y su tratamiento correspondiente.

<b>Grupo experimental</b>	<b>Tratamiento</b>
Control	Normoglucémico tratado con solución salina 0.9%
Control negativo	Diabético tratado con solución salina 0.9%
Control positivo	Diabético tratado con glibenclamida 5 mg/kg
Extracto <i>R. baccifera</i> 1	Diabético tratado con extracto a 1 mg/kg
Extracto <i>R. baccifera</i> 10	Diabético tratado con extracto a 10 mg/kg
Extracto <i>R. baccifera</i> 100	Diabético tratado con extracto a 100 mg/kg

#### 7.3.4 Preparación de tratamientos

Se preparó solución salina isotónica 0.9% con agua destilada y NaCl (J.T. Baker®). La glibenclamida (Sigma-Aldrich®) fue suspendida en DMSO (J.T. Baker®) 0.5% y solución salina 0.9% para llegar a la dosis de 5 mg/kg (Ruohonen *et al.*, 2015).

Para la preparación de las diferentes dosis del extracto se pesaron 100 mg de extracto liofilizado y se disolvieron en 10 ml de solución salina 0.9% para llegar a la dosis de 100 mg/kg. Se mantuvo en agitación constante hasta homogenizarse. A partir de esta disolución se prepararon las otras concentraciones mediante diluciones con solución salina 0.9%.

#### 7.3.5 Tratamiento crónico con el extracto de *R. baccifera*

Se administró cada 24 h, vía intragástrica (i.g.), una dosis del tratamiento correspondiente a cada grupo, durante 9 semanas.

La administración se hizo con ayuda de jeringas de 1ml (BD Plastipak®) y sondas intragástricas de acero inoxidable (Miltex®). Se administró 0.1 ml de solución por cada 10 g de peso. Se llevó un registro del peso de los ratones cada tercer día. Una vez a la semana cuantificó la concentración de glucosa en ayunas de todos los ratones, como se describió anteriormente.

Se calculó el porcentaje de variación para el peso y la glucemia mediante la siguiente fórmula (Hernández-Vázquez *et al.*, 2017; Juárez-Reyes *et al.*, 2015):

$$\% \text{ Variación de peso} \left[ \frac{(Peso_F - Peso_I)}{Peso_I} \right] \times 100$$

$$\% \text{ Variación de glucemia} \left[ \frac{(Glucemia_F - Glucemia_I)}{Glucemia_I} \right] \times 100$$

#### 7.3.6 Prueba Oral de Tolerancia a la Glucosa

Después de 9 semanas con el tratamiento, se aplicó una Prueba oral de tolerancia a la glucosa (POTG). Los ratones se mantuvieron en ayuno de 5 horas. Posteriormente, se cuantificó su concentración de glucosa (este valor corresponde al Tiempo -0.5 (T-0.5)), seguido de la administración oral del tratamiento correspondiente (solución salina, glibenclamida o extracto *Rb*). Después de 30 minutos, se administró la solución de glucosa

a 2 g/kg (disuelta en agua destilada) [Tiempo 0 (T0)]. Se cuantificó la concentración de glucosa a los 30, 60 y 120 minutos después de la administración de glucosa (T0.5, T1 y T2, respectivamente).

Los datos de la cuantificación de glucosa fueron graficados y se obtuvieron los valores del área bajo la curva (ABC) para su análisis estadístico.

#### 7.4 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los resultados y el diseño de las gráficas se utilizó el Software SigmaPlot 14.0.

La normalidad de los datos fue evaluada con la prueba de Shapiro-Wilk. La inducción de hiperglucemia por STZ-NA se analizó con una prueba t-Student pareada para el grupo control y una prueba de Wilcoxon para el grupo diabético, ya que los datos no pasaron la prueba de normalidad.

Los datos de la concentración de glucosa por 24 h, el porcentaje de variación de peso, porcentaje de variación de la concentración de glucosa durante el tratamiento crónico y el área bajo la curva de la POTG fueron analizados con un Análisis de Varianza (ANDEVA). En caso de haber diferencias significativas, se aplicó una prueba *post-hoc* de Dunn.

#### 7.5 Análisis fitoquímico del extracto acuoso de *R. baccifera*

Se realizó un análisis preliminar del extracto de *R. baccifera* mediante cromatografía en capa fina en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias.

El extracto liofilizado se disolvió en metanol y etanol al 70% y se corrieron 3 placas de sílica gel con diferentes estándares. Una vez reveladas, las placas se observaron bajo luz UV a 310 nm

**Tabla 6.** Placas de cromatografía en capa fina.

Placa	Estándares	Fase móvil (Proporción)	Revelador
1	Terpenos: ácido ursólico y lupeol	Hexano y acetato de etilo (7:3)	Sulfato cérico
2	Flavonoides: quercetina	Cloroformo, acetona y ácido fórmico (5:1:0.5)	Natural Products

3	Flavonoide glicosilado: Rutina	Acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial y agua (6:1:1:2)	Natural Products
---	--------------------------------	---	------------------

## 8. RESULTADOS

### 8.1 Obtención del extracto acuoso

Se obtuvieron 7.8 g de extracto liofilizado por 600 g de material vegetal fresco, lo que nos indica un rendimiento del 1.3%.

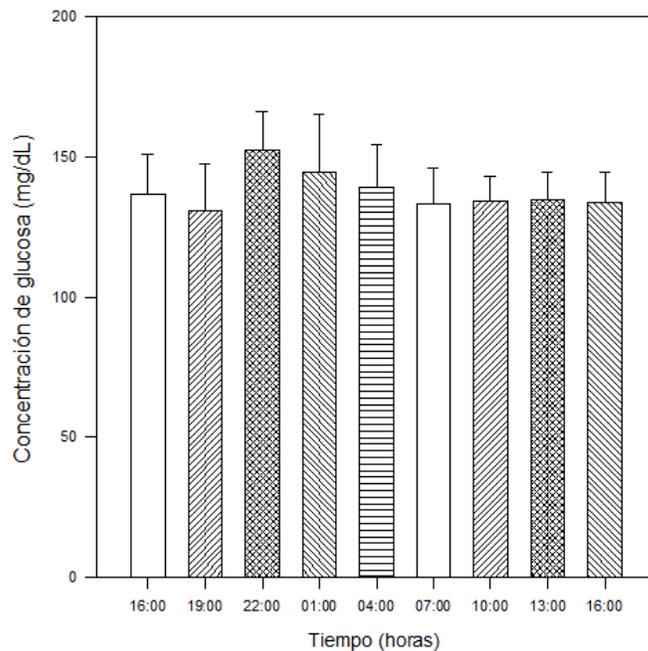
El extracto liofilizado obtenido fue de una apariencia polvosa, color verde claro (Figura 5). Es soluble en agua y solución salina con agitación constante.



**Figura 5.** Extracto liofilizado de *R. baccifera*

### 8.2 Curva de concentración de glucosa 24 h

Al monitorear la concentración de glucosa en ratones normoglucémicos durante 24 h, no se encontraron diferencias significativas en la concentración de glucosa entre las diferentes horas del día (Figura 6).



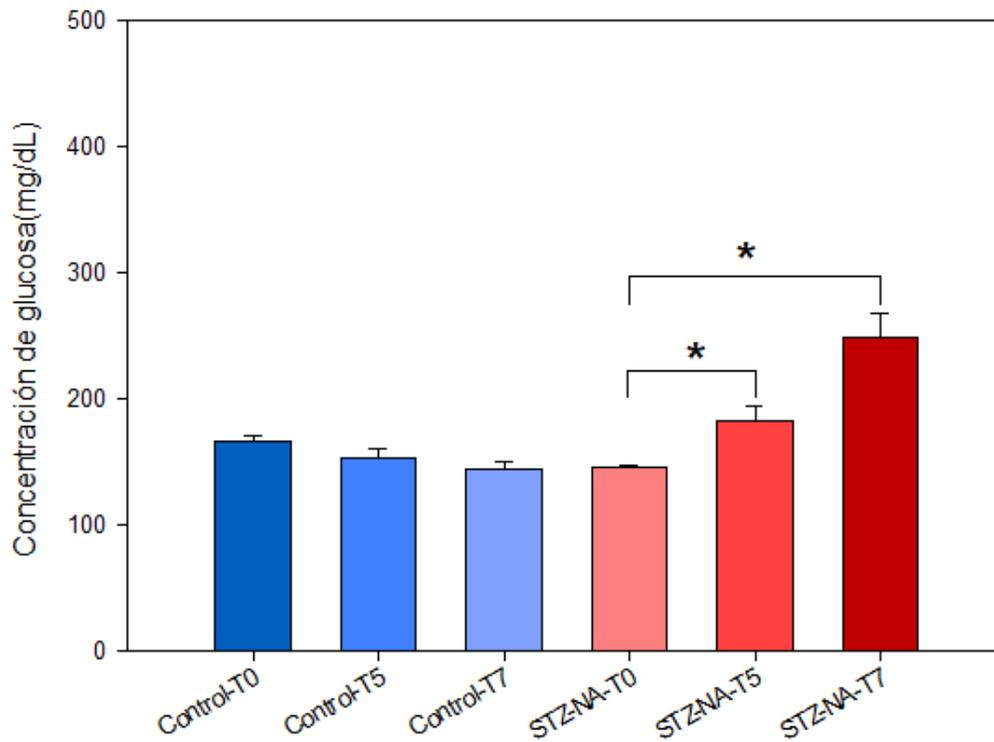
**Figura 6.** Variación en la concentración de glucosa en sangre (mg/dL) de ratones normoglucémicos durante 24 horas. Las barras representan el promedio  $\pm$  error estándar. El ANDEVA no mostró diferencias significativas, por lo que no se aplicó prueba *post-hoc*.

Con base en esto, se decidió que la administración de tratamiento se haría a las 14 h. Además, se ha reportado que un ayuno adecuado para ratones es de 4 a 6 horas, entre las 7 y 13 horas (Gheibi *et al.*, 2017), por lo que este horario no se interpondría con la toma de muestra de sangre en ayunas.

### 8.3 Inducción de hiperglucemia

Se comparó la concentración de glucosa antes de la administración de STZ-NA, con la concentración al quinto y séptimo día post-administración. Desde el quinto día post-administración de STZ-NA (T5) se observó un incremento significativo en la concentración de glucosa en el grupo diabético, y para el séptimo día (T7) este incremento fue todavía mayor; además, los ratones presentaron poliuria y polidipsia, que son síntomas típicos de DM. En el grupo control no ocurrieron cambios en la concentración de glucosa (Figura 7).

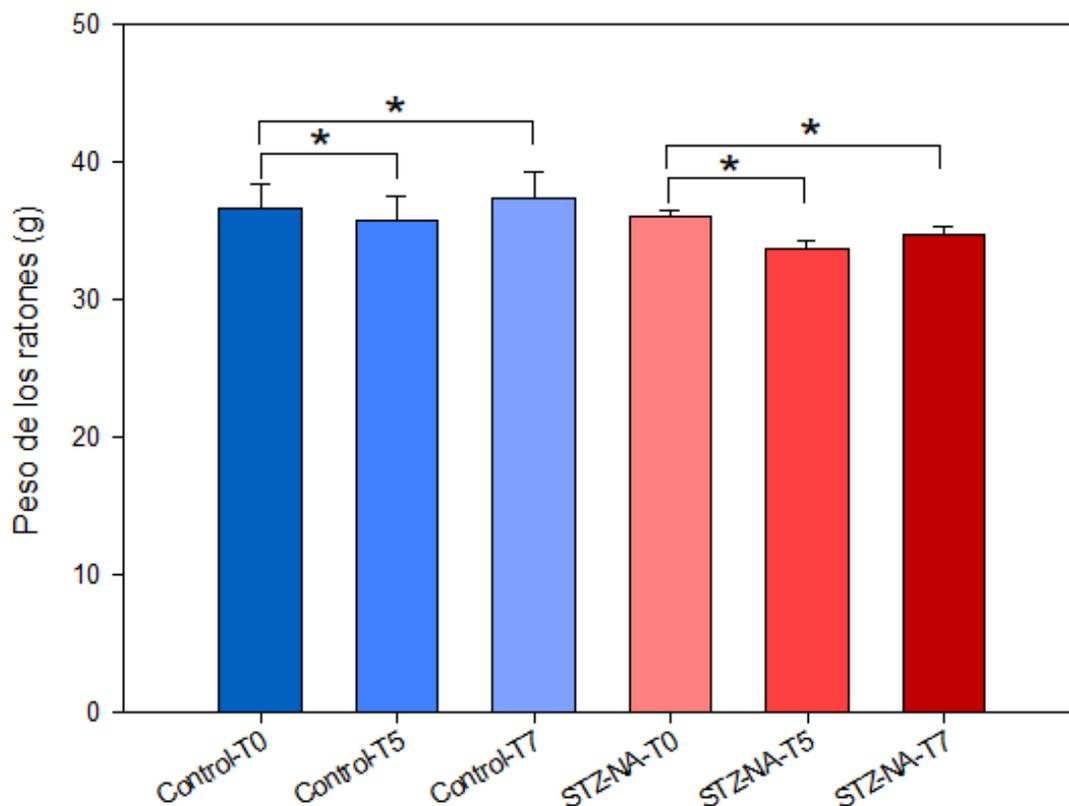
### Concentración de glucosa en sangre post-administración de STZ-NA



**Figura 7.** Cambios en la concentración de glucosa en el grupo control (n=6) y el grupo diabético (n=30). T0 = antes de administración de STZ-NA, T5 = quinto día post-administración STZ-NA, T7 = séptimo día post-administración STZ-NA. Media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de t-Student pareada para el grupo control y una prueba de Wilcoxon para el grupo con STZ-NA. \*= p<0.05

Por otro lado, el peso de los ratones tratados con STZ-NA también se vio afectado, pues tuvieron una disminución significativa (p<0.05), mientras que el grupo control tuvo un incremento en su peso (Gráfica 3).

## Peso de los ratones post-administración de STZ-NA



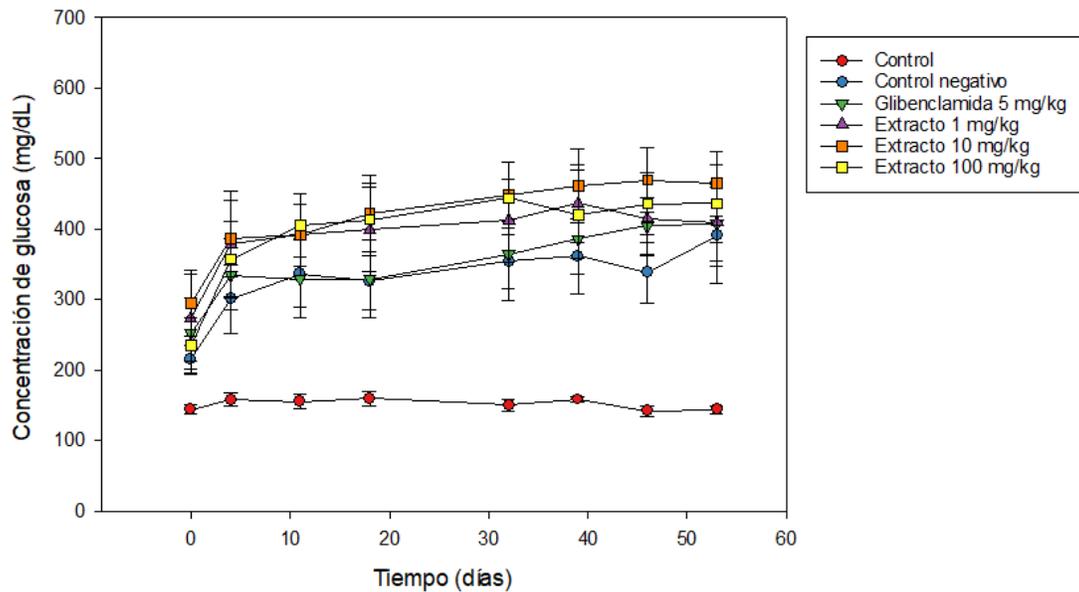
**Figura 8.** Cambios en peso de los ratones del grupo control y el grupo con STZ-NA. T0 = antes de administración, T5 = día 5 post-administración, T7 = día 7 post-administración. Media + error estándar. Se aplicó una prueba de t-Student pareada. \*=p<0.05.

### 8.4 Tratamiento crónico con el extracto de *R. baccifera*

#### 8.4.1 Concentración de glucosa en sangre

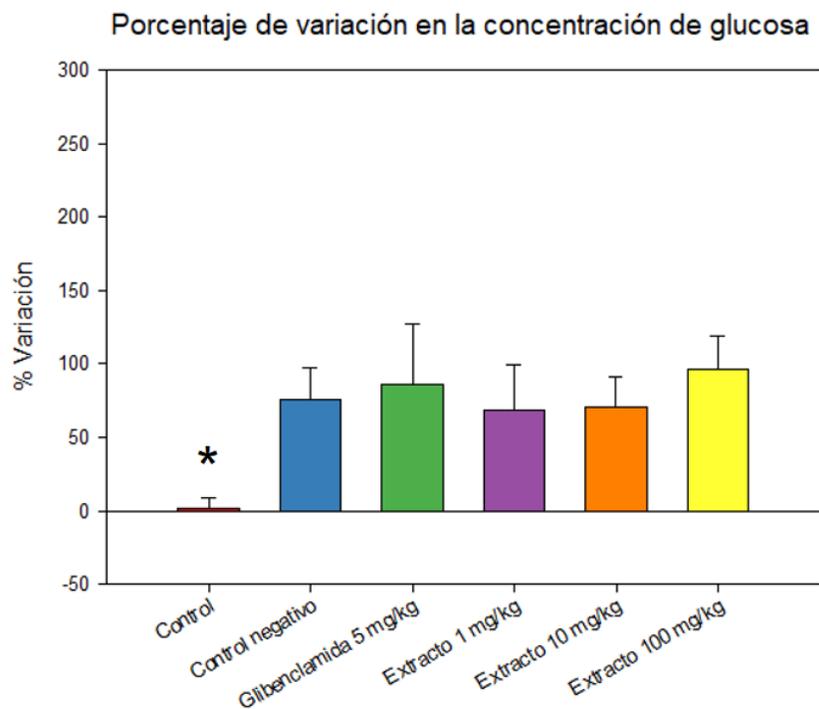
Desde el inicio del tratamiento, se observó una marcada diferencia en la concentración de glucosa entre el grupo control y los grupos diabéticos, pero no se observaron diferencias entre éstos (Figura 9).

Concentración de glucosa en sangre de los ratones durante el tratamiento



**Figura 9.** Concentración de glucosa en sangre (mg/dL) de los ratones en ayunas durante el tratamiento crónico. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar.

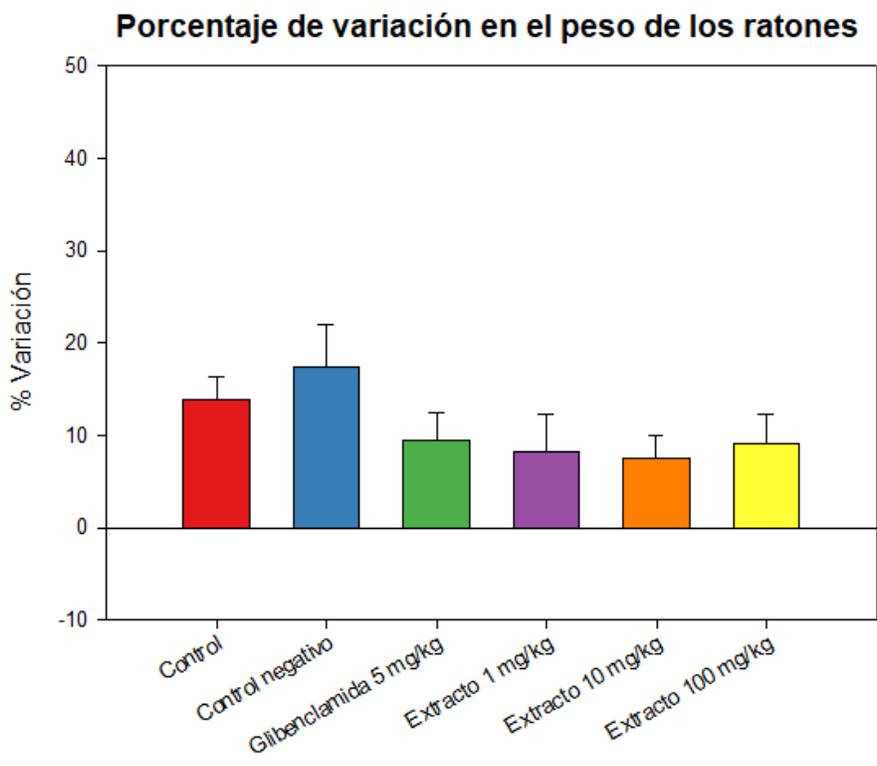
El tratamiento con glibenclamida y el extracto de *R. baccifera* no mostró un efecto hipoglucemiante con ninguna de las dosis utilizadas. Al inicio del tratamiento la concentración de glucosa en los grupos tratados con *R. baccifera* era ligeramente mayor que la de los grupos control positivo y negativo, sin embargo, al final de las 9 semanas, la concentración de glucosa de todos los grupos fue muy similar y no ocurrieron diferencias significativas entre ellos, pero sí con el grupo control (Figura 10).



**Figura 10.** Porcentaje de Variación en la concentración de glucosa debido al tratamiento. Las barras representan la media  $\pm$  error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. Sólo ocurrieron diferencias significativas entre los grupos diabéticos y el control. \* = $p < 0.05$

#### 8.4.2 Peso de los animales

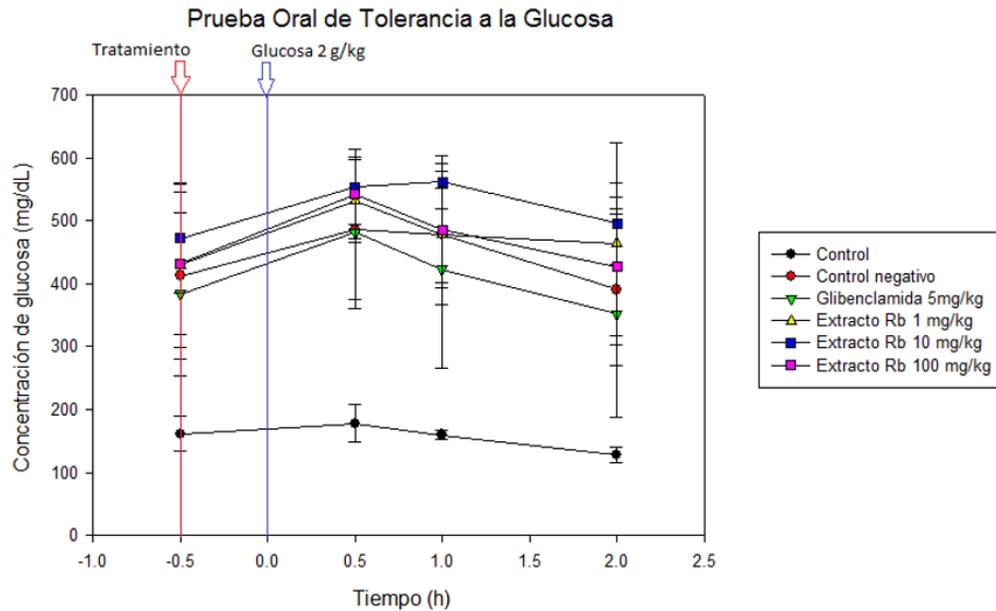
El peso de todos los ratones se mantuvo con un incremento estable a lo largo de las 9 semanas de tratamiento, y éste no se vio afectado por la administración de los tratamientos correspondientes (Figura 11).



**Figura 11.** Porcentaje de variación en el peso de los ratones. Las barras representan la media + error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. No hubo diferencias significativas.

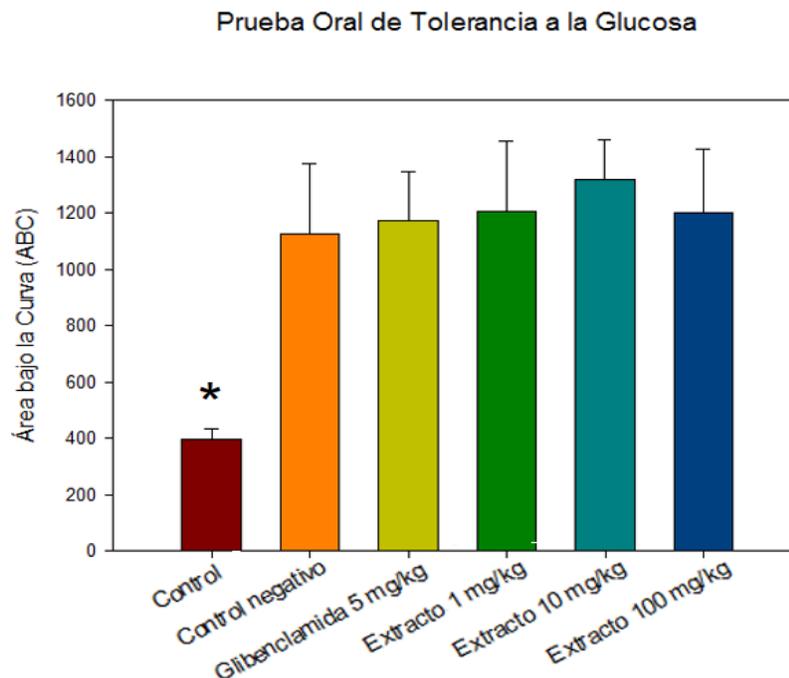
### 8.5 Prueba Oral de Tolerancia de Glucosa (POTG)

Al final del tratamiento crónico se aplicó una POTG. El punto máximo de elevación de la glucosa en sangre ocurrió a los 30 minutos (T0.5) de la administración de glucosa, en los grupos 1, 3,4, 5; mientras que en los grupos 2 y 6, el nivel más alto se alcanzó a la hora (T1) (Gráfica 12). A las 2 horas de la prueba, los ratones regresaron a los niveles de glucemia similares a los del Tiempo -0.5.



**Figura 12.** Prueba oral de tolerancia a la glucosa en ratones con tratamiento crónico. Cada punto representa la media  $\pm$  error estándar.

Se obtuvo el área bajo la curva (Gráfica 13) y se observó que sólo ocurrieron cambios significativos entre los grupos hiperglucémicos (2 al 6) y el control.

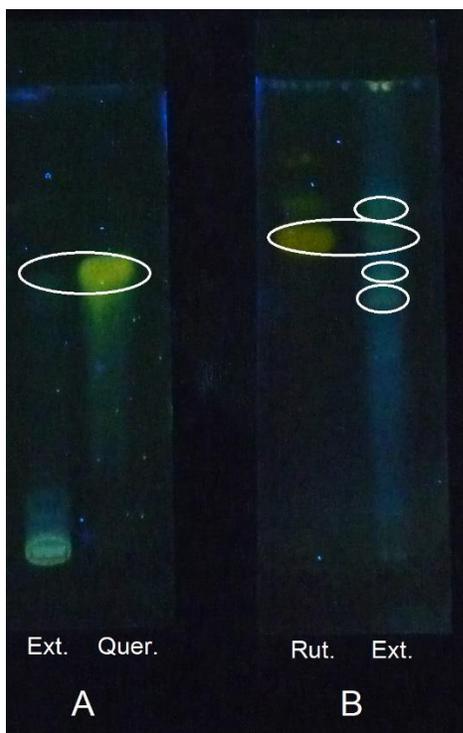


**Figura 13.** Área bajo la curva de la POTG. Las barras representan la media + error estándar. Se aplicó una prueba de ANDEVA seguido de una prueba *post-hoc* de Dunn entre todos los grupos. Sólo ocurrieron diferencias significativas entre los grupos diabéticos y el control.  $*=p<0.05$

## 8.6 Análisis fitoquímico del extracto

En el análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de *R. baccifera* no se ve la presencia de terpenos, pero sí de flavonoides.

El uso de estándares permitió identificar la presencia de la quercetina (Figura 10A) y rutina (Figura 10B). Además, la aparición de múltiples bandas indica la existencia de otros flavonoides glicosilados presentes en el extracto.



**Figura 14.** Cromatografía en capa fina del extracto acuoso de *R. baccifera* y estándares de flavonoides. Ext= extracto acuoso de *R. baccifera*, Quer.= quercetina, Rut.= rutina.

## 9. DISCUSIÓN

El modelo de STZ-NA fue elegido para este estudio ya que permite obtener una hiperglicemia estable y moderada, provocada por la insuficiencia de insulina derivada del daño de la STZ hacia las células  $\beta$  (Furman, 2015). Normalmente se consideran hiperglucémicos los valores  $>150\text{mg/dl}$ ; sin embargo, se ha reportado gran variación inter-

laboratorio, por lo que cada laboratorio debe tener su propio criterio e inclusión (Furman, 2015). En este caso, el criterio que se utilizó fue el incremento significativo en la concentración de glucosa del grupo diabético después de la administración con STZ-NA, además de la presencia de los síntomas típicos de DM, poliuria y polidipsia. La pérdida de peso también es característica de la DM, por lo que también fue un indicador de la enfermedad. Esta disminución en el peso, puede deberse a un incremento en la degradación de proteínas estructurales de los músculos, al verse alterado el metabolismo de glucosa (Junejo *et al*, 2017).

En nuestro estudio, la hiperglucemia presentada por los ratones fue estable, ya que se mantuvo durante las 9 semanas del tratamiento. Sin embargo, también fue una hiperglucemia severa y no moderada como se esperaba, causada por una mayor deficiencia en la insulina, la cual pudo deberse a que la dosis de STZ utilizada fue demasiado alta o a que el tiempo de administración entre la NA y la STZ fue muy largo (Furman, 2015).

Durante el tratamiento crónico no se observó un efecto hipoglucemiante con ninguno de los tratamientos administrados. Esto pudiera deberse a que probablemente la dosis utilizada debería ser mayor. A pesar de que la dosis de glibenclamida utilizada (5 mg/kg) ha sido reportada en diversas publicaciones (Ruohonen *et al*, 2015; Isaza-Mejía *et al*, 2006), la severa hiperglucemia provocada por la administración de STZ pudo ocasionar la ausencia de respuesta por parte de las células  $\beta$  a este fármaco.

De ser éste el caso, esto también podría ser una posible explicación a la ausencia de efecto hipoglucemiante por parte del extracto.

Por otro lado, la POTG se aplica para evaluar la tolerancia a carbohidratos, así como para evaluar la función de las células  $\beta$  pancreáticas y la resistencia a la insulina, (Stumvoll *et al*, 2000). Esta prueba se reporta en diversas publicaciones y suele aplicarse para evaluar algún posible agente para el control de la diabetes (Anaya-Eugenio, Rivero-Cruz, Rivera-Chávez, & Mata, 2014). Por lo que la ausencia de efecto hipoglucemiante por parte del extracto y la glibenclamida podrían sustentar esta hipótesis.

Respecto al extracto de *R. baccifera*, el método de extracción utilizado pudo haber provocado la degradación de algunos compuestos termolábiles. A pesar de esto, el análisis

fitoquímico reveló la presencia de los flavonoides quercetina y rutina, cuya actividad antidiabética ha sido comprobada.

La quercetina se ha encontrado en otras especies de plantas con actividad hipoglucemiante, tales como *O. ficus-indica* (Abdel-Hameed *et al*, 2014) y *Equisetum myriochaetum* (Andrade-Cetto y Heinrich, 2005). Además, se ha observado que un menor riesgo de padecer DMT2 se asocia con un alto consumo de quercetina (Knekt *et al*, 2002).

Por otro lado, la rutina es un flavonoide que también se ha detectado en *Amaranthus spinosus*. En esta especie se ha observado actividad anti-diabética y antiinflamatoria por efectos atribuidos a la rutina (Guevara-Figueroa *et al.*, 2010). Además, se ha reportado que la rutina presenta propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, neuro-, nefro- y hepatoprotectoras. Se ha mostrado su efecto antihiper glucémico con dosis que van de 5 a 100 mg/kg en modelos animales de DMT1 y 2, así como la disminución de la concentración de glucosa en ayunas y los niveles de HbA1c. También se han observado propiedades hipolipidémicas, disminuyendo los niveles séricos de triglicéridos, LDL y VLDL en modelos animales de diabetes (Ghorbani, A. 2017).

Los flavonoides son antioxidantes eficaces debido a sus propiedades de eliminación de radicales libres; además, son quelantes de iones metálicos, por lo que pueden proteger a los tejidos de los radicales libres de oxígeno y la peroxidación lipídica, procesos que en DM pueden llevar a la destrucción de células  $\beta$  y alteraciones en la sensibilidad de la insulina (Knekt *et al*, 2002).

La presencia de estos compuestos en el extracto de *R. baccifera* sugiere probablemente exista una actividad antidiabética que no pudo ser observada en nuestro modelo utilizado.

## **10. CONCLUSIONES**

Con base en los resultados obtenidos en esta investigación, no se puede descartar la actividad de *R. baccifera* como antidiabético.

Si bien la hiperglucemia obtenida por este modelo se mantuvo a lo largo de las 9 semanas del tratamiento, ésta fue severa, lo cual probablemente explique la falta de respuesta ante el tratamiento con glibenclamida y/o el extracto.

La presencia de quercetina y rutina (flavonoides con actividad hipoglucemiante reportada), sugiere que *R. baccifera* podría tener actividad antidiabética, por lo que se sugiere la realización de más estudios, utilizando otro modelo experimental, por ejemplo en rata, que pueda responder a un tratamiento con hipoglucemiantes ya conocidos, como la glibenclamida.

También se sugiere seguir un método de obtención del extracto de acuerdo con la forma de consumo tradicional de la planta por parte de la población. Para ello, se requeriría un trabajo de campo completo que permita conocer a fondo la forma de consumo, preparación y dosis utilizada de manera tradicional.

## 11. REFERENCIAS

- Abdel-Hameed, E., Nagaty, M., Salman, M. & Bazaid, S. (2014) Phytochemicals, nutritionals and antioxidant properties of two prickly pear cactus cultivars (*Opuntia ficus-indica* Mill.) growing in Taif, KSA. *Food Chemistry*. 160. 31-38.
- Aguilar-Contreras, A., & Xolalpa-Molina, S. (2002). La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia*, 53(3), 24–35.  
[https://doi.org/http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53\\_3/herbolaria\\_mexicana.pdf](https://doi.org/http://www.revistaciencia.amc.edu.mx/images/revista/53_3/herbolaria_mexicana.pdf)
- Almaguer-Herrera, A., Soca, P. E. M., Será, C. R., Mariño-Soler, A. L., Oliveros-Guerra, R. C., & Holguín, U. de C. M. de. (2012). Actualización sobre diabetes mellitus. *Correo Científico Médico* 16(2).
- Almeida, O. J. G., Cota-Sánchez, J. H., & Paoli, A. A. S. (2013). The systematic significance of floral morphology, nectaries, and nectar concentration in epiphytic cacti of tribes Hylocereeae and Rhipsalideae (Cactaceae). *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 15(5), 255–268.  
<https://doi.org/10.1016/j.ppees.2013.08.001>
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 37(Suppl.1), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc14-S081>
- American Diabetes Association. (2015). Cetoacidosis. Capturado el 19 de marzo de 2018 del sitio <http://www.diabetes.org/es/vivir-con-diabetes/complicaciones/cetoacidosis.html>
- Anaya-Eugenio, G. D., Rivero-Cruz, I., Rivera-Chávez, J., & Mata, R. (2014). Hypoglycemic properties of some preparations and compounds from *Artemisia ludoviciana* Nutt. *Journal of Ethnopharmacology* 155(1), 416–425.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.05.051>
- Anderson, E. F. (2001). Rhipsalis. In *The cactus family* (pp. 611–613). Portland: Timber Press.

- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99(3), 325–348.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
- Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria* 22(2), 160–68.
- Arias, S., Gama-López, S., Guzmán-Cruz, L. U., & Vázquez-Benítez, B. (2012). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. (R. Medina-Lemos, Ed.), *Cactaceae* (2nd ed.). México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Aronoff, S. L., Berkowitz, K., Shreiner, B., & Want, L. (2004). Glucose Metabolism and regulation: Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes Spectrum* 17(3), 183–190.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.2337/diaspect.17.3.183>
- Arreola, H., Hammel, B., Hilton-Taylor, C., Ishiki, M., Loaiza, C., Nassar, J. & Zappi, D. (2013). *Rhipsalis baccifera*. *The IUCN Red List of Threatened Species*, 8235.  
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T62378A3114245.en>
- Bais, N., Choudhary, G. P., & Dubey, N. (2017). Antidiabetic potentials of common herbal plants and plant products - Review. *International Journal of Pharmacy & Life Sciences* 8(6), 5537–5542.
- Bautista-San Juan, A., Cibrirán-Tovar, J., Salomé-Abarca, L. F., Soto-Hernández, R. M., & De la Cruz-De la Cruz, E. (2017). Composición química del aroma de tallos y frutos de *Rhipsalis baccifera* (J. Miller) stearn. *Revista Fitotecnia Mexicana* 40(1), 45–54.
- Bahmani, M., Golshahi, K., Saki, K., Rafieian-Kopaei, M., Delfan, B. & Mohammadi, T. (2014) Medicinal plants and secondary metabolites for diabetes mellitus control. *Asian Pacific Journal of Tropic Disease* 4(S2), S687-692. 10.1016/S2222-1808(14)60708-8
- Berraaouan, A., Abderrahim, Z., Hassane, M., Abdelkhaleq, L., Mohammed, A. & Mohamed, B. (2015) Evaluation of protective effect of cactus pear seed oil (*Opuntia*

- ficus-indica* L. Mill.) against alloxan-induced diabetes in mice. *Asian Pacific Journal of Tropic Disease* 8(7), 532-537.
- Bourdy, G., Chavez De Michel, L. R., & Roca-Coulthard, A. (2004). Pharmacopoeia in a shamanistic society: The Izoceño-Guaraní (Bolivian Chaco). *Journal of Ethnopharmacology* 91(2–3), 189–208. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2003.09.013>
- Brandelli, C. L. C., Vieira, P. de B., Macedo, A. J., & Tasca, T. (2013). Remarkable Anti-*Trichomonas vaginalis* activity of plants traditionally used by the Mbyá-Guarani indigenous group in Brazil. *BioMed Research International* 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/826370>
- Calvente, A., Zappi, D. C., Forest, F., & Lohmann, L. G. (2011). Molecular phylogeny of tribe Rhipsalideae (Cactaceae) and taxonomic implications for *Schlumbergera* and *Hatiora*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 58(3), 456–468. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.01.001>
- Carbonó-Delahoz, E., & Dib-Diazgranados, J. C. (2013). Plantas medicinales usadas por los Cogui en el río Palomino , Sierra Nevada De Santa Marta (Colombia). *Caldasia* 35(2), 333–350.
- Cota-Sanchez, H. J., & Bomfim-Patricio, M. C. (2010). Seed morphology, polyploidy and the evolutionary history of the epiphytic *Rhipsalis baccifera* (Cactaceae). *Polibotánica* 29, 107–129.
- Cota-Sánchez, J. H. (2004). Vivipary in the Cactaceae: Its taxonomic occurrence and biological significance. *Flora* 199(6), 481–490. <https://doi.org/10.1078/0367-2530-00175>
- De Filippis, R., Maina, S. I., & Crepin, J. (2004). Medicinal plants of the Guianas (Guyana, Surinam, French Guiana). *Histoire* 15, 64.
- Dendup, T., Feng, X., Clingan, S., & Astell-Burt, T. (2018). Environmental risk factors for developing type 2 Diabetes Mellitus: A systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 15(1), 78.

<https://doi.org/10.3390/ijerph15010078>

- Feng, P. C., Haynes, L. J., Magnus, K. E., Plimmer, J. R., & Sherratt, H. S. (1962). Pharmacological screening of some West Indian medicinal plants. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 14(1), 556–561. <https://doi.org/doi:10.1111/j.2042-7158.1962.tb11139.x>
- Fonseca, V. A. (2009). Defining and characterizing the progression of type 2 Diabetes. *Diabetes Care*, 32 Suppl 2, S151–S156. <https://doi.org/10.2337/dc09-S301>
- Fuentes, V. R. (2005). Etnobotánica de Cactaceae en Cuba. Habana. Capturado del sitio web <https://es.scribd.com/document/61482160/Etnobotanica-de-Cactaceae-en-Cuba>
- Furman, B. L. (2015). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols in Pharmacology* 70(September), 5.47.1-5.47.20. <https://doi.org/10.1002/0471141755.ph0547s70>
- Gheibi, S., Kashfi, K., & Ghasemi, A. (2017). A practical guide for induction of type-2 diabetes in rat: Incorporating a high-fat diet and streptozotocin. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 95(24), 605–613. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.098>
- Ghorbani, A. (2017) Mechanisms of antidiabetic effects of flavonoid rutin. *Biomedicine and pharmacotherapy*. 96. 305-312.
- Gil-Velázquez, L. E., Sil-Acosta, M. J., Domínguez-Sánchez, E. R., Torres-Arreola, L. del P., & Medina-Chávez, J. H. (2013). Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*. 51(1), 104–19. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2013/im131o.pdf>
- Goday, A., Franch, J., & Mata, M. (2001). La terapia combinada en la diabetes tipo 2. Criterios y pautas. *Endocrinología y Nutrición* 38(6), 270–289. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(01\)73510-3](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(01)73510-3)
- González-Sarmiento, E., Hinojosa Mena-Bernal, M. C., & Inglada-Galiana, L. (2008). Diabetes mellitus tipo 1 y 2: etiopatogenia, formas de comienzo, manifestaciones clínicas, historia natural. *Medicine* 10(17), 1091–1101. <https://doi.org/10.1016/S0211->

3449(08)73212-0

- González-Stuart, A. (2013) Prickly pear cactus ("Nopal") for the treatment of type 2 diabetes mellitus. En *Bioactive food as dietary interventions for diabetes*. Elsevier. 601-607
- Governa, P., Bains, G., Borgonetti, V., Cettolin, G., Giachetti, D., Magnano, A. R., & Biagi, M. (2018). Phytotherapy in the management of diabetes : A review. *Molecules* 23(105), 1–23. <https://doi.org/10.3390/molecules23010105>
- Guaraldo, A. D. C., Boeni, B. D. O., & Pizo, M. A. (2013). Specialized seed dispersal in epiphytic cacti and convergence with mistletoes. *Biotropica* 45(4), 465–473. <https://doi.org/10.1111/btp.12041>
- Guzmán-Gutiérrez, S. L., Reyes-Chilpa, R., & Bonilla-Jaime, H. (2014). Medicinal plants for the treatment of “nervios”, anxiety, and depression in mexican traditional medicine. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 24(5), 591–608. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2014.10.007>
- Guzmán, U., Arias, S., & Dávila, P. (2003). *Catálogo de cactáceas mexicanas*. UNAM, México, 1a. ed. Capturado del sitio web <https://es.scribd.com/doc/151725512/Catalogo-de-Cactaceas-Mexicanas-U-Guzman-S-Arias-y-P-Davila>
- Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *Salud Pública de México* 55 Supl. 2(1), S129–S136.
- Hernández-Vázquez, E., Ocampo-Montalban, H., Cerón-Romero, L., Cruz, M., Gómez-Zamudio, J., Hiriart-Valencia, G. & Estrada-Soto, S. (2017). Antidiabetic, antidyslipidemic and toxicity profile of ENV-2: A potent pyrazole derivative against diabetes and related diseases. *European Journal of Pharmacology* 803(December 2016), 159–166. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.03.036>
- Hugués-Hernandorena, B., Rodríguez-García, J. C., Rodríguez-González, J. C., & Marrero-

- Rodríguez, M. T. (2002). Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología* 13(2), 160–168.
- Isaza-Mejía, G., Cristancho, L., Cruz-Giraldo, A. & Castillo-Giraldo, H. (2006) Efectos de la *Senna reticulata* en la glicemia de ratones normoglicémicos e hiperglicémicos. *Biosalud*. 5. 61-67.
- Juárez-Reyes, K., Brindis, F., Medina-Campos, O. N., Pedraza-Chaverri, J., Bye, R., Linares, E., & Mata, R. (2015). Hypoglycemic, antihyperglycemic, and antioxidant effects of the edible plant *Anoda cristata*. *Journal of Ethnopharmacology* 161, 36–45. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.052>
- Junejo, J. A., Rudrapal, M., Nainwal, L. M., & Zaman, K. (2017). Antidiabetic activity of hydro-alcoholic stem bark extract of *Callicarpa arborea* Roxb. with antioxidant potential in diabetic rats. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 95, 84–94. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2017.08.032>
- Khelt, P., Kumpulainen, J., Järvinen, R., Rissanen, H., Heliövaara, M., Reunanen, A., Hakulinen, T. & Aramaa, A. (2002) Flavonoid intake and risk of chronic diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*. 76(3) 560-568.
- Lin, H. V., & Accili, D. (2011). Hormonal regulation of hepatic glucose production in health and disease. *Cell Metabolism* 14(1), 9-19. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2011.06.003>
- Malin, S. K., & Kashyap, S. R. (2016). Type 2 diabetes treatment in the patient with obesity. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America* 45(3), 553–564. <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2016.04.007>
- Matsuyama-Yokono, A., Tahara, A., Nakano, R., Someya, Y., Shiraki, K., Hayakawa, M. y Shibasaki, M. (2009) Antidiabetic effects of dipeptidyl peptidase-IV inhibitors and sulfonylureas in streptozotocin-nicotinamide-induced mildly diabetic mice. *Metabolism: clinical and experimental*. 58(3) 379-386.
- Meza-Nivón., M. V. (2011). *Cactáceas mexicanas: usos y amenazas*. México.

- Nath, S., Ghosh, S. K., & Choudhury, Y. (2017). A murine model of type 2 diabetes mellitus developed using a combination of high fat diet and multiple low doses of streptozotocin treatment mimics the metabolic characteristics of type 2 diabetes mellitus in humans. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 84, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2016.10.007>
- Naturalista. (s.f.). Cola de caballo (*Rhipsalis baccifera*). Capturado el 14 de septiembre de 2018 del sitio web <https://www.naturalista.mx/taxa/119900-Rhipsalis-baccifera>
- Organización Mundial de la Salud. (2017). Diabetes. Capturado el 20 de enero de 2018 del sitio web <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Ramos, H. G., & Méndez, J. (1994). Diabetes mellitus experimental. *Ciencia Veterinaria* 6, 348–371.
- Ruohonen, S., Ranta-Panula, V., Bastman, S., Chrusciel, P., Scheinin, M. & Streng, T. (2015) Potentiation of glibenclamide hypoglycemia in mice by MK-467, a peripherally acting alpha2-adrenoreceptor antagonist. *Basic and clinical pharmacology and toxicology*. 117. 392-398.
- Stumvoll, M., Mitrakou, A., Pimenta, W., Jenssen, T., Yki-Järvinen, H., Van Haeften, T. & Gerich, J. (2000). Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23(3), 295–301. Capturado del sitio web <http://care.diabetesjournals.org/content/23/3/295.full-text.pdf>
- Tang, T., Duan, X., Ke, Y., Zhang, L., Shen, Y., Hu, B., & Liu, Y. (2018). Antidiabetic activities of polysaccharides from *Anoectochilus roxburghii* and *Anoectochilus formosanus* in STZ-induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules* 112, 882–888. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.02.042>
- Torres-Luna, A. F. (2013). Evaluación del efecto hipoglucemiante de un extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus*, en un modelo de ratones CD1. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Upadhyay, J., Polyzos, S. A., Perakakis, N., Thakkar, B., Paschou, S. A., Katsiki, N. &

- Mantzoros, C. S. (2018). Pharmacotherapy of type 2 diabetes: An update. *Metabolism* 78, 13–42. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2017.08.010>
- Valente, L. M. M., Scheinvar, L. A., da Silva, G. C., Antunes, A. P., dos Santos, F. A. L., Oliveira, T. F. & Gibaldi, D. (2007). Evaluation of the antitumor and trypanocidal activities and alkaloid profile in species of Brazilian Cactaceae. *Pharmacognosy Magazine* 3(11), 167. Capturado del sitio web <http://www.phcog.com/article.asp?issn=0973-1296;year=2007;volume=3;issue=11;spage=167;epage=172;auiast=Valente;type=0>
- Villaseñor, J. L. (2016). Checklist of the native vascular plants of Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87, 559–902. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.06.017>
- Villavicencio, M., & Pérez, E. (2006). *Plantas útiles del estado de Hidalgo III*. Pachuca: Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Walters, R. H., Bhatnagar, B., Tchessalov, S., Izutsu, K., Tsumoto, K., & Ohtake, S. (2014). Next generation drying technologies for pharmaceutical applications. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 103(9), 2673–2695. <https://doi.org/10.1002/jps.23998>