



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudio hipoglucemiante agudo del extracto etanol-agua
de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg.
en ratas STZ-NA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Bióloga

P R E S E N T A:

Samantha Martínez Medina



**FACULTAD DE
CIENCIAS**

**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Adolfo Andrade Cetto**

Ciudad de México, 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.

1. Datos de alumno:

Samantha Martínez Medina

5549569833

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

309240930

2. Datos del tutor:

Dr. Adolfo Andrade Cetto

3. Datos del sinodal 1:

Dra. Nadia Judith Jacobo Herrera

4. Datos del Sinodal 2:

Dra. Josefina Herrera Santoyo

5. Datos del Sinodal 3:

Dra. Sonia Marlén Escandón Rivera

6. Datos del Sinodal 4:

M. en C. Gerardo Mata Torres-Valle

7. Datos del Trabajo escrito

“Estudio hipoglucemiante agudo del extracto etanol-agua de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg. en ratas STZ-NA”

62 páginas

2019

Agradecimientos

Quiero agradecer a la Universidad Nacional Autónoma de México, a la Facultad de Ciencias y al laboratorio de Etnofarmacología por su compromiso con la innovación, el desarrollo de conocimiento e investigación, en cuyo seno pude crecer como científica, bióloga, alumna y persona.

Un sincero agradecimiento al proyecto DGPA PAPIIT con clave IN228216 por el financiamiento del presente trabajo y por la beca otorgada para concluir mis estudios.

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por recibirme en su laboratorio, por la confianza que me dio para realizar mi proyecto de tesis, por sus palabras de apoyo, dedicar tiempo a mi capacitación, y asesorar pacientemente mi tesis.

A la Dra. Nadia Jacobo y a la Dra. Josefina Santoyo por el tiempo, comentarios y revisiones.

A Artemisa y Gerardo, por su excelente trabajo como profesores y asesores, así como por el ánimo y apoyo que me han brindado siempre dentro y fuera del laboratorio. Fueron un excelente ejemplo de maestros, dedicados a la trasmisión de conocimiento a sus alumnos. Su paciencia y dedicación fueron fundamentales. Gracias por ser parte de mi formación.

A la Dra. Sonia por la ayuda que representó su guía en la elaboración de las pruebas fitoquímicas, el tiempo y paciencia que me brindó.

A mi profesor de laboratorio y taller Christian por fomentar un gran trabajo en equipo y resolver mis dudas con amabilidad.

Me siento muy afortunada de haber podido encontrar en el laboratorio personas que fomentan compenetración, compañerismo y camaradería, formando un ambiente agradable y propicio para el crecimiento de todos, gracias por su asesoría, compañía, apoyo y amistad durante este proceso que enriqueció mi vida, me llevo las conexiones que forjamos en mi corazón.

Agradezco profundamente a mis padres, cuyo amor y apoyo ha sido fundamental para la realización de mi carrera y la culminación de este proyecto. Gracias Blanquita por tu amor, soy afortunada de haber recibido tanta dedicación y guía de tu parte. Edgar, muchas gracias por enseñarme el valor del trabajo duro y de esforzarme por aquellas cosas que valen la pena. Siempre me han impulsado a seguir mi curiosidad y a ser más fuerte sin importar las circunstancias, gracias por sus enseñanzas. Este logro también es suyo.

Gracias a mi familia abuel@s, tí@s y prim@s, personas que formaron un núcleo que puedo llamar mi hogar, que representa en mí un pilar base en mi vida y que siempre atesoraré. Desde mi nacimiento me abrazaron con amor, solidaridad, aprecio, diversión, complicidad, ternura y fuerza. Todos ustedes son piezas del rompecabezas de mi vida, sólo quiero agradecerles por estar ahí, por haberme hecho arañas con bombones y limpiapipas, por las gardenias para mi cuarto, por disfrutar conmigo las películas simplonas, por los snacks de media noche, por compartirme de sus recuerdos, por incluirme en sus viajes, por las aventuras de última

hora, por ser magníficos confidentes, por acompañarme en el crecimiento, por darme un hogar y sobre todo por su apoyo. Por dejarme ver cómo son y conocerlos. Abuelit@s los adoro, tí@s l@s quiero y respeto, primit@s son los mejores!

A mis amigos y compañeros de la universidad Jimena, Luis, Omar, Hugo y Jorge por su amistad, sin duda este proceso no hubiese sido lo mismo sin ustedes, gracias por estar a mi lado desde las clases hasta este punto.

A Jime por tu sincera amistad, por acompañarme con tu alegría y tu espíritu positivo, por el tiempo compartido y tus valiosas aportaciones a este trabajo.

A Lore, Sofi y Sergio gracias por ser mis amigos, desde el inicio hasta el final, hemos compartido felicidad y frustraciones y he aprendido tanto a su lado. Nunca podré agradecer por todos los buenos momentos, el apoyo, cuidado y protección que me han brindado a lo largo de estos años, ustedes son invaluable para mí.
Gracias bebés.

A Cindy por esta maravillosa amistad, que hemos construido a través del tiempo, por compartir tus pensamientos, sentimientos, bondad y fortaleza, por escucharme cuando lo he necesitado, aconsejarme cuando crees que es preciso, por quererme como soy. Los recuerdos que compartimos brillan con luz propia, y confío en seguir compartiendo muchos más.

A Gilda y Karen que desde muy temprano en la vida nos encontramos, que me brindaron la certeza del significado de la amistad, llena de amor, respeto, empatía, complicidad, ternura, crecimiento, fuerza, aventuras y muchas muchas risas. Pasa el tiempo, hemos crecido y cambiado pero continúa el espacio propio donde tenemos la libertad de ser nosotras sin juicios, de crecer, cambiar y seguir caminando juntas a través de los proyectos que tengamos. Gracias por abrir su alma y compartir su espíritu, las quiero babys.

Índice de figuras

Figura 1. Factores de riesgo en la DM2.

Figura 2. Fisiopatología de la DM2.

Figura 3. Complicaciones de la DM2.

Figura 4. Hipoglucemiantes orales y su acción fisiológica.

Figura 5. Escalonamiento y tratamientos en la DM2.

Figura 6. Mecanismo de secreción de insulina.

Figura 7. Canal de potasio (KATP).

Figura 8. Secreción de insulina por sulfonilureas.

Figura 9. Receptor de sulfonilurea (SUR) y sitios de unión de glibenclamida y repaglinida.

Figura 10. Estructura química de la nicotinamida y estreptozotocina.

Figura 11. Mecanismo de acción del modelo STZ-NA.

Figura 12. *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg.

Figura 13. CCF placa 1: Terpenos.

Figura 14. CCF placa 2: Flavonoides agliconas.

Figura 15. CCF placa 3: Flavonoides glicosilados.

Figura 16. CCF placa 4: Azúcares.

Figura 17. CCF placa 5: Alcaloides.

Índice de tablas

Tabla 1. Hipoglucemiantes orales.

Tabla 2. Diferencias entre los fármacos glibenclamida y repaglinida.

Tabla 3. Modelos animales de DM2.

Tabla 4. Grupos experimentales y tratamientos.

Tabla 5. Control, fase móvil y revelador de las placas de cromatografía de capa fina.

Tabla 6. Rendimiento del extracto etanol-agua de *E. polystachya*.

Tabla 7. Promedio de valores de glucosa en sangre (mg/dl) \pm EEM de los grupos sin carga de glucosa.

Tabla 8. Promedio de valores de glucosa en sangre (mg/dl) \pm EEM de los grupos con carga de glucosa.

Tabla 9. Bandas identificadas de la CCF del extracto etanol-agua de la corteza de *E. polystachya*.

Índice de Gráficas

Gráfica 1. Resultado de los ensayos agudos de los grupos sin carga de glucosa.

Gráfica 2. Resultados de los ensayos agudos de los grupos con carga de glucosa.

Abreviaturas

Ác C	Ácido caféico
Ác Cl	Ácido clorogénico
ATP	Adenosín trifosfato
Ca²⁺	Calcio
Col	Colchicina
Dex	Dextrosa
DG	Diabetes gestacional
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DPP-4	Dipeptidil peptidasa 4
Ex	Extracto
Glu	Glucosa
GLUT	Glucotransportadores
H	Control hiperglucémico
HbA1c	Hemoglobina glicada
HEX	Control hiperglucémico con extracto
HEXG	Control hiperglucémico con extracto y glucosa
HG	Control hiperglucémico con glucosa
HGli	Control hiperglucémico con glibenclamida
HRepG	Control hiperglucémico con repaglinida y glucosa
KATP	Canales de potasio sensibles a ATP
Man	Manosa
N	Control normoglucémico
NA	Nicotinamida
NAD⁺	Nicotinamida adenina dinucleótido
NG	Control normoglucémico con glucosa
Q	Quercetina
Qui	Quinina
R	Rutina
S	Sacarosa
STZ	Estreptozotocina
SUR	Receptor de sulfonilureas
T	Timol

Índice

1. Resumen	10
2. Introducción.....	11
3. Antecedentes	12
3.1 Diabetes mellitus	13
3.1.1 Clasificación	14
3.1.2 Factores de riesgo	15
3.1.3 Sintomatología	16
3.1.4 Criterios de diagnóstico	17
3.2 Diabetes mellitus tipo 2.....	17
3.2.1 Fisiopatología de la DM2	17
3.2.2 Complicaciones.....	19
3.2.3 Tratamiento.....	20
3.3 Hipoglucemiantes orales.....	20
3.3.1 Secretagogos de insulina.....	24
3.4 Modelos animales utilizados en el estudio de DM2	30
3.4.1 Modelo de hiperglucemia inducida con STZ-NA	31
3.5 Cromatografía en capa fina (CCF).....	32
3.6 Etnofarmacología.....	33
3.6.1 <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg	34
4. Justificación.....	38
5. Objetivos	39
6. Hipótesis	39
7. Material y método	40
7.1 Recolecta en campo	40
7.2 Elaboración del extracto etanol-agua de la corteza <i>E. polystachya</i>	40
7.3 Cálculo de dosis y DER (drug extract ratio) por sus siglas en inglés.....	40

7.4 Animales de experimentación	41
7.5 Inducción del modelo STZ-NA	41
7.6 Grupos experimentales y tratamientos.....	41
7.7 Análisis de datos	42
7.8 Identificación de compuestos fitoquímicos	42
8. Resultados	44
8.1 Cálculo de dosis y DER	44
8.2 Experimento agudo	44
8.3 Cromatografía en capa fina (CCF).....	47
9. Discusión	51
10. Conclusiones	54
Referencias	55

1. Resumen

México presenta una de las tasas más altas en prevalencia de obesidad y diabetes en el mundo, lo cual se encuentra asociado a un pobre control glucémico en los pacientes (Alegre-Díaz et al., 2016). El problema existente en cuanto al deficiente control de la diabetes en la población mexicana justifica la investigación y desarrollo de estrategias destinadas a mejorar la calidad médica para el control glucémico.

En México, existe un gran número de plantas utilizadas en la medicina tradicional para prevenir, mantener la salud, y tratar enfermedades. Se tiene reportado que, al menos 383 especies se emplean para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2 (Rugiero-Escalona et al., 2018), por lo que el interés farmacológico en la eficacia y seguridad de los tratamientos a base de plantas ha crecido durante los últimos años.

En el presente trabajo se realizó un estudio farmacológico evaluando el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de la planta *Eysenhardtia polystachya* recolectada en la comunidad de Tamala, municipio de Tepehuacan de Guerrero en el estado de Hidalgo. Simultáneamente se realizaron pruebas fitoquímicas preliminares para el reconocimiento de metabolitos secundarios específicos tales como terpenos, azúcares, flavonoides agliconas, flavonoides glicosilados y alcaloides mediante placas cromatográficas. El trabajo farmacológico consistió en un estudio *in vivo* en el que se realizaron curvas de tolerancia oral a la glucosa, las cuales tuvieron una duración de 120 min, en donde los niveles de glucosa sanguínea fueron medidos en intervalos de 30 min. Para ello se emplearon ratas de la cepa Wistar previamente inducidas bajo el modelo hiperglucémico STZ-NA agrupadas en 2 categorías: con y sin carga de glucosa.

Como resultados, en las placas cromatográficas se observó una mezcla abundante de azúcares y flavonoides glicosilados y agliconas, sin embargo no fue posible observar la presencia de timol como terpeno ni colchicina ni quinina como alcaloides. Mientras que en el estudio *in vivo*, el extracto de *E. polystachya* mostró un claro efecto hipoglucemiante el cual se manifiesta administrando o no una carga de glucosa oral. Una hipótesis es que se ve favorecida la captación de glucosa en tejidos periféricos al ejercer un efecto sensibilizador a la insulina sobre ellos, lo que disminuye la concentración de glucosa circundante en la sangre.

2. Introducción

En la actualidad, entre las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT), la diabetes mellitus (DM) es una de las principales causas de mortalidad en el mundo. Entre los miembros de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), México es el primero en prevalencia de diabetes y el segundo en obesidad (Alcalde-Rabanal, Orozco-Núñez, Espinosa-Henao, Arredondo-López, & Alcayde-Barranco, 2018). Asimismo, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es una de las causas más frecuentes de demanda en atención médica, discapacidad y mortalidad en la población adulta, en México representa la primer causa de alta hospitalaria en el Instituto Mexicano de Seguridad Social (IMSS) (Villalpando et al., 2010). El control adecuado de esta enfermedad es esencial para evitar complicaciones que disminuyan la calidad de vida de las personas y afecten su desarrollo personal y socioeconómico.

Actualmente, las alternativas terapéuticas incluyen diversos hipoglucemiantes orales que pueden utilizarse en monoterapia, o en terapia conjunta, algunos ejemplos son las biguanidas, sulfonilureas, meglitidinas, tiazolidinedionas, análogos de incretinas, inhibidores de DPP-4 y α -glucosidasas (Rugiero-Escalona et al., 2018). México cuenta con una red de hospitales y centros de atención primaria de salud, los cuales desempeñan un papel importante en la prevención y el control de enfermedades crónicas, sin embargo el control de la diabetes es deficiente, al considerar que tan solo uno de cada cinco pacientes diabéticos está bajo control (Alcalde-Rabanal et al., 2018).

Teniendo en consideración las grandes disparidades y la heterogeneidad de los factores de riesgo y atención médica en todo el país, la medicina tradicional representa un pilar en la prestación de servicios de salud (Meza et al., 2015). La medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada en la atención de salud, y representa en muchas ocasiones la primer vía de atención de los pacientes, además las plantas medicinales son el recurso más conocido y accesible para las personas de distintos estratos socioeconómicos en México (Estrada-Castillón et al., 2012), por lo que son una fuente valiosa en la búsqueda de nuevos compuestos medicinales que representen alternativas en el desarrollo de opciones fitoterapéuticas eficaces para el control de la DM (Villarreal-Ibarra et al., 2015).

3. Antecedentes

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades con mayor prevalencia en el mundo. Durante las últimas décadas se ha observado un aumento desenfrenado de este padecimiento alcanzando en la actualidad proporciones epidémicas (Rowley, Bezold, Arikan, Byrne, & Krohe, 2017). Resulta inquietante el incremento de personas que lo padecen, tan sólo en 2012 se estimaron un total de 347 millones de personas con diabetes en el mundo; un año después se calculó un total de 382 millones; en 2015 el aumento ascendió a 415 millones; y finalmente en 2017, se obtuvo un estimado de 425 millones de personas diabéticas en el mundo (OMS, 2012; IDF, 2013; IDF, 2015; IDF, 2017).

En la actualidad, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) representa cerca del 90% de los casos a nivel mundial y de acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (IDF), en 2045 habrá 629 millones de personas con diabetes en el mundo. De manera general, puede observarse un crecimiento continuo de personas que desarrollan esta condición, sin embargo, es en la región de Norte América y el Caribe en donde se presenta la mayor prevalencia *per cápita* observándose que uno de cada ocho adultos lo padece (IDF, 2017; IDF, 2015).

Es importante destacar que, en 2017 se estimaron aproximadamente 212.4 millones de personas sin diagnosticar, es decir, el 50% de los adultos con diabetes no eran conscientes de su condición, lo que representa un enorme riesgo de desarrollar complicaciones a largo plazo (IDF, 2017). La diabetes y sus complicaciones son la principal causa de muerte en la mayoría de los países. Tan sólo en 2017, cuatro millones de personas murieron a causa de ello, lo que representa el 10.7% de la mortalidad total en el mundo (IDF, 2017). Además, el atender dichas complicaciones impacta directamente en la economía de los pacientes y en los sistemas de salud, lo que se ve reflejado en el gasto sanitario destinado por país, el cual según la IDF fue entre el 5 y 20% en 2015, mientras que el gasto global fue del 12%, incluyendo sectores privados y públicos (IDF, 2015).

El realizar un temprano control y diagnóstico de la diabetes resulta de gran importancia, ya que de esta forma los pacientes tienen mayores posibilidades de prevenir o retrasar complicaciones nocivas y potencialmente mortales; además de implementar estrategias para incorporar cambios en el estilo de vida con el fin de reducir el aumento de esta enfermedad.

3.1 Diabetes mellitus

La DM es un grupo de enfermedades metabólicas de etiología múltiple que se caracteriza por presentar hiperglucemia crónica resultante de defectos en la secreción de la insulina, su acción o ambas, dando lugar a la alteración en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. La IDF (2017) define diabetes como una condición crónica que ocurre cuando hay niveles elevados de glucosa en la sangre debido a que el cuerpo presenta una nula o deficiente producción de insulina y no es capaz de utilizarla adecuadamente.

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células β de los islotes pancreáticos en respuesta a niveles elevados de glucosa en la sangre, actúa regulando funciones energéticas tales como el metabolismo de la glucosa y lípidos. Cuando la insulina se une a su receptor, éste desencadena múltiples vías de señalización que regulan sus acciones biológicas (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008). La insulina favorece la entrada y almacenamiento de glucosa en tejido adiposo y músculo esquelético, de tal forma que se mantenga una correcta homeostasis de glucosa en el cuerpo.

La resistencia a la insulina, por otro lado, es un estado patológico en el cual las células que ordinariamente responden a su estímulo dejan de hacerlo. La incapacidad de los órganos blanco de responder es atribuida a defectos durante su señalización. En consecuencia, las células β resultan incapaces de mantener sostenidamente la secreción de insulina, por lo que después de años de mantener esta condición, el páncreas termina agotándose, y es en esta etapa cuando se presenta la hiperglucemia tanto en ayuno como en el estado postprandial (IDF, 2013; IDF, 2015; Fernandez, 2013).

3.1.1 Clasificación

De acuerdo con Asociación Americana de Diabetes ADA 2018 (Riddle et al., 2018), la DM puede clasificarse en cuatro categorías clínicas de acuerdo a su origen:

- Diabetes mellitus tipo I (DM1): se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células β del páncreas y, en general, muestra un déficit absoluto de insulina; por lo que los pacientes con DM1 requieren necesariamente administración de insulina. La prevalencia a nivel mundial de este padecimiento se encuentra cerca del 10% de todos los casos de diabetes, además presenta una variación geográfica muy marcada, siendo los países escandinavos los que muestran los índices más altos de este padecimiento. La destrucción autoinmune de

las células β tiene múltiples predisposiciones genéticas además de estar relacionada con factores ambientales que aún no están del todo definidos.

- Diabetes mellitus tipo 2 (DM2): se caracteriza por un déficit progresivo de secreción de insulina con base en la insulinoresistencia. La DM2 comprende alrededor de 90 a 95% de los casos totales de diabetes en el mundo. Se caracteriza por presentar una secreción anormal de insulina, el declive en su acción, o ambas. La DM2 se encuentra presente en todo el mundo, siendo este tipo de diabetes la que se ha incrementado de manera epidémica en las últimas décadas. Si bien la carga genética es un factor importante para el desarrollo de la DM2, el estilo de vida es determinante para la aparición de la misma. Una dieta con poco valor nutricional e inactividad física predisponen al desarrollo de DM2, guardando una estrecha relación con la obesidad para desarrollarse.

- Diabetes gestacional (DG): se define como cualquier caso de intolerancia a la glucosa diagnosticado por primera vez durante el embarazo. La DG se debe a los cambios hormonales que se producen, cuya función es la de favorecer el desarrollo del feto. Esta clasificación se aplica tanto en los casos en que dicho estado se revierte después del parto, como en aquellos en los que continúa aún después del mismo. Se presenta alrededor del 7% de los embarazos.

- Otros tipos específicos de DM: se refieren a otras causas, como defectos genéticos en la función de las células β o en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino, endocrinopatías, diabetes inducidas farmacológica o químicamente, o infecciones.

A) Diabetes por defectos genéticos de las células β : se produce por mutaciones en proteínas que participan de manera crítica en el funcionamiento de las células β . Se caracteriza por defectos en la secreción de la insulina, sin embargo su acción no se ve afectada. Otra anomalía genética de este grupo de enfermedades es la incapacidad de transformar la insulina inmadura (proinsulina) a su forma activa. Este defecto se ha visto en muy pocos pacientes.

B) Diabetes por defectos genéticos en la acción de la insulina: Existen casos poco frecuentes en los que la diabetes se produce por anomalías genéticas de proteínas que participan en la acción de la insulina. El leprechaunismo y el síndrome de Rabson-Mendenhall son dos síndromes pediátricos que tienen mutaciones en el gen del receptor de la insulina, lo cual conlleva a alteraciones en la función del receptor de insulina y resistencia extrema a la misma.

C) Alteraciones en el páncreas exócrino: Se puede definir como cualquier proceso que dañe el páncreas de forma que pueda desencadenar diabetes. Los procesos adquiridos incluyen pancreatitis, trauma, infección, pancreatectomía y carcinoma pancreático.

D) Endocrinopatías: Las endocrinopatías son enfermedades en las que se produce un aumento de los niveles de hormonas que antagonizan la acción de la insulina, como la hormona de crecimiento, cortisol, glucagón y adrenalina, los cuales pueden ser causales de diabetes. Entre las enfermedades que originan diabetes se encuentran acromegalia, síndrome de Cushing, glucagonoma y feocromocitoma. La diabetes por endocrinopatías suele ser pasajera y se resuelve cuando los niveles de estas hormonas se controlan y se mantienen en las concentraciones normales.

E) Diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas: Se refiere a sustancias que no son *per se* causantes de diabetes, pero precipitan la enfermedad en individuos con resistencia a la insulina.

F) Infecciones: Ciertos virus se han asociado con la destrucción de células β . Diversas infecciones virales se asocian con el desarrollo de diabetes, como rubéola congénita, infecciones por coxsackievirus B, citomegalovirus y adenovirus, y paperas.

3.1.2 Factores de riesgo

La etiología de la DM2 es multicausal, como se observa en la figura 1 existen diversos factores de riesgo que no son posibles de modificar tales como etnicidad, la herencia a la predisposición de la enfermedad o la edad, sin embargo es posible evitar el desarrollo de la DM2 modificando otros factores de riesgo relacionados con los hábitos, tanto alimenticios como sedentarios (Cornell, 2015; Zhang et al., 2017). Una alimentación balanceada y ejercicio físico son imprescindibles, al igual que el mantenimiento de un peso adecuado y una circunferencia de cintura menor a 80 cm en mujeres y menor a 90 cm en hombres (IDF, 2017).

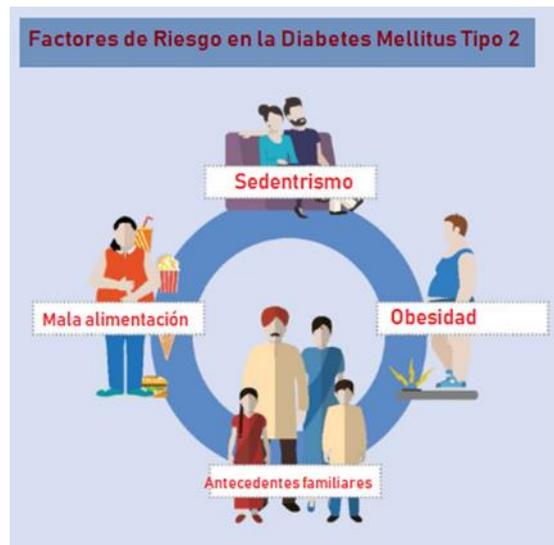


Figura 1. Factores de riesgo ambientales y genéticos que influyen para el desarrollo de la DM2 (Modificado de Atlas IDF, 2017).

La prevención y diagnóstico precoz son esenciales para el control y manejo de la DM2, esto con la finalidad de evitar o retrasar sus complicaciones a largo plazo, es común que la DM2 no sea diagnosticada sino hasta algunos años después de desarrollarla. Se reconoce una fase asintomática que puede variar entre los 4 y 7 años, en la cual ya se tiene DM y no es diagnosticada sino hasta que comienzan a presentarse complicaciones vasculares crónicas (Habibi, Ahmadi, & Alizadeh, 2015).

3.1.3 Sintomatología

A pesar de que la enfermedad es asintomática, en algunos casos se pueden generar síntomas. Los síntomas y signos de la diabetes, cualquiera que sea su etiología, son poliuria (aumento en la producción de orina), polidipsia (aumento de la sed), polifagia (hambre) y pérdida de peso. En condiciones normales, la glucosa sanguínea se reabsorbe en su totalidad a nivel de las nefronas, (unidades funcionales del riñón) sin embargo, en la DM2 el exceso de glucosa sobrepasa la capacidad del filtro renal para su reabsorción y por lo tanto, la glucosa excedente es eliminada a través de la orina, lo que exige el aumento en el consumo de agua para su dilución causando poliuria. A su vez, la pérdida de agua es el motivo de la polidipsia. Por otra parte, la sensación constante de apetito que deriva en la polifagia resulta como consecuencia de la resistencia a la insulina y el fallo en cuanto a la asimilación glucosa en los tejidos. Asimismo, esta ineficiente utilización de glucosa induce al organismo a recurrir a otras fuentes de energía, por lo que se consumen las reservas de

carbohidratos y lípidos disminuyendo los depósitos de triglicéridos en el tejido adiposo y causando pérdida de peso (IDF. 2017).

3.1.4 Criterios de diagnóstico

De acuerdo con la ADA 2018 (Riddle et al., 2018), existen concentraciones de glucosa sanguínea consideradas dentro de los parámetros normales y otros que determinan la presencia de diabetes; por lo que se realizan distintas pruebas para su determinación:

-Prueba aleatoria (o casual) de glucosa plasmática: esta prueba se realiza en cualquier momento del día cuando se presentan síntomas de diabetes severa. Se diagnostica DM cuando la glucosa en sangre es ≥ 200 mg/dl.

-Glucosa plasmática en ayunas: esta prueba generalmente se realiza con 8 horas de ayuno previo, midiendo el nivel de glucosa en la sangre. Se diagnostica DM cuando la glucosa plasmática en ayunas es ≥ 126 mg/dl.

-Prueba de tolerancia a la glucosa oral: es una prueba con duración de dos horas, la cual consiste en tomar una bebida con 75 g de glucosa anhidra y medir sus niveles plasmáticos antes y 2 horas después de tomarla. Esta prueba indica cómo el cuerpo procesa la glucosa, se diagnostica diabetes cuando después de 2 horas sus niveles en sangre son ≥ 200 mg/dl.

-Hemoglobina glicada (HbA1c): La prueba HbA1c requiere de un ayuno previo, mide el nivel promedio de glucosa en la sangre durante los últimos 2 ó 3 meses. Se diagnostica DM cuando A1C es $\geq 6.5\%$.

3.2 Diabetes mellitus tipo 2

3.2.1 Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2

La DM2 se caracteriza por presentar defectos en la acción y secreción de la insulina, lo que contribuye a la prevalencia del estado hiperglucémico, resultando en la alteración en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. Su fisiopatología involucra por lo tanto una amplia gama de órganos; entre los principales se encuentran: el páncreas, hígado, músculo esquelético, tejido adiposo, tracto gastrointestinal, cerebro y riñón (Cornell, 2015). La resistencia a la insulina que presentan sus órganos blanco (hígado, músculo y tejido adiposo) puede definirse como un estado anormal en el que dicha hormona no es capaz de ejercer sus efectos biológicos en concentraciones plasmáticas que resultan eficaces en organismos sanos, y que se deben a defectos en la cascada de señalización de la insulina.

Dicha resistencia propicia una hiperinsulinemia compensatoria, por lo que a largo plazo conduce a una falla de las células β pancreáticas, y es entonces cuando el estado diabético se desarrolla (Tfayli & Arslanian, 2009).

Ya que el hígado se vuelve resistente a los efectos supresores de la insulina, existe una permanente liberación de glucosa hepática tanto por gluconeogénesis como por glucogenólisis; asimismo la resistencia a la insulina produce que, en músculo y tejido adiposo, la captación de glucosa se vea disminuida debido a que ambos tejidos son dependientes de dicha hormona para la translocación de transportadores GLUT4 facilitadores del transporte de glucosa del torrente sanguíneo al interior celular, en consecuencia continúa circulando y aumentando el estado hiperglucémico (Triplitt, 2012). Además, en el tejido adiposo hay una alta liberación de ácidos grasos libres debido a la resistencia del efecto antilipolítico de la insulina. La prevalencia crónica del estado hiperglucémico, al igual que concentraciones elevadas de ácidos grasos libres, desencadenan una serie de mecanismos como deterioro de la expresión génica de la insulina, estrés oxidativo crónico y apoptosis que conducen a un estado de glucolipotoxicidad (Figura 2) (Cornell, 2015).

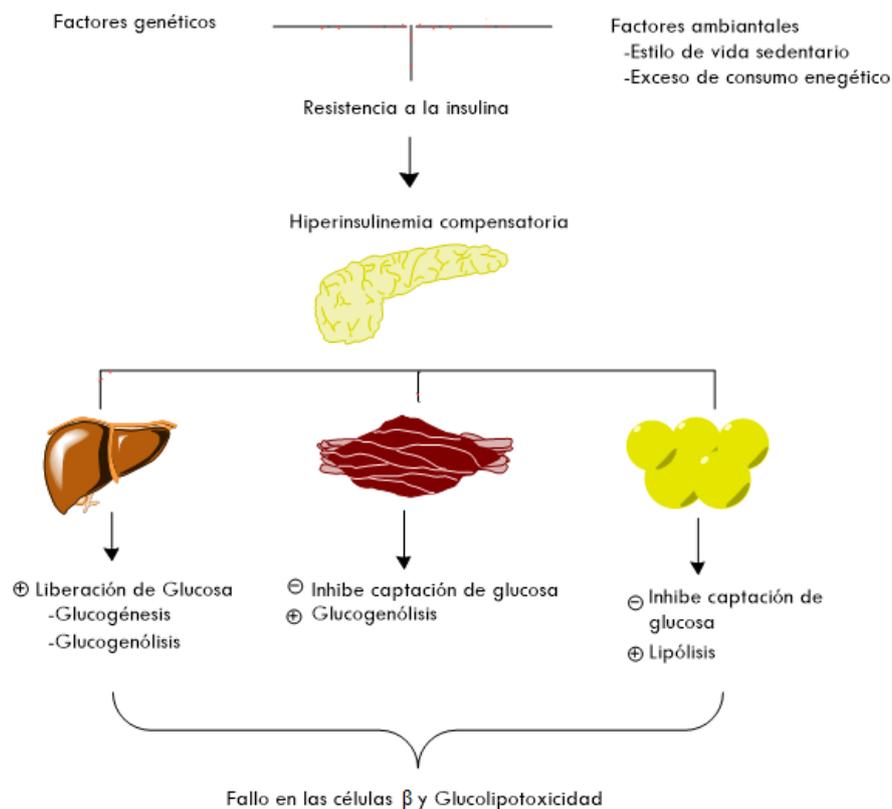


Figura 2. Fisiopatología de la DM2.

3.2.2 Complicaciones

El control inadecuado de la DM puede resultar en complicaciones que disminuyen la calidad de vida e incrementan el riesgo general de muerte prematura. Las complicaciones pueden dividirse en agudas y crónicas (Figura 3). Las complicaciones agudas incluyen cetoacidosis diabética y síndrome hiperglucémico hiperosmolar no cetónico. Las complicaciones crónicas se deben a la hiperglucemia sostenida que provoca daño en los vasos sanguíneos causando deterioro en el endotelio y desencadenando complicaciones micro y macrovasculares (IDF, 2015). Las complicaciones microvasculares de la diabetes incluyen retinopatías con pérdida potencial de la visión, nefropatías que conducen a insuficiencia renal, neuropatías periféricas con riesgo de úlceras en el pie, amputaciones y articulaciones de Charcot, mientras que las complicaciones macrovasculares incluyen enfermedad arterial coronaria, síndrome vasculo-cerebral y arterial periférica (Riddle et al., 2018). Durante el embarazo si la diabetes no se controla de forma adecuada también puede aumentar el riesgo de muerte fetal y otras complicaciones (OMS, 2016).

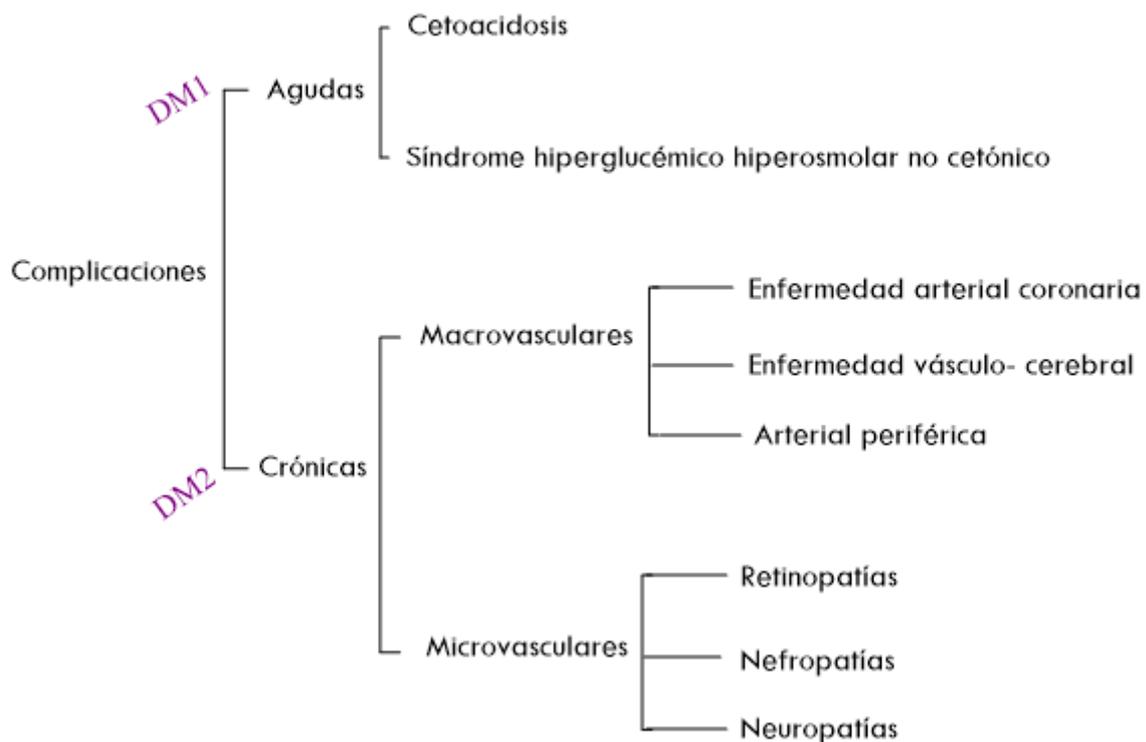


Figura 3. Complicaciones de la DM.

En México las complicaciones reportadas por la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) 2016 con mayor prevalencia fueron: visión disminuida (54.5%), daño en la retina (11.2%), pérdida de la vista (9.95%), úlceras (9.1%) y amputaciones (5.5%). De acuerdo con la OMS en 2016, en México se reportó la muerte de 87 mil personas a causa de la diabetes, lo que representa el 14% de la mortalidad proporcional respecto a otras enfermedades, como el cáncer que comparece con el 12%.

3.2.3 Tratamiento

Como se ha señalado anteriormente, en la DM2 prevalece un doble mecanismo patológico: el fallo progresivo de las células β y la resistencia a la insulina. A pesar de que la resistencia se mantiene a lo largo de la enfermedad, es posible mejorar dicho estado implementando diversas estrategias en el estilo de vida, además de recurrir a terapias farmacológicas (Cornell, 2015). Para el tratamiento es necesario tener en consideración la etapa de progresión en la que se encuentra y con base en ello construir un plan de tratamiento a seguir. Asimismo, algunas sociedades científicas han realizado recomendaciones sobre el escalonamiento de los tratamientos dependiendo del caso de cada paciente; la elección del tratamiento va a depender, entre otras cosas, de la eficacia para reducir la HbA1c (Menendez Torre et al., 2011)., además de modificar la dieta y hacer ejercicio para disminuir los depósitos de grasa y favorecer la captación de glucosa de los tejidos periféricos (Gómez-Zorita & Urdampilleta, 2012).

3.3 Hipoglucemiantes orales

Dado que la DM2 es una enfermedad progresiva es necesario implementar terapia farmacológica para el control óptimo de la glucemia. Los hipoglucemiantes orales son fármacos que se caracterizan por disminuir los niveles de glucosa en la sangre con el objetivo de retrasar las complicaciones micro y macrovasculares (De Vries McClintock et al., 2015). En la actualidad se dispone de una amplia gama de fármacos hipoglucemiantes con diversos mecanismos de acción (Figura 4), las recomendaciones para su uso como monoterapia o en combinación se describen en las guías de control de diabetes, incluidas la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Europea para las directrices del Estudio de la Diabetes (EASD) (Kim et al., 2017). Actualmente no hay ningún agente disponible que afecte a todos los órganos y tejidos implicados en la patogénesis de la DM2, sin embargo los medicamentos disponibles apuntan a determinadas anomalías fisiológicas dentro de la enfermedad (Nathan DM, BuseJB, Davidson MB, 2008). Las principales clases de

hipoglucemiantes, fármacos, acción fisiológica, mecanismos de acción, ventajas y contraindicaciones se muestran en la Tabla 1.

Hipoglucemiantes	Fármaco	Acción Fisiológica	Mecanismo de acción	Hipoglucemia	Células blanco	Ventajas	Contraindicaciones	Descenso HbA1c (%)	Costo
Biguanidas	Metformina Buformina Fenformina	↓ Gluconeogénesis hepática ↑ Sensibilidad a la insulina	Activa AMP-cinasa	No	Hepatocito Adipocito Miocito	-Amplia experiencia -No hay ganancia ponderal -Disminuye probables eventos cardiovasculares	-Efectos secundarios gastrointestinales Contraindicaciones múltiples: acidosis, hipoxia, deshidratación	1.0 -2.0	Bajo
Sulfonilureas	Glibenclamida Glipzina Gliclazida	↑ Secreción de insulina	Se une al receptor SUR1, cerrando el canal de KATP en las membranas de las células β	Sí	Células β	-Amplia experiencia -Disminuye riesgo cardiovascular	-Ganancia ponderal -Escasa durabilidad -Paraliza el condicionamiento isquémico del miocardio	1.0 -2.0	Bajo
Meglitidinas	Repaglinida Nateglinida	↑ Secreción de insulina	Se une al receptor SUR1 (en un sitio diferente), cerrando el canal de KATP en las membranas de las células β	Sí	Células β	-Disminuye el pico postprandial -Flexibilidad posológica	-Ganancia ponderal -Paraliza el condicionamiento isquémico del miocardio -Dosificación frecuente	0.5 -1.5	Alto
Tiazolidinedionas TZD	Pioglitazona	↑ Sensibilidad a la insulina	Activa el factor de transcripción nuclear PPAR-γ	No	Hepatocito Adipocito Miocito	-Durabilidad -Disminuye triacilglicérols	-Ganancia ponderal -Insuficiencia cardíaca -Aumenta riesgo de cáncer de vejiga	1-1.5	Alto
Análogos de Incretinas	Liraglutida Exenatida	↑ Secreción de insulina (Dependiente de glucosa) ↓ Secreción del glucagon (Dependiente de glucosa) Retrasa el vaciado gástrico ↑ Sensación de saciedad	Activa los receptores de GLP-1	No	Células β	-No hay ganancia ponderal -Acciones protectoras cardiovasculares	-Efectos secundarios gastrointestinales -Inyectable -pancreatitis aguda	0.5 -1.0	Alto
Inhibidores de DPP4:	Vildagliptina Sitagliptina Saxagliptina	↑ Secreción de insulina (Dependiente de glucosa) ↓ Secreción del glucagon (Dependiente de glucosa)	Inhibe la actividad de la DPP-4, aumentando las concentraciones de incretinas activas postprandiales (GLP-1, GIP)	No	Células β	-Bien tolerado	-Modesta eficacia en la disminución de HbA1c -Urticaria	0.5 -0.8	Alto
Inhibidores de α-Glucosidasas	Acarbosa Miglitol	Inhibe la absorción intestinal de glucosa	Inhibe α-Glucosidasa intestinal	No	Enterocito	-Disminuye el pico postprandial	-Modesta eficacia en la disminución de HbA1c -Diarrea o flatulencias -Dosificación frecuente	0.5 -0.8	Moderado

Tabla 1. Principales hipoglucemiantes orales. Descripción de las clases, acciones fisiológicas y células blanco de los hipoglucemiantes orales. Modificado de (Cornell, 2015; Jannie Fuhlendorff, Patrik Rorsman, Hans Kofod, Christian L. Brand, Bidda Rolin, Peter MacKay, Ronald Shymko, 1998; Kothari, Galdo, & Mathews, 2016; Nathan DM, BuseJB, Davidson MB, 2008)

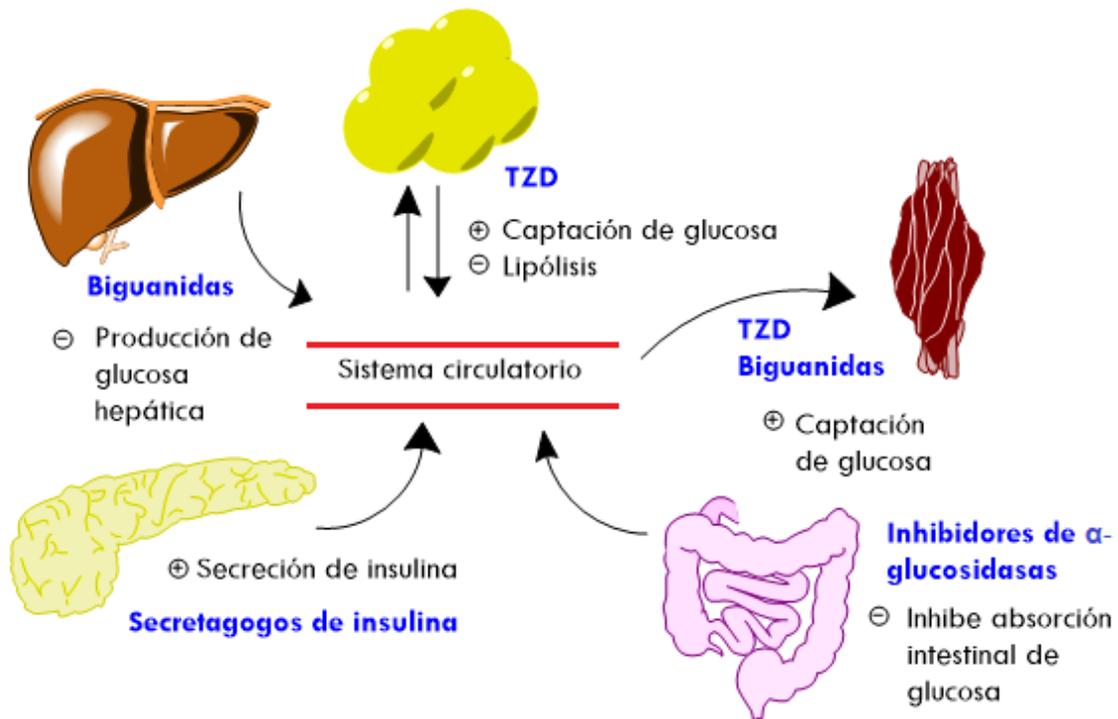


Figura 4. Hipoglucemiantes orales y su acción fisiológica, modificado de (Cheng & Fantus, 2005)

Distintas sociedades científicas proponen algunas recomendaciones sobre el escalonamiento en las terapias farmacológicas una vez instaurados los cambios en la alimentación y estilo de vida (Figura 5). El objetivo del tratamiento farmacológico es conseguir el mayor control metabólico con la máxima seguridad posible. Un primer objetivo en las fases iniciales de la enfermedad es una HbA1c <6.5%, sin embargo en fases más avanzadas una HbA1c <7.5% sería el objetivo (Menendez Torre et al., 2011; Moon et al., 2017)(Menendez Torre et al., 2011). En general, el tratamiento se divide en tres escalones terapéuticos: cuando los niveles de HbA1c son entre 6.5- 8.5%, la metformina es el fármaco de elección y sólo en casos de intolerancia o contraindicación se utilizan otros fármacos alternativos; si la hiperglucemia es elevada (HbA1c >8.5%), el tratamiento inicial debe realizarse desde el comienzo con varios fármacos orales en combinación o bien iniciar terapia con insulina. El segundo escalón consiste en la adición de un segundo fármaco de acción sinérgica. Dichas opciones deben individualizarse en función de las características de cada paciente. Finalmente, el tercer escalón implica la introducción de insulina basal

como opción preferente frente a una triple terapia oral (Menendez Torre et al., 2011; Moon et al., 2017).

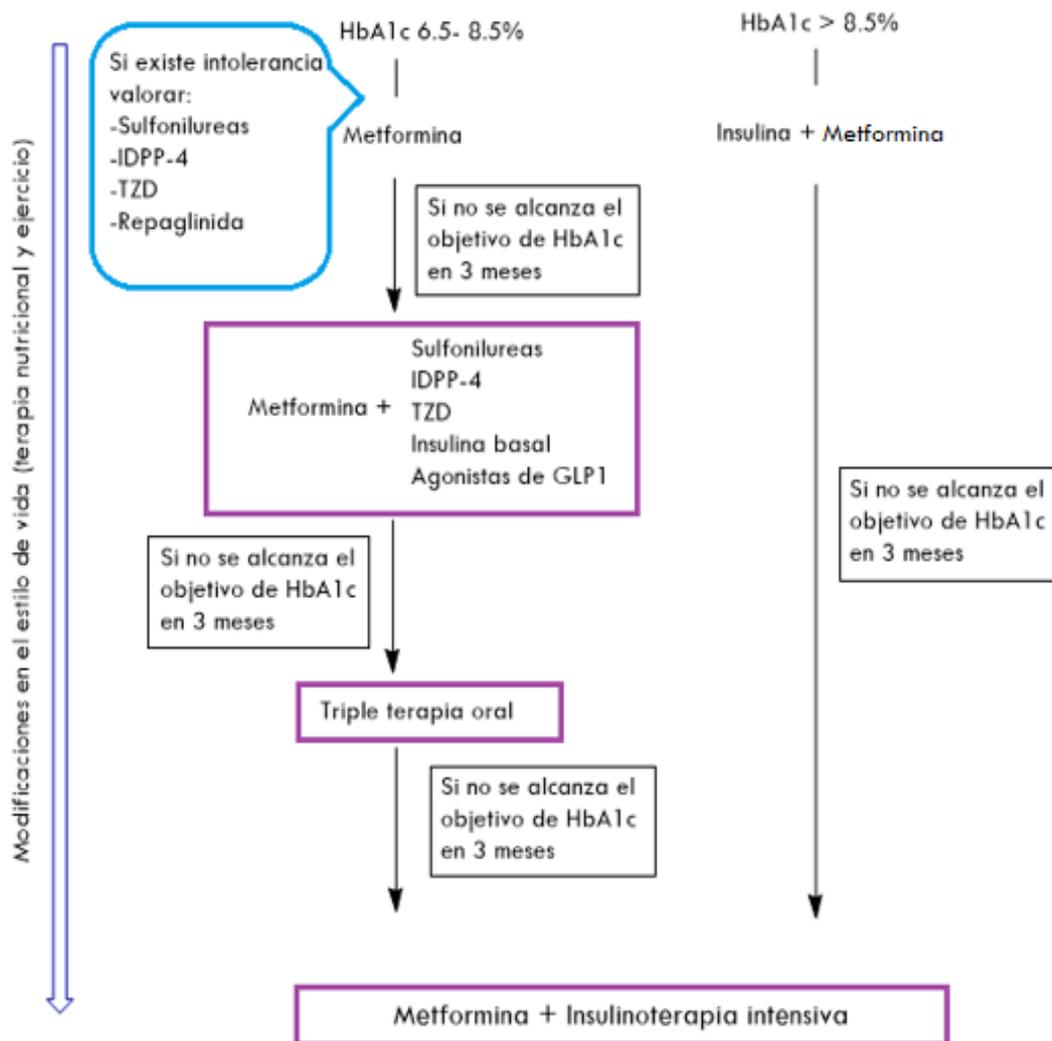


Figura 5. Escalonamiento y tratamientos en la DM2. Modificado de (Cornell, 2015).

3.3.1 Secretagogos de insulina

La secreción de insulina está dada por las células β pancreáticas, las cuales desempeñan un papel central en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa. La característica más destacada de las células β es la secreción de insulina en respuesta a los cambios de glucosa extracelular, ya que poseen la capacidad de detectar los niveles circulantes en la sangre (Seino, Sugawara, Yokoi, & Takahashi, 2017). La secreción de insulina inducida por glucosa comprende 2 vías: la vía de activación y la vía de amplificación metabólica, que implica el cierre del canal de potasio (K^+) sensible al ATP (canales KATP) por el aumento de la concentración de ATP resultante del metabolismo de la glucosa, seguido por la

despolarización de la membrana plasmática y la afluencia de calcio (Ca^{2+}) a través del canal Ca^{2+} dependiente del voltaje, lo que activa la progresión de los gránulos de insulina hacia la membrana plasmática a través de los microtúbulos para conducir a su exocitosis (Figura 6) (Henquin, 2000). Los secretagogos de insulina pueden dividirse en 2 subclases: sulfonilureas y meglitidinas:

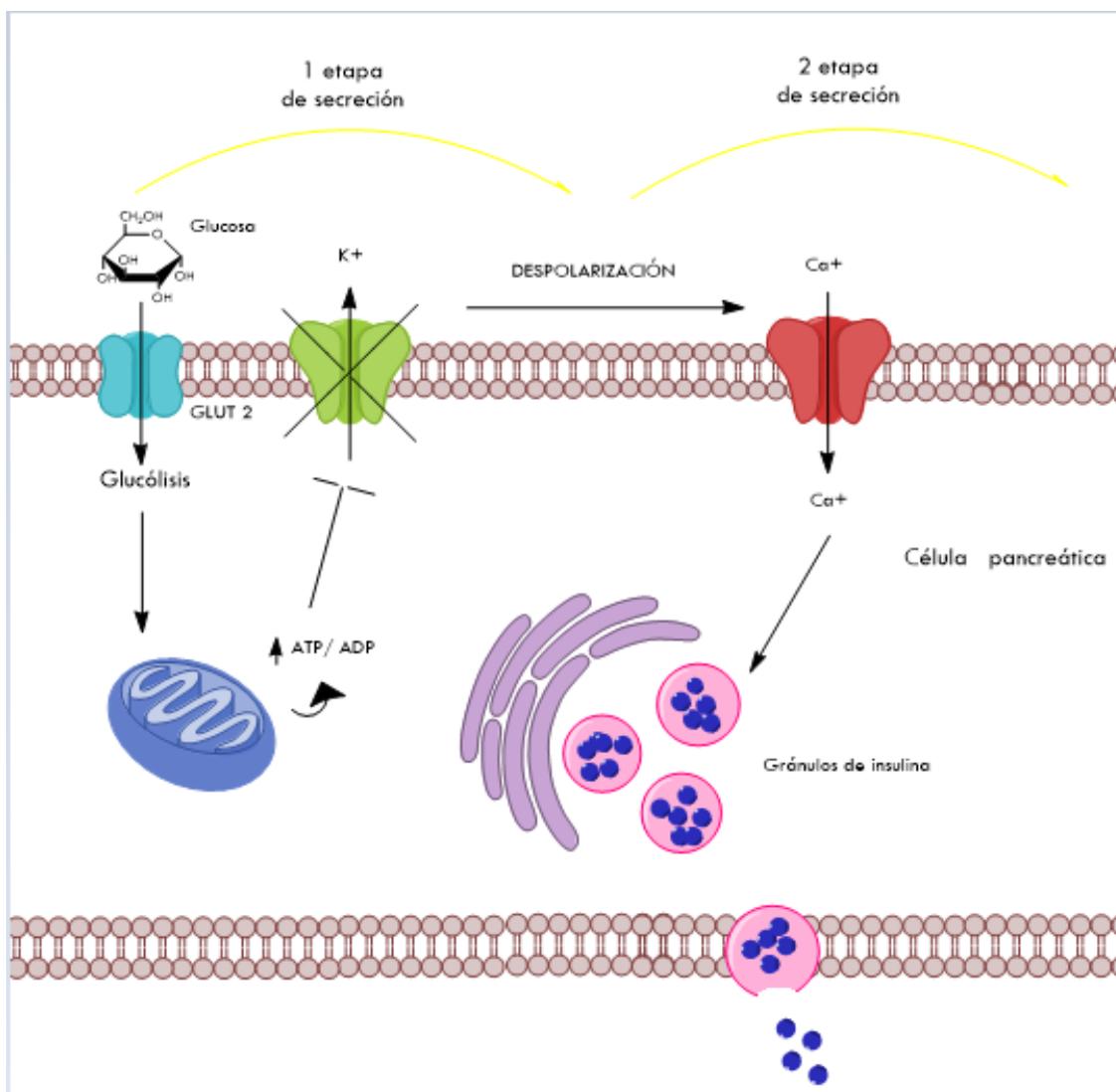


Figura 6. Mecanismo de secreción de insulina.

Glibenclamida

La glibenclamida es la sulfonilurea más utilizada para el tratamiento de DM2, la cual actúa como bloqueador de los canales (KATP) en las células β pancreática. El canal de KATP es un complejo heterooctamérico que consiste en cuatro subunidades (Kir6.1 o Kir6.2) dispuestas hacia dentro formando los poros difusores, y cuatro subunidades reguladoras de receptores de sulfonilureas (SUR1, SUR2A o SUR2B). Las combinaciones de estas

subunidades forman las variedades de KATP con propiedades farmacológicas específicas en distintos tejidos (Al-Karagholi, Hansen, Severinsen, Jansen-Olesen, & Ashina, 2017). Los canales de KATP de las células β se encuentran conformados por la combinación de las subunidades Kir6.2 y SUR1 (Seino et al., 2017), en la figura 7 se ejemplifica cómo se encuentran dispuestos.

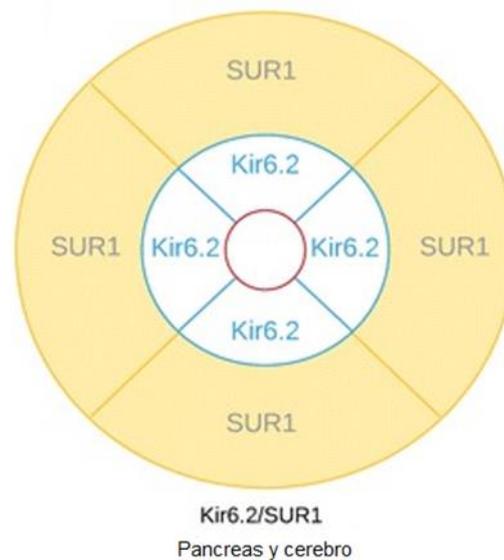


Figura 7. Canal de potasio (KATP). Vista transversal de KATP en células β . Tomado de (Al-Karagholi et al., 2017).

Las sulfonilureas se unen al receptor de sulfonilureas (SUR1) en la superficie de las células β , dicha unión al complejo receptor de sulfonilurea Kir6.2 da como resultado el cierre de los KATP y la inhibición del flujo de salida de los iones K^+ , resultando como consecuencia la despolarización de la membrana, la cual impacta en los canales de calcio abriéndolos y permitiendo la entrada de Ca^{2+} extracelular, provocando la contracción de los microtúbulos y la proyección de gránulos preformados de insulina hasta su exocitosis por la membrana plasmática (Figura 8) (Cheng & Fantus, 2005).

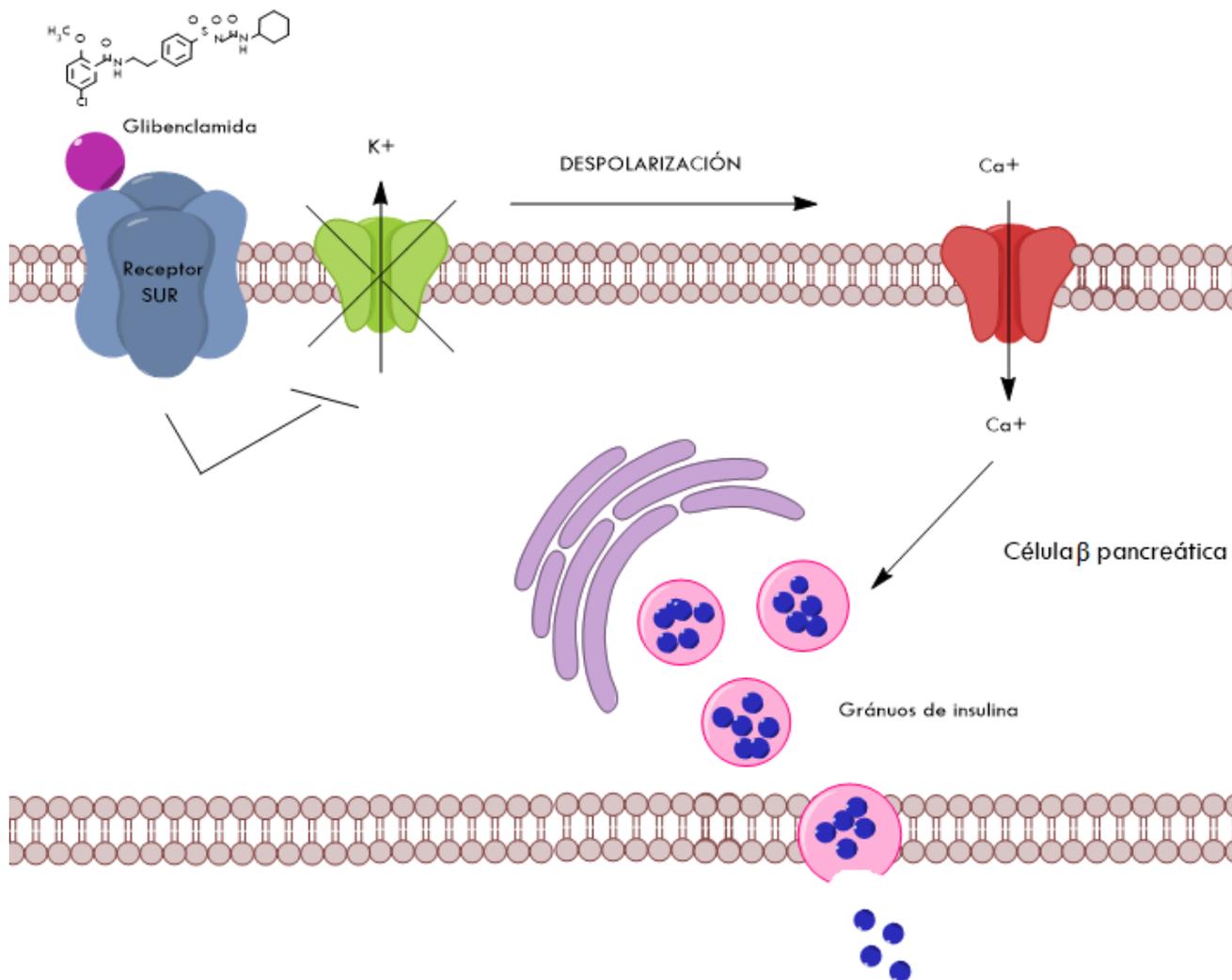


Figura 8. Secreción de insulina por sulfonilureas. Las sulfonilureas se unen a su receptor SUR activando la cascada de señalización para la liberación de insulina.

Las sulfonilureas promueven la primera fase de la secreción de insulina, a la vez que estimulan la segunda; además estos fármacos estimulan directamente la secreción de insulina de las células β pancreáticas independientemente de los niveles de glucosa en plasma (Bösenberg & van Zyl, 2008), es por ello que es recomendable comenzar con una dosis baja y valorar cada 1 o 2 semanas para lograr el control glucémico deseado y evitar la hipoglucemia.

Dado que estos fármacos se metabolizan en el hígado, las sulfonilureas están contraindicadas en pacientes con disfunción hepática de moderada a grave (Cheng & Fantus, 2005).

Meglitidinas

Las meglitidinas son hipoglucemiantes orales de acción rápida y vida media corta, estructuralmente son diferentes a las sulfonilureas (Tabla 2), sin embargo, su mecanismo de acción es parecido puesto que ambos actúan regulando los KATP en las células β y promoviendo la secreción de insulina, no obstante, el sitio de unión en el receptor de sulfonilurea es diferente (Figura 9) (Lorenzati, Zucco, Miglietta, Lamberti, & Bruno, 2010). Esta clase de medicamentos está representada principalmente por nateglinida y repaglinida, nateglinida es un derivado de fenilalanina, mientras que repaglinida es un derivado de ácido benzoico (Hatorpe, 2002).

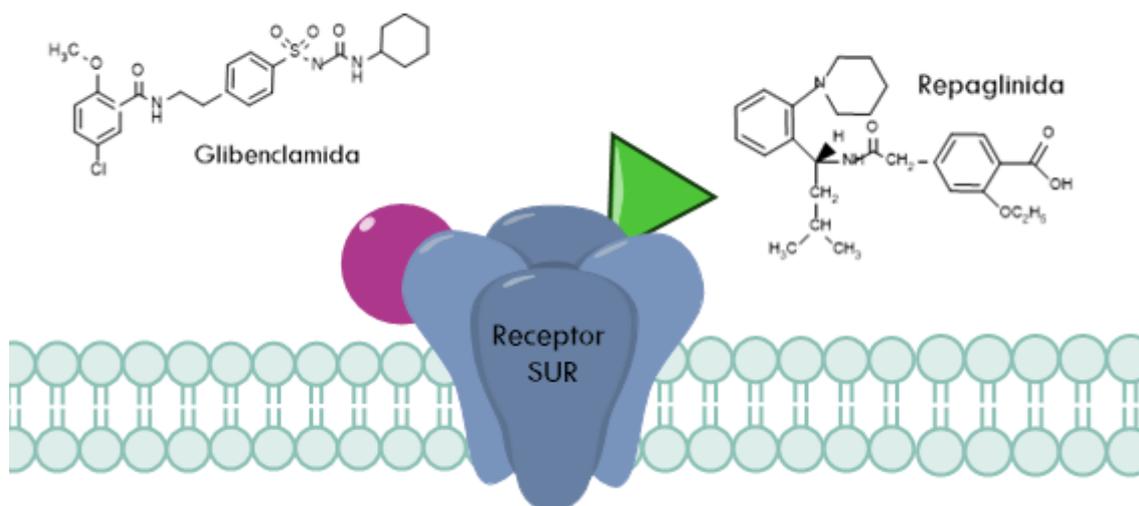


Figura 9. Receptor de sulfonilurea (SUR) y sitios de unión de glibenclamida y repaglinida.

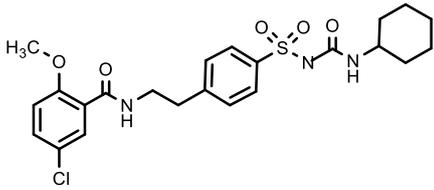
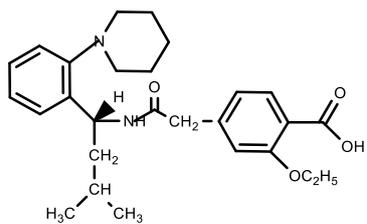
Después de su administración, la repaglinida se absorbe y tiene un rápido efecto reductor en la concentración de glucosa en la sangre, ya que estimula la primera fase de secreción de la insulina, sin embargo, su efecto no es sostenido durante la segunda fase. Comienza a actuar a partir de los 15 a 30 min después de su administración, alcanzando el pico máximo de concentración a la hora, y su acción dura aproximadamente entre 4 y 5 horas (Bösenberg & van Zyl, 2008). A diferencia de las sulfonilureas, las meglitidinas necesitan de la presencia de glucosa para actuar, por lo que su administración debe ser 15 min antes de cada comida (Bösenberg & van Zyl, 2008). Este tipo de fármaco es recomendable para pacientes irregulares con sus medicamentos y dieta, debido a su rápida acción y corta duración conduce a una reducción significativa en la hiperglucemia posprandial sin el peligro de

hipoglucemia entre las comidas y permitiendo un tratamiento más flexible y tolerado para el paciente, lo que aumenta el control metabólico (Hatorpe, 2002).

Comparación entre Glibenclamida y Repaglinida

El canal de KATP en las células β es objetivo principal de sulfonilureas y meglitidinas para ejercer su acción biológica. En la tabla 2, se presentan las principales diferencias entre ambos fármacos secretagogos de insulina.

Tabla 2. Diferencias entre los fármacos glibenclamida y repaglinida

Hipoglucemiante	Sulfonilureas	Meglitidinas
Estructura		
Mecanismo de acción	Unión en el receptor SUR de KATP y liberación de insulina	Unión en el receptor Sur de KATP (en un sitio diferente) y liberación de insulina
Fase de secreción de la insulina	Primera y segunda fase de secreción de insulina	Primera fase de secreción de insulina
Disminución de la HbA1C	0.8 - 2.0 %	0.5 - 2.0 %
Dependiente o independiente de glucosa plasmática	Independiente de glucosa	Dependiente de glucosa
Ventajas	Disminuye la glucemia posprandial	Disminuye la glucemia posprandial
Desventajas	Ganancia ponderal Puede causar hipoglucemia	Ganancia ponderal Puede causar hipoglucemia
Dosis recomendada	5mg (2 veces al día)	2mg (3 veces al día)
Dosis máxima	20mg/ al día	16 mg/ al día
Dosis letal	20g/Kg	1g/Kg
Duración	12-24 horas	4-5 horas

Costo	Bajo	Alto (dos veces el de las sulfonilureas)
-------	------	--

Tabla 2. (Cont.) Comparación entre glibenclamida y repaglinida. Modificado de Gribble & Reimann, 2003; Nagashima et al, 2004; Kothari, Galdo & MathewS., 2016).

3.4 Modelos animales utilizados en el estudio de DM2

Históricamente, los modelos animales han jugado un papel crítico en la investigación y caracterización de la fisiopatología de las enfermedades, y por lo tanto en el desarrollo y perfeccionamiento de nuevos agentes terapéuticos y tratamientos (Al-Awar et al., 2016).

Respondiendo a la alta prevalencia de DM2 en el mundo y a la complejidad de la enfermedad, se ha desarrollado una gran diversidad de modelos animales para su estudio. Estos modelos animales tienden a incluir modelos con resistencia a la insulina y/o modelos con falla en células β , además, algunos de ellos son obesos, lo que refleja la condición humana en donde la obesidad está estrechamente relacionada con el desarrollo de DM2. Una clasificación de los modelos animales para DM2 es según el mecanismo de producción, ya sea en inducidos o espontáneos, en donde éstos últimos se dividen en análogos e intrínsecos (Tabla 3) (Al-Awar et al., 2016).

Tabla 3. Modelos animales de DM2.

Modelos animales		
Espontáneos		Inducidos
Análogos	Intrínsecos	
<ul style="list-style-type: none"> • Goto-Kakizaki (GK) • Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO) • <i>Psammoms Obesus</i> (rata israelí de la arena) • Ratón KK • Rata OLETF (<i>Otsuka Long-Evans Tokushima</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ratón <i>db/db</i> • Ratón <i>ob/ob</i> • Ratón <i>Agouti</i> • Rata Zucker (<i>fa/fa</i>) 	<ul style="list-style-type: none"> • Inducción hormonal • Administración de fármacos: Alloxan/ STZ • Manipulación genética

Tomado de (Arias Díaz, J., & Balibrea, 2007).

Los modelos espontáneos se tratan de animales en los cuales mediante cruces endogámicos se preserva la predisposición genética a la DM2 o a determinado rasgo fenotípico detectado en animales de forma natural. A su vez, los modelos espontáneos se dividen en análogos, los cuales se refieren a animales en los que se intenta imitar a la

enfermedad humana, y modelos intrínsecos, con los cuales se pretende contestar preguntas concretas de aspectos específicos de la enfermedad (Arias Díaz, J., & Balibrea, 2007).

A diferencia de los modelos espontáneos, en los modelos inducidos se provoca una o más de las manifestaciones clínicas de la DM2 humana mediante diversos métodos, los cuales incluyen inducción hormonal, manifestación genética y administración de fármacos (Arias Díaz, J., & Balibrea, 2007).

3.4.1 Modelo de hiperglucemia inducida con estreptozotocina- nicotinamida (STZ-NA)

El modelo STZ-NA es inducido por la administración de fármacos, éste método se basa en el suministro de estreptozotocina (STZ) como sustancia con efectos citotóxicos sobre las células β , y nicotinamida (NA) como agente citoprotector (Figura 10) (Masiello et al., 1998).

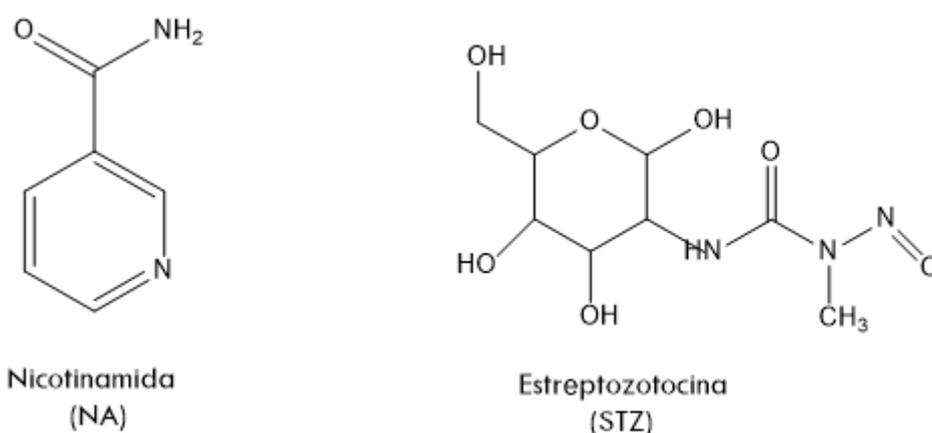


Figura 10. Estructura química de la nicotinamida y estreptozotocina

La STZ es un análogo de nitrosourea aislado del *Streptomyces achromogenes*. Es un potente agente alquilante el cual se acumula selectivamente en las células β pancreáticas a través del glucotransportador GLUT2. Después de su absorción, la STZ se divide en su parte glucosa y metilnitrosourea e induce múltiples puntos de ruptura en el ADN (Lenzen, 2008), lo que conlleva a la sobreestimulación de la enzima poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP) en respuesta a la reparación celular del ADN, esto disminuye la concentración de NAD^+ y posteriormente la de ATP, conduciendo al agotamiento de las reservas de energía celular causando necrosis y finalmente la muerte (Pieper, Verma, Zhang, & Snyder, 1999). Por otra parte, el NA funciona como un agente citoprotector, ya que además de eliminar radicales libres, actúa como precursor de NAD^+ y como inhibidor de la enzima PARP, lo que evita el agotamiento de los niveles ATP disponibles y la muerte celular (figura 11) (Lenzen, 2008).

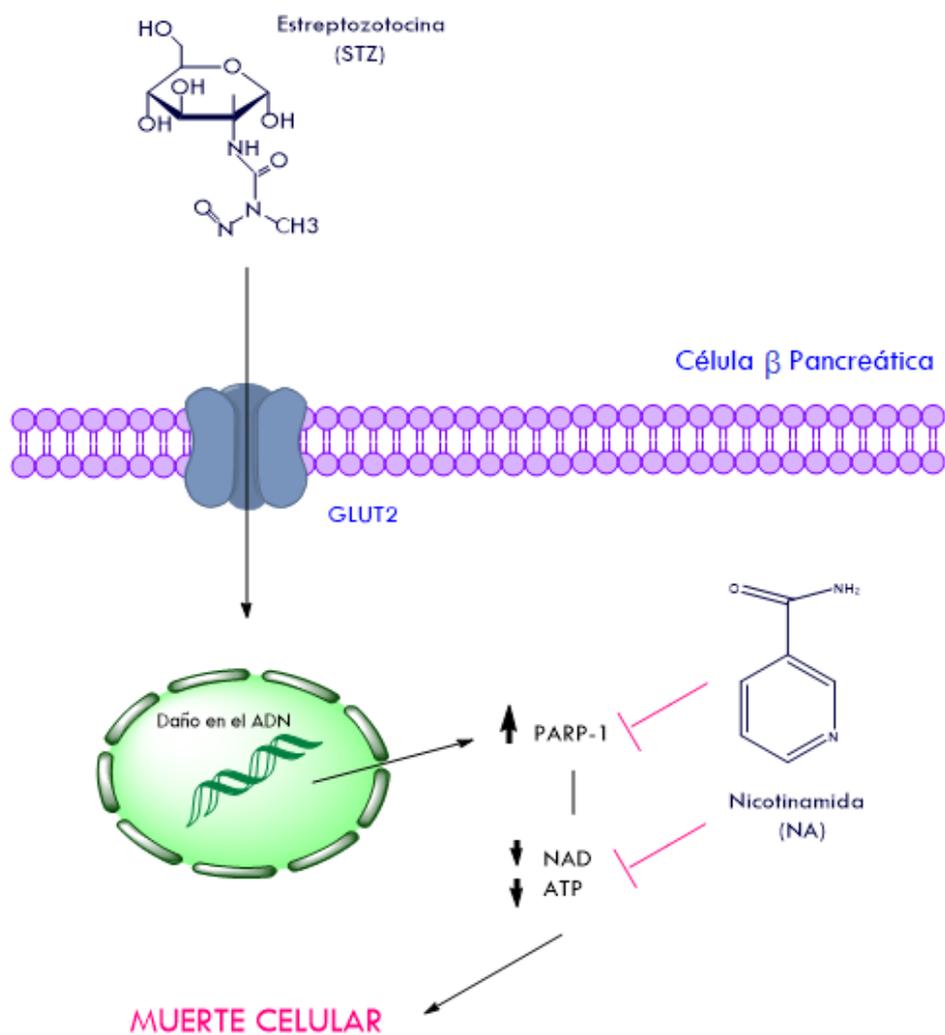


Figura 11. Mecanismo de acción del modelo STZ-NA. En el cual la STZ ejerce su acción citotóxica al alquilar el ADN, mientras el NA actúa como agente protector inhibiendo a la enzima PARP-1 y al contribuir con el aumento de NAD⁺ y ATP, evitando la muerte celular.

Finalmente, como resultado de la inducción se obtiene un modelo animal en el que sobreviven pocas células β y presenta hiperglucemia moderada y deficiencia en la secreción de insulina.

3.5 Cromatografía en capa fina (CCF)

La cromatografía es una técnica muy importante que permite la separación, identificación y purificación de los componentes de una mezcla para el análisis cualitativo y cuantitativo. Con el tiempo, su área de aplicación se ha extendido considerablemente y hoy en día la

cromatografía es considerada como un método de separación extremadamente sensible y efectivo (Coskun, 2016).

Esencialmente, la cromatografía es un método de separación físico, en el cual los componentes de una sustancia se distribuyen entre dos fases, las cuales se encuentran dispuestas de tal forma que mientras una permanece estacionaria dentro del sistema (fase estacionaria), la otra se desplaza a lo largo de él (fase móvil). Aunque los principios fundamentales son los mismos, los métodos cromatográficos se clasifican según el estado físico de la fase móvil (Hill, 1996).

La cromatografía en capa fina (CCF) es un método en el que el eluyente (fase móvil) se desplaza por medio de acción capilar a través de la placa (fase estacionaria). La velocidad de desplazamiento ascendente depende de la polaridad del material, de la fase sólida y del disolvente (Coskun, 2016).

En los casos en que las moléculas de la muestra sean incoloras, se puede usar fluorescencia, radiactividad o una sustancia química específica para producir un producto reactivo de color visible, a fin de identificar sus posiciones en la cromatografía (Waksmundzka et al., 2008).

La migración de los componentes en la cromatografía puede ser calculada por un parámetro determinado como R_f , el cual se utiliza para la descripción de la distancia relativa recorrida por las moléculas del compuesto en el disolvente, en donde, la distancia recorrida por el compuesto se mide desde el punto de aplicación (Hill, 1996). Se expresa como:

$$R_f = \frac{\text{La distancia recorrida por el compuesto}}{\text{La distancia recorrida por el eluyente}}$$

3.6 Etnofarmacología

Las prácticas medicinales han sido parte de todas las culturas, éstas forman sistemas de conocimiento sobre los productos naturales terapéuticos que se transmiten durante siglos a través de las generaciones. Actualmente, la OMS (2013) define a la medicina tradicional como la suma total del conocimiento, habilidades y prácticas basadas en creencias, teorías y experiencias de diferentes culturas, utilizadas en el mantenimiento de la salud, así como en la prevención, diagnóstico, mejoramiento o tratamiento de las enfermedades físicas o mentales. En los países en desarrollo casi el 80% de la población hace uso de las plantas para cuidar su salud, sin embargo tan sólo el 5.2% de las especies utilizadas a nivel mundial

cuenta con datos etnofarmacológicos (Villarreal-Ibarra et al., 2015). Es importante promover la investigación para conocer más sobre la eficacia de las prácticas tradicionales mediante la ampliación y estandarización con bases científicas.

De acuerdo con Andrade y Heinrich (2011) la etnofarmacología es “el estudio de productos naturales biológicamente activos usados tradicionalmente con el propósito de entender su acción terapéutica”. La búsqueda e investigación de productos naturales bioactivos tiene una larga tradición, sin embargo la etnofarmacología como campo de investigación bien definido tiene una historia relativamente corta, que data de hace 50 años (Yeung, Heinrich, & Atanasov, 2018). En la actualidad, muchos medicamentos incluyen un prototipo de producto natural. La aspirina, la atropina, la efedrina, la digoxina, la morfina, la quinina, la reserpina y la tubocurarina son algunos ejemplos de fármacos que se descubrieron originalmente mediante el estudio de la medicina tradicional y el conocimiento popular de los pueblos originarios de distintas culturas (Gilani & Atta-ur-Rahman, 2005). Además, las plantas continúan siendo una fuente importante para el descubrimiento moderno de fármacos con el objetivo de desarrollar nuevas terapias (Atanasov., et al 2016)

En México, el uso terapéutico de las plantas es una práctica común entre la población, lo cual es fácil de imaginar debido a la riqueza biológica y cultural que posee, la cual provee de un extenso conocimiento en el uso de plantas para recuperar la salud (Meléndez, Berdeja & Miranda, 2004). Uno de los desórdenes metabólicos crónicos más importantes en México es la DM2, la cual tiene un impacto significativo sobre la salud, calidad y esperanza de vida de la población, y es desde el año 2000 considerada como la principal causa de muerte (Villarreal-Ibarra et al., 2015).

Es imposible negar la importancia que representan las plantas y las prácticas medicinales en torno a ellas, por lo que uno de los retos actuales de la etnofarmacología es documentar y preservar la riqueza biológica empleada en la medicina tradicional y desarrollar sistemas sustentables de producción y uso de plantas con potencial farmacológico para el tratamiento de diversas enfermedades, como la DM2 (Villarreal-Ibarra et al., 2015).

3.6.1 *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg.

Pertenece a la familia *Leguminosae* y conocida comúnmente como “palo dulce” o “palo azul”, *Eysenhardtia polystachya* es un arbusto caducifolio de 3 a 6 m de altura que puede llegar hasta los 9 m. Presenta hojas alternas, compuestas, pinnadas y tallos ramificados, además posee inflorescencias dispuestas en racimos espigados terminales (figura 12). Se

encuentra ampliamente distribuida, desde el sureste de Arizona, Estados Unidos y en nuestro país está presente en los estados de Coahuila, Michoacán, Colima, Puebla, Estado de México, Hidalgo, Guerrero, Chiapas y Oaxaca (CONABIO, 2006).



Figura 12. *Eysenhardtia polystachya* (Foto tomada por Gerardo Mata Torres-Valle, 2016)

Debido a que se encuentra en diversos tipos de climas, es recurrente que sea empleada para la recuperación de terrenos degradados gracias a su tolerancia a la sequía y su capacidad para crecer en suelos erosionados (CONAFOR, 2016). Asimismo, se tiene documentado el uso de su follaje como forraje para ganado bovino y caprino, además la madera es utilizada como leña para quemar, y para la elaboración de copas y vasijas, al mismo tiempo que es ampliamente utilizada de forma medicinal en distintas regiones del país (Vázquez Yanes, Batis Muñoz, Alcocer Silva, Gual Dóaz & Sánchez Dirzo, 1999).

De acuerdo con la Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana (BDMTM, 2009), se tiene documentado el uso de *E. polystachya* al menos desde el siglo XVI, donde se prescribe para el hipo; en el Códice florentino se reporta tomar el agua de la madera reposada para la tos, la orina, calentura y disuria. Nicolás Monardes, en el mismo siglo, menciona que es útil para los que “no orinan libremente” y para dolor de riñones. A inicios

del siglo XVIII, Juan de Esteyneffer la recomienda como diurético y para enfermedades renales, así como para el dolor por cálculos, en el siglo XX, Maximino Martínez la refiere para las afecciones renales, antiespasmódica, antipirético, cicatricial regenerativo, diurético, enfermedades de los ojos y para lavar las vías urinarias.

E. polystachya resulta también de interés histórico, ya que en el siglo XVI su madera fue exportada a Europa como *Lignum nephriticum* y pronto atrajo mucha atención debido a sus propiedades medicinales y por el inusual color azulado resultante de su infusión. Además, en el siglo XVII el extracto acuoso de su madera fue utilizado por Robert Boyle como indicador fluorescente ácido- base (Burns, Dalgarno, Gargan, & Grimshaw, 1984).

La Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (2001) la menciona en un listado etnobotánico para el tratamiento de afecciones en los riñones; del mismo modo en 2005, Andrade- Cetto y Heinrich presentaron un listado de plantas mexicanas utilizadas en el tratamiento de la diabetes, con un total de 306 especies recabadas, *E. polystachya* es una de las plantas mencionadas.

Se tiene documentado su uso en la medicina tradicional mexicana como antitusivo, antiespasmódico, febrífugo, antiinflamatorio, antirreumático, analgésico, diurético, antiurolítico y como tratamiento para la diabetes (Alvarez et al., 1998; Beltrami et al., 1980; Burns et al., 1984; Pablo-Pérez, Estévez-Carmona, & Meléndez-Camargo, 2016; Perez, Vargas, Perez, & Zavala, 1998; Salinas-Hernández et al., 2008).

Su actividad antiurolítica fue probada farmacológicamente, en donde se observó una reacción dosis-respuesta en la reducción en la deposición de cálculos renales al administrar el extracto acuoso de su madera (Perez et al., 1998). También se realizaron estudios farmacológicos en donde se comprueba su actividad diurética (Pablo-Pérez et al., 2016). Asimismo, fue evaluada la actividad antimicrobiana, citotóxica e insecticida, del extracto diclorometano-metanol de su corteza, sin embargo no presentó actividad antimicrobiana, pero sí se observó una moderada actividad citotóxica en líneas celulares cancerosas y leve actividad insecticida al sólo observarse cambios morfológicos en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Alvarez et al., 1998).

Diversos estudios fitoquímicos realizados, de distintos extractos de la corteza de *E. polystachya*, indican la presencia de una compleja mezcla de compuestos fenólicos. Beltrami, et al (1980) aisló del extracto acuoso dos α -hidroxidihidrochalconas reportadas

como coatlina A y B; asimismo, del extracto diclorometano-metanol se aislaron tres nuevas α -hidroxidihidrochalconas (Alvarez & Delgado, 1999).

Burns, et al (1984) identificó del extracto metanólico lo que señalan como el principal constituyente fenólico fluorescente de la madera de *E. polystachya*, la 7-hydroxy-2',4',5'-trimethoxyisoflavona, además del compuesto flemichaparin-C.

También, se han identificado del extracto íntegro de diclorometano: metanol (1:1) cinco compuestos conocidos, tales como estigmasterol, isoduartina, cuneatina, 7-hidroxi-2',4',5'-trimetoxiisoflavanona y pterocarpano, así como dos nuevas isoflavanonas (Alvarez et al., 1998). Un-Hee Kim, et al, (2014) sugiere una mejoría en el perfil de la glucosa plasmática, así como los niveles de insulina en sangre, mediante la regulación de la proliferación de las células β pancreáticas y la sensibilidad a la insulina producto de los pterocarpanos obtenidos del extracto de acetato de etilo de hojas de la soya. Ward, et al (2017) reporta el efecto protector a la glucolipototoxicidad del estigmasterol en células β , al evitar la acumulación de colesterol libre y de especies reactivas de oxígeno, mejorar la secreción de insulina, así como disminuir los marcadores de la apoptosis temprana.

En otro estudio, fueron investigadas las propiedades antioxidantes y protectoras en ensayos *in vivo* e *in vitro* de seis nuevos flavonoides, en su mayoría chalconas, aislados del extracto metanol- agua de *E. polystachya*. De los cuales cinco presentaron habilidad para reducir el estrés oxidativo bajo condiciones diabéticas en un modelo de ratón STZ, además de prevenir o retrasar el daño hepático, renal, y pancreático, mediante el aumento en la actividad de enzimas depuradoras de radicales libres, además de reducir las especies reactivas de oxígeno intracelular (Perez-Gutierrez, Garcia-Campoy, & Muñiz-Ramirez, 2016). En el mismo estudio, se reportó el aislamiento de siete sustancias conocidas, entre ellas la aspalatina. En la literatura se encuentra documentado el efecto hipoglucémico de la aspalatina (una dihidrochalcona C-glucósido), como componente de té rooibos de *Aspalathus linearis*, en ratones diabéticos tipo 2 modelo db/db, la cual redujo la hiperglucemia y mejoró la intolerancia a la glucosa a través del aumento de la captación de glucosa y la secreción de insulina en ratones (Kawano et al., 2009).

4. Justificación

En México y el mundo el incremento de diabetes constituye uno de los grandes retos a los que debe enfrentarse la sociedad actual, ya que las complicaciones derivadas de enfermedades crónicas estrechamente relacionadas con la obesidad y el sedentarismo impactan en la salud pública, disminuyendo la calidad de vida y aumentando el riesgo de muerte prematura; además dicho impacto repercute también en la productividad y desarrollo económico, por lo que los costos directos e indirectos para tratar dichas enfermedades aumentan (Instituto Nacional de la Salud Pública, 2017).

La prevalencia de esta enfermedad conlleva a una alta demanda de los pacientes a nuevas generaciones y más opciones de medicamentos para tratarlos. Si bien actualmente existe una amplia gama de fármacos para tratar diabetes, también se han desarrollado opciones fitoterapéuticas en el mercado.

El uso de plantas con fines medicinales ha sido una práctica realizada por todas las culturas desde tiempos remotos; la OMS reconoce la importancia de la medicina tradicional y su uso en la actualidad, ya que representa la primera línea de atención sanitaria para millones de personas en el mundo, ya sea por razones culturales o económicas. Además, el conocer y documentar estas prácticas abre las puertas para realizar estudios científicos multidisciplinarios los cuales pueden ser precursores de opciones fitoterapéuticas para el tratamiento de múltiples enfermedades, entre ellas, la diabetes (Knöss & Chinou, 2012).

México es uno de los países con mayor riqueza biocultural en el mundo, el estudio e investigación de los recursos naturales debería ser un área privilegiada, ya que se cuenta con un vasto catálogo de especies endémicas de flora y fauna cuyos componentes regularmente exhiben actividades farmacológicas significativas (CONABIO, 2006). Existe una gran variedad de plantas reportadas para tratar la DM2, sin embargo no todas cuentan con estudios farmacológicos que representen un respaldo para dicha actividad. Debido a ello, el presente trabajo pretende contribuir en ese aspecto evaluando el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de *Eysenhardtia polystachya* (Ort.) Sarg, simultáneamente a la realización de pruebas fitoquímicas para la determinación cualitativa de metabolitos secundarios.

5. Objetivos

Objetivo general

-Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de la corteza de *Eysenhardtia polystachya* en ratas hiperglucémicas STZ-NA

Objetivos particulares

-Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanol- agua de la corteza de *E. polystachya* en ratas hiperglucémicas STZ-NA mediante una curva temporal de glucosa.

-Evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanol- agua de la corteza de *E. polystachya* en ratas hiperglucémicas STZ-NA mediante una curva de tolerancia a la glucosa.

-Determinar los metabolitos secundarios del extracto etanol- agua de *E. polystachya* mediante pruebas cualitativas colorimétricas usando la técnica de cromatografía en capa fina.

6. Hipótesis

-El extracto etanol-agua de *E. polystachya* tendrá un efecto hipoglucemiante en ratas hiperglucémicas STZ-NA.

-El extracto etanol-agua de *E. polystachya* disminuirá el pico postprandial en la curva de tolerancia oral de glucosa.

-Las pruebas fitoquímicas preliminares del extracto etanol-agua de *E. polystachya* mostrarán la presencia de diversos metabolitos secundarios.

7. Material y método

7.1 Recolecta en campo

La colecta del material biológico (correspondiente al número de colecta 223) se realizó en la comunidad de Tamala, sobre la carretera Tamala- San Simón aproximadamente en el km 112 del municipio de Tepehuacan de Guerrero, en el estado de Hidalgo del año 2016. La identificación del ejemplar botánico la llevó a cabo el M en C Ramiro Cruz Durán.

7.2 Elaboración del extracto etanol-agua de la corteza *E. polystachya*

El material biológico colectado se dejó en una cámara de secado a 40°C durante 7 días, posteriormente la corteza fue triturada con ayuda de un molino. Para la elaboración del extracto se dejó durante 4 horas en agitación a 40°C una mezcla de etanol, agua (1:1, 500ml) destilada y 20 g del material vegetal molido. A continuación, se filtró el material con ayuda de un embudo Büchner acoplado a un matraz kitasato y una bomba de vacío, utilizando papel filtro y tierra de diatomeas. La mezcla resultante se concentró en un rotavapor BUCHI© hasta eliminar todo el etanol de la mezcla. El extracto resultante se ultracongeló a -40°C por 24 h. Posteriormente, se liofilizó a una temperatura de -45°C durante 24 h hasta obtener el extracto en seco.

7.3 Cálculo de dosis y DER (drug extract ratio)

La obtención de la dosis del extracto de *E. polystachya* utilizada en los tratamientos fue determinada tomando como base el uso tradicional de la planta y el peso de un paciente de 70kg. Para lo cual se obtuvo el peso final del extracto, equivalente a 20g del material vegetal inicial. La relación quedó expresada de la siguiente forma:

$$Dosis = \frac{\text{Peso final del extracto (g)}}{70Kg}$$

La DER indica cuántas partes de la preparación herbal se necesita para obtener una parte de la preparación herbal nativa. Es decir, la relación entre la masa herbal inicial (sustancia herbal), respecto a la masa del extracto resultante (preparación herbal) (Vlietinck, como se citó en Mata Torres Valle, 2017) y se expresa como:

$$DER = \frac{\text{Sustancia herbal (g)}}{\text{Preparación herbal (g)}} = x: 1$$

7.4 Animales de experimentación

Los experimentos realizados en el presente trabajo se llevaron a cabo siguiendo la Normativa Oficial Mexicana (NOM oficial Norma Mexicana- 062-Z00-1999).

Se trabajó con ratas de ambos sexos de la cepa Wistar de aproximadamente 250g obtenidas del bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM; las cuales se mantuvieron en ciclos de 12 horas de luz-oscuridad bajo condiciones estándar de humedad y temperatura, con acceso libre a agua y alimento.

7.5 Inducción del modelo STZ-NA

El modelo STZ-NA utilizado en este trabajo está basado en el propuesto por Masiello et al (1998), el cual desarrolla características importantes de la DM2: hiperglucemia moderada y deficiencia en la secreción de insulina, además de responder a secretagogos de insulina.

A ratas con ayuno previo de 12 h se les administró una dosis de 150 mg/Kg intraperitoneal de NA disuelta en solución fisiológica, y 15 min después, se le administró una dosis de 65 mg/Kg intravenosa de STZ disuelta en buffer de acetatos a pH de 4.5.

7.6 Grupos experimentales y tratamientos

Se formaron 8 grupos experimentales (tabla4), los cuales se agruparon en 2 categorías: con y sin carga de glucosa, cada uno contó con una n=6 ratas de ambos sexos. El experimento consistió en la realización de curvas temporales de glucosa, las cuales tuvieron una duración de 120 min, en donde se midieron los niveles de glucosa sanguínea en intervalos de 30 min. Cada muestra de sangre fue tomada de la vena caudal y medida por duplicado con glucómetros *Accutrend Plus®*, y tiras reactivas *Accutrend Glucose*.

La primera categoría consistió en la administración oral de glucosa y tratamiento a los cuatro grupos correspondientes: normoglucémico con glucosa (NG), hiperglucémico con glucosa (HG), hiperglucémico con repaglinida y glucosa (HRepG) e hiperglucémico con extracto y glucosa (HExG). La administración del fármaco repaglinida (1mg/kg) y del extracto (8mg/kg) se realizaron 5 min antes que el de la glucosa (2mg/kg).

En la segunda categoría, se administró glibenclamida (5mg/kg) y el extracto (8mg/kg) como tratamiento, y se utilizó solución salina (1ml) en lugar de glucosa. Por lo que los grupos para esta categoría fueron los siguientes: normoglucémico (N), hiperglucémico (H), hiperglucémico con glibenclamida (HGli) e hiperglucémico con extracto (HEx).

La administración oral se realizó con ayuda de una cánula gastroesofágica, con el propósito de asegurar la ingesta de los tratamientos. La obtención de la dosis del extracto de *E. polystachya* fue determinada tomando como base el uso tradicional de la planta y un paciente de 70 Kg.

Tabla 4. Grupos experimentales y tratamientos

Sin carga de glucosa (n=6)	Con carga de glucosa (n=6)
Normoglucémico (N)	Normoglucémico + Glucosa (2mg/kg) (NG)
Hiperglucémico (H)	Hiperglucémico + Glucosa (2mg/kg) (HG)
Hiperglucémico + Glibenclamida (5mg/kg) (HGli)	Hiperglucémico + Repaglinida (1mg/kg) + Glucosa (2mg/kg) (HRepG)
Hiperglucémico + Extracto (8mg/kg) (HEx)	Hiperglucémico + Extracto (8mg/kg) + Glucosa (2mg/kg) (HExG)

7.7 Análisis de datos

Los resultados se analizaron realizando una prueba de ANOVA de un factor, seguido de la prueba Tukey, en donde se consideró como diferencia significativa de ($p \leq 0.05$) y se calculó error estándar. El programa utilizado fue GraphPadPrism 7.

En la categoría sin carga de glucosa se compararon los controles H vs N; los grupos HGli y HEx se compararon respecto al control H, y todos se compararon respecto a su T0.

En la categoría con carga de glucosa se compararon los controles HG vs NG; los grupos HRep y HExG se compararon respecto a control HG, y todos se compararon respecto a su T0.

7.8 Identificación de compuestos fitoquímicos

Se realizaron cromatografías en capa fina (CCF) de 6cm de largo por 5cm de ancho para dilucidar metabolitos secundarios específicos, tales como terpenos, azúcares, flavonoides aglicona, flavonoides glicosilados y alcaloides.

Las muestras se colocaron a 0.6 cm del borde inferior de la placa, y se dejó eluir hasta 0.5cm antes del borde superior. El punto de aplicación se realizó con ayuda de un aplicador semiautomático Nanomat 4 CAMAG ©. Para la elaboración de las placas de CCF se pesaron

10 mg del extracto de *E. polystachya* que se disolvieron en una mezcla de etanol: agua: acetoneitrilo (750: 500: 250). En cada placa se utilizó como punto de aplicación 10µl de extracto y 1µl para los controles. Las CCF fueron observadas bajo luz UV a 366nm. Se utilizó el programa Videoscan2© para determinar el perfil cromatográfico y medir los Rf.

En la tabla 5 se muestra el control, fase móvil y revelador utilizados para cada placa de acuerdo con el grupo de metabolito secundario que se deseaba observar.

Tabla 5. Control, fase móvil y revelador de las placas de cromatografía de capa fina.

Metabolitos secundarios	Control	Fase móvil	Revelador
Terpenos	Timol	Hexano/ Diclorometano (1:1) 10 ml	Vainillina / calor
Flavonoides aglicona	Quercetina / ácido cafeico	Diclorometano / metanol (9:1) 10 ml	Ácido difenilbourínico
Flavonoides glicosilados	Rutina / ácido clorogénico	Acetato de etilo/ ác fórmico/ ác acético / agua (10:1.1:1.1:2.6) 14.8 ml	Ácido difenilbourínico
Glicósidos	Glucosa / fructosa / maltosa / isomaltosa / dextrosa	n-propanol / agua / ác acético (4:3:2:1)	Sulfato cérico /calor
Alcaloides	Colchicina / quinina	Diclorometano 8.5ml/ metanol/ hidróxido de amonio (8.5:1.4.:1)	Reactivo de Dragendorff

8. Resultados

8.1 Cálculo de dosis y DER

Dosis tradicional

Se obtuvieron 0.561g de extracto seco de *E. polystachya*, a partir de 20 g de material vegetal inicial. Dosis por cada kg:

$$Dosis\ por\ cada\ Kg = \frac{0.561g\ de\ extracto}{70kg} = 0.008g/kg$$
$$8mg/kg$$

Cálculo de DER

Sustituyendo en la fórmula se obtuvo que para el extracto etanol- agua de *E. polystachya*, se requieren tres partes de la preparación herbal, para obtener una de la preparación nativa (Tabla 6).

$$DER = \frac{20g}{0.008g} = 3:1$$

Tabla 6. Rendimiento del extracto etanol-agua de *E. polystachya*.

Extracto	Sustancia herbal	Preparación herbal	DER
Etanol-agua de <i>E. polystachya</i>	20g	0.008g	3:1

8.2 Experimento agudo

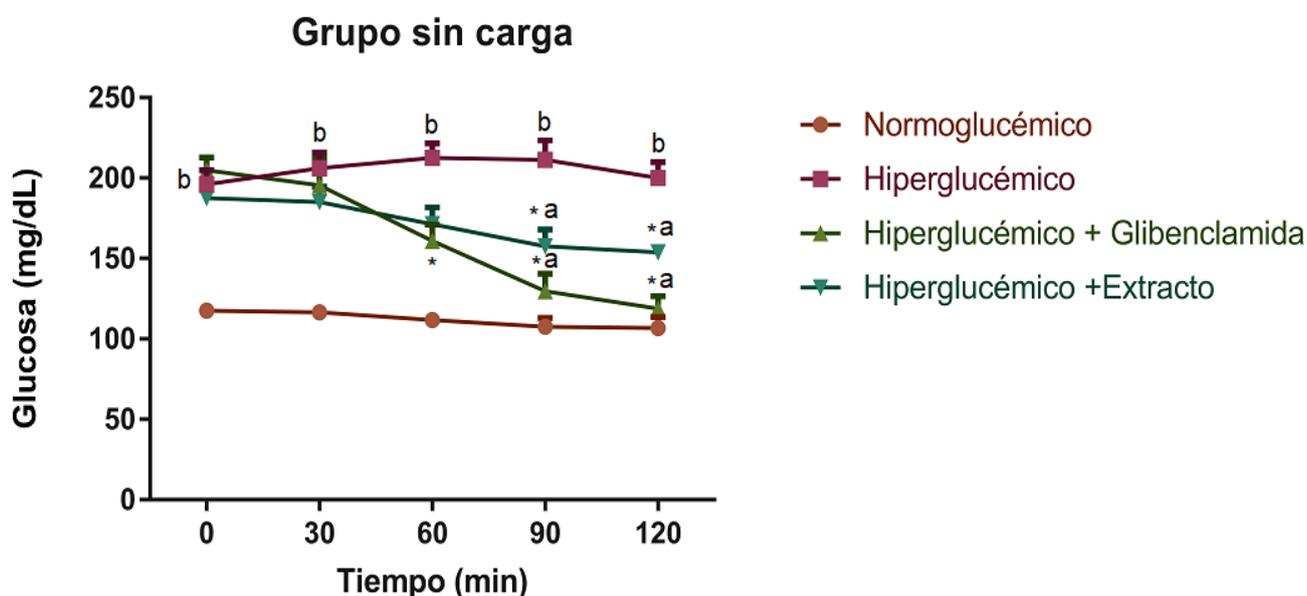
En la tabla 7 y la gráfica 1 se describen los resultados obtenidos de los grupos experimentales sin carga de glucosa. Se puede observar al control normoglucémico en un mismo rango de valores (alrededor de 120 mg/dl) a lo largo de los 120 min, y no presenta diferencias significativas en ninguno de sus valores respecto a su T0. El control hiperglucémico tampoco presentó diferencias significativas en ninguno de sus tiempos respecto a su T0, sin embargo al compararlos entre grupos respecto al control N, presentaron significancia en todos sus tiempos, mostrando una hiperglucemia sostenida. Por otro lado, el control HGli mostró una disminución de la glucosa plasmática vs su T0 desde el T60, hasta el T120. Mientras que el control HEx presentó una disminución significativa de glucosa respecto a su T0 a partir del T90 hasta el T120. Al realizar la comparación entre grupos

respecto al control H, se obtuvo una disminución de la glucosa plasmática tanto en el control HGli, como en el HEx, a partir del T90 hasta el T120.

Tabla 7. Promedio de valores de glucosa en sangre (mg/dl) \pm EEM de los grupos sin carga de glucosa.

Grupos experimentales	Valores de glucosa plasmática mg/dl				
	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
N	118 \pm 2	117 \pm 5	96 \pm 5	108 \pm 6	107 \pm 7
H	196 \pm 9 ^b	206 \pm 10 ^b	213 \pm 9 ^b	211 \pm 12 ^b	200 \pm 10 ^b
HGli	205 \pm 8	196 \pm 17	161 \pm 10 [*]	130 \pm 11 ^{*a}	119 \pm 8 ^{*a}
Hex	188 \pm 5	185 \pm 10	171 \pm 11	158 \pm 10 ^{*a}	154 \pm 2 ^{*a}

Efecto del fármaco (glibenclamida) y el extracto de *E. polystachya* sobre los niveles de glucosa plasmática a lo largo de 120min. Diferencia significativa de ($p \leq 0.05$), $n=6$. En donde * vs T0, a vs H, b vs N. **(N)** normoglucémico, **(H)** hiperglucémico, **(HGli)** hiperglucémico con glibenclamida, **(HEx)** hiperglucémico con extracto.



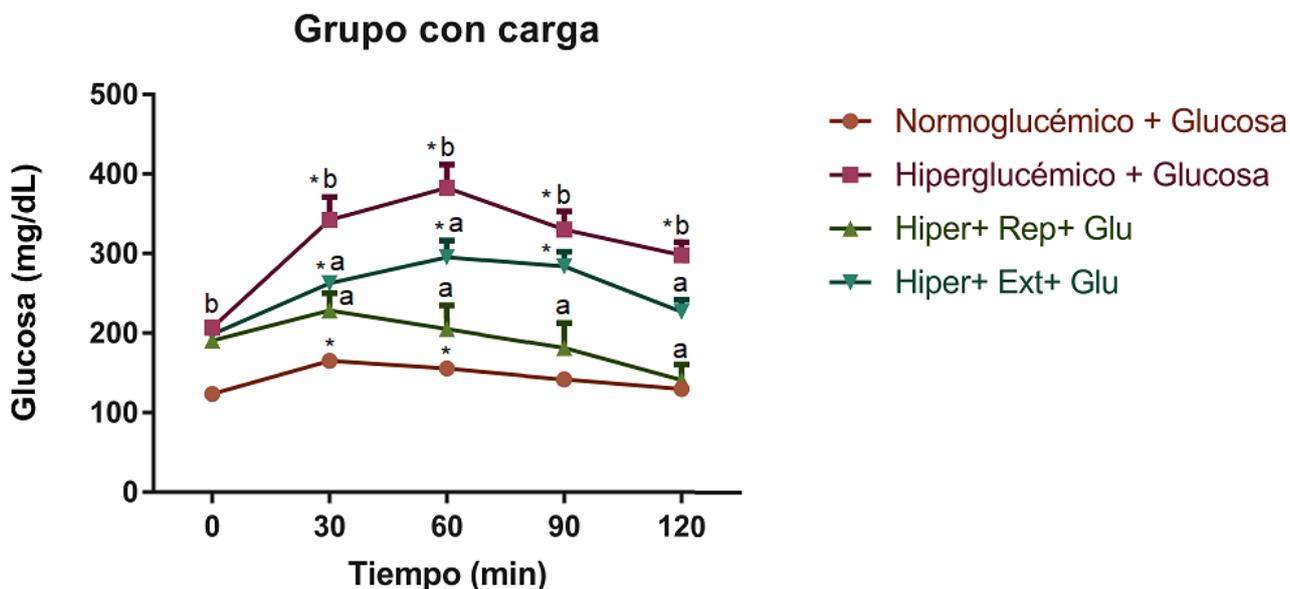
Gráfica 1. Resultado de los ensayos agudos de los grupos sin carga de glucosa. Promedio de glucosa plasmática (mg/dl) \pm EEM de los grupos sin carga de glucosa. Grupos: normoglucémico (**N**), hiperglucémico (**H**), hiperglucémico con glibenclamida (**HGli**) e hiperglucémico con extracto (**HEx**). En donde * vs T0, a vs H, b vs N.

En cuanto a los grupos con carga de glucosa, en la tabla 8 y gráfica 2 se puede observar que el grupo NG presentó un pico hiperglucémico postprandial en los T30 y T60 y después reestablece sus valores basales, mientras que el grupo HG lo presentó a partir del T30 y hasta el T120. En cuanto al control HRepG se observó la inhibición del pico postprandial al no presentarse alguna diferencia significativa en ninguno de sus tiempos, en comparación con su T0. Mientras que en el control HExG el pico hiperglucémico es visible en los T30, T60 y T90, sin embargo se reestablece en el T120. Al realizar la comparación entre grupos respecto al control HG, se observó una disminución significativa del control HRepG desde el T30 hasta el T120, mientras que en el control HExG es en los T30, T60 y T120.

Tabla 8. Promedio de valores de glucosa en sangre (mg/dl) \pm EEM de los grupos con carga de glucosa.

Grupos experimentales	Valores de glucosa plasmática mg/dl				
	Tiempo (min)				
	0	30	60	90	120
NG	123 \pm 3	165 \pm 6*	156 \pm 4*	142 \pm 5	130 \pm 4
HG	207 \pm 9 ^b	342 \pm 29 ^{*b}	383 \pm 29 ^{*b}	330 \pm 23 ^{*b}	298 \pm 16 ^{*b}
HRepG	191 \pm 9	228 \pm 22 ^a	205 \pm 30 ^a	182 \pm 31 ^a	141 \pm 19 ^a
HExG	198 \pm 8	263 \pm ^{*a}	296 \pm 21 ^{*a}	284 \pm 18*	227 \pm 15 ^a

Efecto del fármaco (repaglinida) y el extracto de *E. polystachya* sobre los niveles de glucosa plasmática a lo largo de 120min. Diferencia significativa de ($p \leq 0.05$), $n=6$. En donde * vs T0, a vs HG, b vs NG. (**NG**) normoglucémico con glucosa, (**HG**) hiperglucémico con glucosa, (**HRepG**) hiperglucémico con repaglinida y carga de glucosa, (**HExG**) hiperglucémico con extracto y carga de glucosa.



Gráfica 2. Resultados de los ensayos agudos de los grupos con carga de glucosa. Promedio de glucosa plasmática (mg/dl) \pm EEM de los grupos con carga de glucosa. Grupos: normoglucémico con carga de glucosa (NG), hiperglucémico con carga de glucosa (HG), hiperglucémico con repaglinida y carga de glucosa (HRepG) e hiperglucémico con extracto y carga de glucosa (HExG). En donde * vs T0, a vs HG, b vs NG.

8.3 Cromatografía en capa fina (CCF)

En la tabla 9, se muestran los resultados obtenidos de las pruebas preliminares para la identificación de los diferentes metabolitos secundarios del extracto etanol-agua de la corteza de *E. polystachya*, tales como terpenos, azúcares, flavonoides aglicona, flavonoides glicósidos y alcaloides, comparando la presencia de las bandas de los compuestos control vs las bandas desarrolladas por el extracto, así como las imágenes de las placas cromatográficas realizadas.

Tabla 9. Metabolitos secundarios identificados por medio de bandas en la CCF del extracto etanol-agua de la corteza de *E. polystachya*.

	Terpenos	Flavonoides aglicona	Flavonoides glicosilados	Azúcares	Alcaloides
Extracto etanol-agua de <i>E. polystachya</i>	-	+	+	+	-

En la placa de flavonoides aglicona (figura 14), se observan bandas amarillas, naranjas y azules, que indican la presencia de compuestos fenólicos, sin embargo de acuerdo con su Rf, no se observó la presencia de los controles quercetina ni ácido caféico. En la placa de flavonoides glicosilados (figura 15), no se observan bandas bien definidas, aunque también se sugiere la presencia de compuestos fenólicos, sin embargo tampoco se observa la presencia de los controles rutina ni ácido clorogénico. En placa de glicósidos (figura 16) se observó una mezcla abundante de glicósidos. Finalmente, las placas pertenecientes a terpenos y alcaloides (figura 13 y 17), dieron un resultado negativo para la presencia de dichos compuestos.



Figura 13. CCF placa 1: Terpenos (donde T es timol y Ex el extracto). Sistema de elución: hexano/ diclorometano. Revelador: vainillina/ calor.

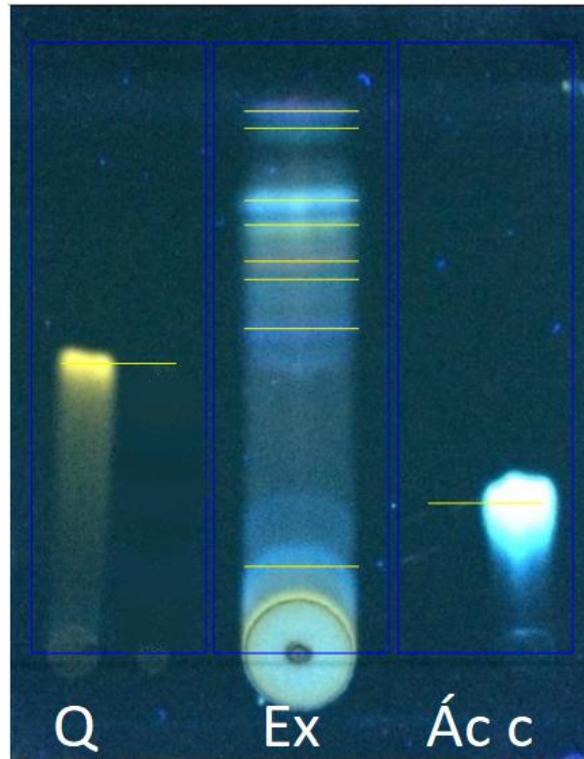


Figura 14. CCF placa 2: Flavonoides aglicona (donde Q es quercetina y Ác c es ácido caféico). Sistema de elución: diclorometano / metanol. Revelador: ácido difenilbourínico.

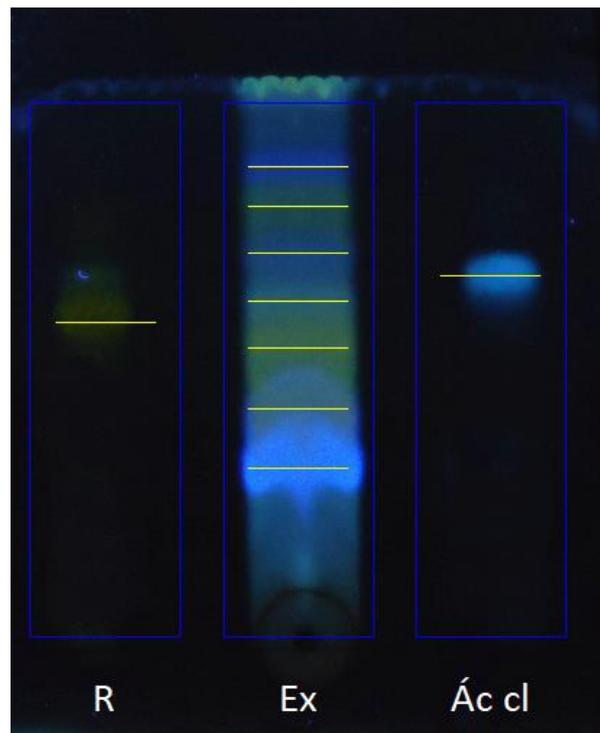


Figura 15. CCF placa 3: Flavonoides glicosilados (donde R es rutina, Ex es extracto, y Ác Cl es ácido clorogénico). Sistema de elución: acetato de etilo/ ác fórmico/ ác acético/ agua. Revelador: ácido difenilbourínico.

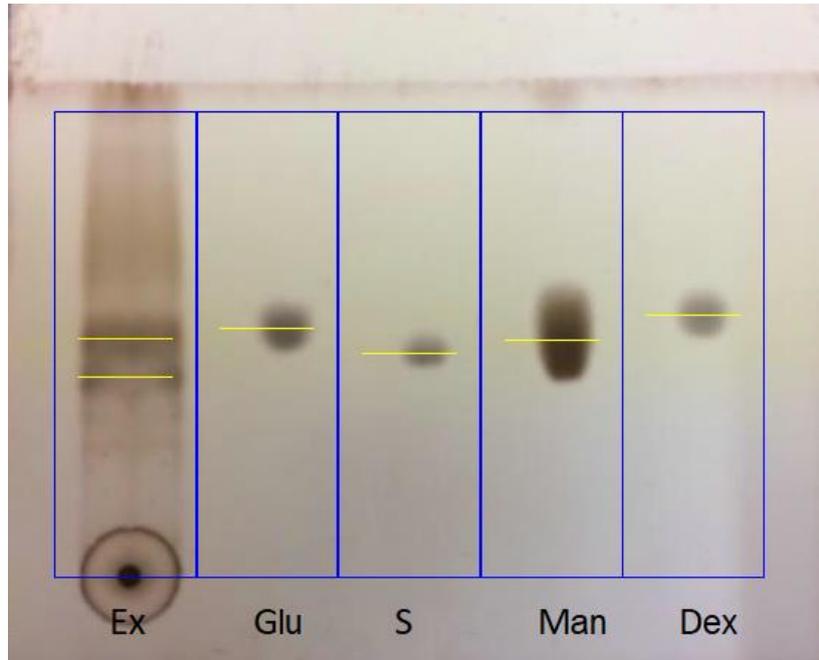


Figura 16. CCF placa 4: Azúcares (donde Ex es el extracto, Glu es glucosa, S es sacarosa, Man es manosa y Dex es dextrosa). Sistema de elución: n-propanol/ agua/ ácido acético. Revelador: Sulfato cérico/ calor.



Figura 17. CCF placa 5: Alcaloides (en donde Col es colchicina, Ex es extracto, y Q es quinina). Sistema de elución: diclorometano/ metanol/ hidróxido de amonio. Revelador: reactivo de Dragendorff.

9. Discusión

En la categoría sin carga de glucosa, se puede observar que el ensayo propuesto por Masiello 1998 en el cual se basa la inducción del modelo STZ-NA utilizado para este estudio, es estable y cumple con las características de hiperglucemia moderada, dicha estabilidad se ve evidenciada en el control H al no presentar diferencia significativa en sus valores en comparación con su T0, manteniendo sus valores de glucosa plasmática alrededor de 200mg/dl, además de presentar una diferencia significativa en todos sus tiempos respecto al control N.

Por su parte, el control HGli muestra desde el inicio una tendencia a la disminución en los niveles de glucosa que puede entenderse como la liberación de insulina característica de éste fármaco, al mismo tiempo, se evidencia la funcionalidad de las células β supervivientes de la inducción del modelo STZ-NA, sin embargo, no es sino hasta el T60 en el que presenta una significancia estadística de su efecto hipoglucemiante. Esto puede interpretarse que es hasta entonces cuando actúa la segunda fase de la secreción de insulina, la cual resulta más sostenida. Por otro lado, el grupo HEx muestra un efecto hipoglucemiante significativo hasta el T90 y T120, una hipótesis basada en los antecedentes fitoquímicos de la planta es que el efecto hipoglucemiante del extracto está dado por la sensibilización en tejidos periféricos, lo cual promueve la captación de glucosa y se ve reflejado en la disminución de la concentración de glucosa plasmática. Finalmente, al comparar los grupos HGli e HEx respecto al control H se obtuvo en ambos una diferencia significativa a partir del T90 lo cual refuerza el efecto hipoglucemiante en ambos grupos.

En cuanto a la categoría con carga de glucosa, en el control NG se puede apreciar la elevación de la glucosa plasmática después de su administración oral, la cual se ve representada en el pico postprandial que muestra diferencia significativa en los T30 y T60 respecto a su T0; al ser un organismo sano regresa a los valores iniciales de glucosa. En contraste, el control HG que no es capaz de reestablecer sus niveles basales después del pico postprandial (a partir del T30) debido a las características del modelo STZ-NA en el cual está presente una hiperglucemia moderada y deficiencia en la secreción de insulina.

La repaglinida es un secretagogo de insulina, el cual se caracteriza por presentar una acción más rápida en comparación con la glibenclamida (Lorenzati, et al., 2010), por lo que en el control HRepG se puede observar el pico postprandial inhibido al no presentarse diferencia significativa en ninguno de sus tiempos respecto a su T0, sin embargo sí se presenta una

significancia estadística en todos sus tiempos respecto al control HG. En cuanto al grupo HExG se observó un pico hiperglucémico significativo en los T30, T60, T90, sin embargo, en el T120 reestablece sus valores basales de glucosa. Además, a pesar de que en este grupo sí se presentó un pico postprandial, éste se encontró disminuido al ser significativamente diferente al que presenta el grupo HG.

Es presumible que el efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua de *E. polystachya* no esté dado por una vía de señalización parecida al de la repaglinida, ya que éste fármaco sólo actúa en presencia de glucosa y como se muestra en las gráficas 1 y 2, los grupos experimentales con extracto manifiestan un claro efecto hipoglucemiante, el cual no se ve alterado por la presencia o ausencia de una carga de glucosa oral.

Una hipótesis es que se ve favorecida la captación de glucosa en tejidos periféricos al ejercer un efecto sensibilizador a la insulina sobre ellos, lo que disminuye la concentración de glucosa circundante en la sangre. A pesar de ello, no se descarta que el extracto etanol-agua de *E. polystachya* pueda promover la secreción de insulina, ya que se deben medir las concentraciones de insulina en suero para considerar o descartar esta opción.

Por otro lado, se observó un claro efecto hipoglucemiante al utilizar como base una dosis tradicional, sin embargo, se propone realizar pruebas con distintas dosis para determinar si presenta un efecto dosis-respuesta, además de realizar estudios fitoquímicos en los que se aíslen sus componentes para probarlos farmacológicamente y determinar si el efecto hipoglucemiante está dado por un compuesto o la sinergia de varios.

En el presente trabajo se realizaron CCF para determinar la presencia o ausencia de terpenos, glicósidos, flavonoides agliconas, flavonoides glicosilados y alcaloides.

El valor R_f se utilizó como guía al facilitar la comparación entre la migración de los compuestos controles conocidos y los desconocidos del extracto. En cada placa se utilizó un revelador específico para el grupo que se deseaba observar. En la placa de CCF de flavonoides agliconas, se observó la presencia de diversos compuestos fenólicos, teniendo como antecedentes la presencia de chalconas, isoflavonas, fenil propanoides y pterocarpanos aglicona, entre otros, es posible que las bandas observadas en el extracto en color azul sean fenil propanoides, y en amarillo y naranja (dependiendo de las oxidaciones que presente) flavonoides como chalconas e isoflavonas. Sin embargo, no hay evidencia de que se encuentren presentes los controles quercetina o ácido caféico. En la placa de flavonoides glicosilados también se observó una gama de compuestos fenólicos, pudiendo

ser chalconas e isoflavonas. En ésta placa tampoco es visible la presencia de sus controles rutina o ácido clorogénico. Con ayuda de los controles utilizados y del revelador específico para la identificación de azúcares, fue posible observar la presencia de este grupo en el extracto. Y finalmente, se obtuvieron resultados negativos para timol como terpeno y quinina y quercetina como alcaloides.

10. Conclusiones

El extracto etanol-agua de la corteza de *E. polystachya* mostró un claro efecto hipoglucemiante el cual se manifiesta administrando o no una carga de glucosa oral. La hipótesis propuesta es que el extracto actúe sensibilizando a los tejidos blanco a la insulina, lo cual facilitaría la captación de glucosa y la disminución en las concentraciones circulantes de glucosa sanguínea, además de un posible mecanismo secundario como secretagogo de insulina. Para ambos efectos sería necesario realizar estudios con las pruebas necesarias para dilucidarlo.

Se observó que al utilizar como base para la realización del extracto una dosis tradicional, la concentración de los compuestos con actividad hipoglucemiante fue suficiente para que ésta se viera evidenciada.

En las CCF no se observó la presencia de metabolitos tales como terpenos o alcaloides sin embargo fue posible observar una mezcla abundante de azúcares, flavonoides glicosilados y agliconas, los cuales se sugiere son lo que presentan el efecto farmacológico hipoglucemiante.

Finalmente, este trabajo espera contribuir para la descripción de la especie *E. polystachya* en el aspecto farmacológico y fitoquímico.

Referencias

- Al-Awar, A., Kupai, K., Veszelka, M., Szucs, G., Attieh, Z., Murlasits, Z., ... Varga, C. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of Diabetes Research, 2016*. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
- Al-Karagholi, M. A. M., Hansen, J. M., Severinsen, J., Jansen-Olesen, I., & Ashina, M. (2017). The KATPchannel in migraine pathophysiology: a novel therapeutic target for migraine. *Journal of Headache and Pain, 18*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s10194-017-0800-8>
- Alcalde-Rabanal, J. E., Orozco-Núñez, E., Espinosa-Henao, O. E., Arredondo-López, A., & Alcayde-Barranco, L. (2018). The complex scenario of obesity, diabetes and hypertension in the area of influence of primary healthcare facilities in Mexico. *PLoS ONE, 13*(1), 1–17. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187028>
- Alegre-Díaz, J., Herrington, W., López-Cervantes, M., Gnatiuc, L., Ramirez, R., Hill, M., ... Emberson, J. R. (2016). Diabetes and Cause-Specific Mortality in Mexico City. *New England Journal of Medicine, 375*(20), 1961–1971. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1605368>
- Alvarez, L., & Delgado, G. (1999). C- and O-glycosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry, 50*(4), 681–687. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00576-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00576-7)
- Alvarez, L., Rios, M. Y., Esquivel, C., Chávez, M. I., Delgado, G., Aguilar, M. I., ... Navarro, V. (1998). Cytotoxic isoflavans from *Eysenhardtia polystachya*. *Journal of Natural Products, 61*(6), 767–770. <https://doi.org/10.1021/np970586b>
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology, 99* (2005), 325–348.
- Andrade-Cetto, A., Heinrich, M. (2011). From the field into the lab: useful approaches to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in Pharmacology, 2*(20), 1-5.
- Arias Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria, 2*(22), 160–168.

- Atanasov. (2016). Discovery and resupply of pharmacologically active plant- derived natural products : A review. *Biotechnology Advances*, 33(8), 1582–1614.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.08.001>.Discovery
- BDMTM. (2009). Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Recuperado de:
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7734>
- Beltrami, E., Bernardi, M. De, Fronza, G., Mellerio, G., Vidari, G., & Vita-Finzi, P. (1980). Coatline A and B, two C-glucosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry*, 21(12), 2931–2933. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85071-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85071-0)
- Bösenberg, L. H., & van Zyl, D. G. (2008). The mechanism of action of oral antidiabetic drugs: A review of recent literature. *Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa*, 13(3), 80–88.
<https://doi.org/10.1080/22201009.2008.10872177>
- Burns, D., Dalgarno, B., Gargan, P., & Grimshaw, J. (1984). An isoflavone and a coumestan from *Eysenhardtia polystachya*-Robert Boyle's fluorescent acid-base indicador. *Phytochemistry*, 23(1), 167–169.
- Cheng, A. Y. Y., & Fantus, I. G. (2005). HGO en DM2.pdf, 172(2), 213–226.
<https://doi.org/10.1503/cmaj.1031414>
- CONAFOR. (2016). Reforestan 2 mil 765 hectáreas en Querétaro en 2016. Recuperado de: <https://www.gob.mx/conafor/prensa/reforestan-2-mil-765-hectareas-en-queretaro-en-2016>
- CONABIO. (2006). *Capital Natural y Bienestar Social*.
- Cornell, S. (2015). Continual evolution of type 2 diabetes: An update on pathophysiology and emerging treatment options. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 11, 621–632. <https://doi.org/10.2147/TCRM.S67387>
- Coskun, O. (2016). Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY. *Northern Clinics of Istanbul*, 3(2), 156–160. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.110.594499>
- Curtis L. (2012). Examining the Mechanisms of Glucose Regulation. *AJMC Managed*

Markets Network, 2012 (18), S4-S10

De Vries McClintock, H. F., Wiebe, D. J., O'Donnell, A. J., Morales, K. H., Small, D. S., & Bogner, H. R. (2015). Neighborhood Social Environment and Patterns of Adherence to Oral Hypoglycemic Agents among Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Family and Community Health*, 38(2), 169–179. <https://doi.org/10.1097/FCH.0000000000000069>

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. (2016). Informe final de resultados. Recuperado de <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/209093/ENSANUT.pdf>

Estrada-Castillón, E., Soto-Mata, B. E., Garza-López, M., Villarreal-Quintanilla, J. T., Jiménez-Pérez, J., Pando-Moreno, M., ... Cotera-Correa, M. (2012). Medicinal plants in the southern region of the State of Nuevo León, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8, 1–13. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-45>

Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos. (2001)

Gilani, A. H., & Atta-ur-Rahman. (2005). Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1–2), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.001>

Gómez-Zorita, S., & Urdampilleta, A. (2012). El GLUT4: Efectos de la actividad física y aspectos nutricionales en los mecanismos de captación de glucosa y sus aplicaciones en la diabetes tipo 2. *Avances En Diabetología*, 28(1), 19–26. <https://doi.org/10.1016/j.avdiab.2012.02.003>

Gribble F, Reimann F. (2003). Differential selectivity of insulin secretagogues: Mechanisms, clinical implications, and drug interactions. *Journal of Diabetes and its Complications*. 17(2). 11-15

Habibi, S., Ahmadi, M., & Alizadeh, S. (2015). Type 2 Diabetes Mellitus Screening and Risk Factors Using Decision Tree: Results of Data Mining. *Global Journal of Health Science*, 7(5), 304–310. <https://doi.org/10.5539/gjhs.v7n5p304>

Hatorpe V. (2002). Farmacocinética clínica y farmacodinamia de repaglinida. *Clin Pharmacokinet*. 41(7), 471-83. <https://doi.org/10.2165/00003088-200241070-00002>

- Henquin, J. C. (2000). Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*, 49(11), 1751–1760. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.11.1751>
- Hill, M. F. S. J. (1996). Thin-Layer Chromatography for Binding Media Analysis. *Scientific Tools for Conservation*, 173.
- International Diabetes Federation. (2013, 2015, 2017). IDF Diabetes Atlas (N°6, 7, 8)
- Jannie Fuhlendorff, Patrik Rorsman, Hans Kofod, Christian L. Brand, Bidida Rolin, Peter MacKay, Ronald Shymko, and R. D. C. (1998). Stimulation of Insulin Release by Repaglinide and Glibenclamide Involves Both Common and Distinct Processes. *Diabetes*, 47(3), 345–351.
- Kawano, A., Nakamura, H., Hata, S. ichi, Minakawa, M., Miura, Y., & Yagasaki, K. (2009). Hypoglycemic effect of aspalathin, a rooibos tea component from *Aspalathus linearis*, in type 2 diabetic model db/db mice. *Phytomedicine*, 16(5), 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.11.009>
- Kim, S. G., Kim, N. H., Ku, B. J., Shon, H. S., Kim, D. M., Park, T. S., ... Choi, D. S. (2017). Delay of insulin initiation in patients with type 2 diabetes mellitus inadequately controlled with oral hypoglycemic agents (analysis of patient- and physician-related factors): A prospective observational DIPP-FACTOR study in Korea. *Journal of Diabetes Investigation*, 8(3), 346–353. <https://doi.org/10.1111/jdi.12581>
- Knöss W & Chinou I. (2012). Regulation of Medicinal Plants for Public Health – European Community Monographs on Herbal Substances. *Planta Médica*. 78(12). 1311-1316. DOI: 10.1055/s-0031-1298578
- Kothari, V., Galdo, J. A., & Mathews, S. T. (2016). Hypoglycemic agents and potential anti-inflammatory activity. *Journal of Inflammation Research*, 9, 27–38. <https://doi.org/10.2147/JIR.S86917>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Lorenzati, B., Zucco, C., Miglietta, S., Lamberti, F., & Bruno, G. (2010). Oral hypoglycemic drugs: Pathophysiological basis of their mechanism of action. *Pharmaceuticals*, 3(9),

3005–3020. <https://doi.org/10.3390/ph3093005>

Masiello, P., Broca, C., Gross, R., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., ... Ribes, G. (1998). Experimental NIDDM: Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. *Diabetes*, 47(2), 224–229.

<https://doi.org/10.2337/diab.47.2.224>

Mata Torres Valle G. (2017). Efecto de los extractos de la corteza de *Rhizophora mangle* L. y de las hojas de *Bromelia karatas* L. sobre la gluconeogénesis hepática en ratas STZ-NA (Tesis de maestría). UNAM. México

Meléndez M E, Berdeja B, Miranda G. (2004). Diuretic effect of the aqueous extract of *Bidens odorata* in the rat. *Journal of Ethnopharmacology*. 95(2–3), 363-366

Menendez Torre, E., Lafita Tejedor, J., Artola Menendez, S., Millan Nunez-Cortes, J., Alonso Garcia, A., Puig Domingo, M., ... *Diabetes, S. E. de.* (2011).

[Recommendations for the pharmacological treatment of hyperglycemia in type 2 diabetes]. TT - Recomendaciones para el tratamiento farmacologico de la hiperglucemia en la diabetes tipo 2. *Revista Clínica Espanola*, 211, 147–155.

<https://doi.org/10.1016/j.rce.2010.11.006>

Meza, R., Barrientos-Gutierrez, T., Rojas-Martinez, R., Reynoso-Noverón, N., Palacio-Mejia, L. S., Lazcano-Ponce, E., & Hernández-Ávila, M. (2015). Burden of type 2 diabetes in Mexico: Past, current and future prevalence and incidence rates.

Preventive Medicine, 81, 445–450. <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2015.10.015>

Moon, M. K., Hur, K. Y., Ko, S. H., Park, S. O., Lee, B. W., Kim, J. H., ... Kim, N. H. (2017). Combination therapy of oral hypoglycemic agents in patients with type 2 diabetes mellitus. *Korean Journal of Internal Medicine*, 32(6), 974–983.

<https://doi.org/10.3904/kjim.2017.354>

Nagashima K, Takahashi A, Ikeda H, Hamasaki A, Kuwamura N, Yamada Y & Seino Y. (2004). Sulfonylurea and non-sulfonylurea hypoglycemic agents: pharmacological properties and tissue selectivity. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2004 (66).

75–78

Nathan DM, BuseJB, Davidson MB, & col. (2008). Manejo médico de la hiperglucemia en la

diabetes tipo 2 : algoritmo por consenso para el inicio y ajuste de tratamiento .
Consenso establecido por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la
Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, 1(31),
193–203

Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. A. (2008). Bases Moleculares De Las
Acciones De La Insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9–18

Organización Mundial de la Salud. (2012). Nota descriptiva (N° 312). Recuperado de
<http://fmdiabetes.org/diabetes-en-mexico/>

Organización Mundial de la Salud. (2016). Informe Mundial sobre la diabetes. Recuperado
de http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204877/1/WHO_NMH_NVI_16.3_spa.pdf

Pablo-Pérez, S. S., Estévez-Carmona, M. M., & Meléndez-Camargo, M. E. (2016). Diuretic
activity of the bark of *Eysenhardtia polystachya*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*,
11(1), 212–217. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i1.24659>

Perez-Gutierrez, R., Garcia-Campoy, A., & Muñiz-Ramirez, A. (2016). Properties of
Flavonoids Isolated from the Bark of *Eysenhardtia polystachya* and Their Effect on
Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Mice. *Oxidative
Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9156510>

Perez, Vargas, Perez, & Zavala. (1998). Antiurolithiatic activity of *Eysenhardtia polystachya*
aqueous extract on rats. *Phytotherapy Research*, 12(2), 144–145.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199803\)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199803)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H)

Pieper, A. A., Verma, A., Zhang, J., & Snyder, S. H. (1999). Poly (ADP-ribose) polymerase,
nitric oxide and cell death, 20(4), 171–181. [https://doi.org/S0165-6147\(99\)01292-4](https://doi.org/S0165-6147(99)01292-4) [pii]

Riddle, M. C., Bakris, G., Blonde, L., Boulton, A. J. M., D 'alessio, D., De Groot, M., ...
Cefalu, W. T. (2018). Standard medical care in diabetes 2018. *Diabetes Care*, 41(1).
<https://doi.org/10.2337/dc18-Sint01>

Rowley, W. R., Bezold, C., Arikan, Y., Byrne, E., & Krohe, S. (2017). Diabetes 2030:
Insights from Yesterday, Today, and Future Trends. *Population Health Management*,
20(1), 6–12. <https://doi.org/10.1089/pop.2015.0181>

- Ruggerio-Escalona, C., Ordaz-Pichardo, C., Becerra-Martinez, E., Cruz-López, M. D. C., López-Y-López, V. E., Mendieta-Moctezuma, A., ... Jiménez-Montejo, F. E. (2018). "diabetes and Metabolism Disorders Medicinal Plants: A Glance at the Past and a Look to the Future 2018": Antihyperglycemic Activity of *Hamelia patens* Jacq. Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7926452>
- Salinas-Hernández, P., López-Bermúdez, F. J., Rodríguez-Barrientos, D., Ramírez-Silva, M. T., Romero-Romo, M. A., Morales-Anzures, F., & Rojas-Hernández, A. (2008). Development of a capillary electrophoresis method for the characterization of "palo azul" (*Eysenhardtia polystachya*). *Journal of Separation Science*, 31(4), 741–745. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700368>
- Seino, S., Sugawara, K., Yokoi, N., & Takahashi, H. (2017). β -Cell signalling and insulin secretagogues: A path for improved diabetes therapy. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(April), 22–29. <https://doi.org/10.1111/dom.12995>
- Tfayli, H., & Arslanian, S. (2009). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in youth: the evolving chameleon. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia*, 53(2), 165–174. <https://doi.org/10.1590/S0004-27302009000200008>
- Triplitt, C. L. (2012). Examining the mechanisms of glucose regulation. *The American Journal of Managed Care*, 18(1 Suppl), S4-10. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22559855>
- Un-Hee K, Jeong-Hyun Y, Hua L, Ji-Hyun K, Hyeon-Seon J, Ki Hun P, Dong-Ha S, Ho-Yong P & Tae-Sook J. (2014). Pterocarpan-Enriched Soy Leaf Extract Ameliorates Insulin Sensitivity and Pancreatic β -Cell Proliferation in Type 2 Diabetic Mice. *Molecules*. 2014 (19). 18493-18510; doi: 10.3390/molecules191118493
- Villalpando, S., de la Cruz, V., Rojas, R., Shamah-Levy, T., Ávila, M. A., Gaona, B., ... Hernández, L. (2010). Prevalence and distribution of type 2 diabetes mellitus in Mexican adult population: a probabilistic survey. *Salud Pública de México*, 52(1), S19–S26. <https://doi.org/10.1590/S0036-36342010000700005>
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez

Dirzo. (1999). Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO - Instituto de Ecología, UNAM. 112-115

Villarreal-Ibarra, E. C., Del Carmen Lagunes-Espinoza, L., López, P. A., García-López, E., Palma-López, D. J., Ortiz-García, C. F., & Oranday-Cárdenas, M. A. (2015). Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas*, 14(2), 99–112.

Vlietinck A, Pieters L, Sandra A. (2009). Legal Requirements for the Quality of Herbal Substances and Herbal Preparations for the Manufacturing of Herbal Medicinal Products in the European Union. *Planta Médica*. 75(7): 683-688. DOI: 10.1055/s-0029-1185307

Waksmundzka- H M, Sherma J, Kawalska T. (2008). Thin Layer Chromatography in Phitochemistry. Recuperado de:

https://books.google.com.mx/books?id=fBCDK_Tgh10C&pg=PA3&hl=es&source=gbs_toc_r&cad=4#v=onepage&q&f=false.

Ward, M. G., Li, G., Barbosa-Lorenzi, V. C., & Hao, M. (2017). Stigmasterol prevents glucolipotoxicity induced defects in glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports*. 2017 (7). 9536. <http://doi.org/10.1038/s41598-017-10209-0>

Yeung, A. W. K., Heinrich, M., & Atanasov, A. G. (2018). Ethnopharmacology-A bibliometric analysis of a field of research meandering between medicine and food science? *Frontiers in Pharmacology*, 9(MAR). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00215>

Zhang, N., Yang, X., Zhu, X., Zhao, B., Huang, T., & Ji, Q. (2017). Type 2 diabetes mellitus unawareness, prevalence, trends and risk factors: National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2010. *Journal of International Medical Research*, 45(2), 594–609. <https://doi.org/10.1177/0300060517693178>