



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESTANDARIZACIÓN DE UN MODELO ANIMAL CON RESISTENCIA A LA
INSULINA A PARTIR DE LA ADMINISTRACIÓN CRÓNICA DE JARABE
ALTO EN FRUCTOSA EN RATAS STZ

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

HERNÁNDEZ MACHUCA VERÓNICA LIZETH

DIRECTOR DE TESIS

DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., 2019





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. Datos del alumno

Hernández

Machuca

Verónica Lizeth

5552186250

Universidad Nacional Autónoma de México

México

Facultad de Ciencias

Biología

312045920

2. Datos tutor

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

3. Datos Sinodal 1

Dr.

René de Jesús

Cárdenas

Vázquez

4. Datos Sinodal 2

Dra.

Andrea

Sachi

Díaz Villaseñor

5. Datos Sinodal 3

Dra.

Nadia Judith

Jacobo

Herrera

6. Datos Sinodal 4

M. en C.

Laura Silvia

Salinas

Velázquez

7. Datos de trabajo escrito

Estandarización de un modelo animal con resistencia a la insulina a partir de la administración crónica de jarabe alto en fructosa en ratas STZ.

59 p

2019

*A mis padres por su apoyo,
A Marce,
Y a mis abuelos.*

*“El origen de la inteligencia de los hombres reside en sus manos.”
Anaxágoras*

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme sus puertas desde el bachillerato y darme la oportunidad de crecer académicamente y personalmente.

A mi tutor, el Dr. Adolfo Andrade Cetto, por su valioso apoyo y enseñanza durante el desarrollo de este proyecto.

A la M. en C. Artemisa Espinosa, el M. en C. Gerardo Mata y la M. en C. Daniela Moreno, por ser unos excelentes profesores, y brindarme su apoyo y tiempo para el desarrollo de este trabajo.

A el Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez, a la Dra. Nadia Judith Jacobo Herrera, a la Dra. Andrea Sachi Díaz Villaseñor y a la M. en C. Laura Silvia Salinas Velázquez por su tiempo, aportaciones y comentarios realizados para enriquecer y mejorar este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres, Patricia y Luis, por su amor y apoyo incondicional durante toda mi formación académica y personal. Gracias por impulsarme para llegar hasta donde estoy ahora y alcanzar un logro más en mi vida, sin su apoyo nada de esto hubiera sido logrado.

A mi segunda madre, Marce, por alentarme cada día a seguir mis sueños y acompañarme en este proceso tan importante que representa la culminación de mi formación universitaria.

A mis abuelos Ramona, Abraham, Esther y Mario, por ser pilares fundamentales para mi formación personal y brindarme todo su amor y apoyo. Por aportar tanta sabiduría con cada historia contada, los admiraré hasta el último de mis días.

A toda mi familia que siempre ha creído en mí, en especial a mis tíos Carlos, Chuy, Gabriel, Adriana, Xochitl, Maricela, que siempre me han apoyado. A mis hermanos, Yosi e Iván, a mis primos Karina, Gabriel y Christian por ser como mis hermanos, y mis sobrinos Santi y Diego.

A mis amigas Paola, Sofía y Bibiana, por haberme acompañado durante las etapas más importantes de mi vida y formación universitaria, por su apoyo y consejos, gracias por existir.

Finalmente, agradezco a mi gran amor, José, por su amor y apoyo incondicional. Por ser mi compañero de vida y sueños, por motivarme a superarme cada día y enseñarme a construir un amor perfecto lleno de imperfecciones. Te amo.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
RESUMEN	3
INTRODUCCIÓN	4
ANTECEDENTES	5
1. Diabetes mellitus	5
1.1. Clasificación	5
1.2. Epidemiología	5
2. Diabetes mellitus tipo 2	6
2.1. Diagnóstico y tratamiento	6
2.2. Complicaciones	7
3. Resistencia a la insulina	8
3.1. Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina	9
3.2. Métodos diagnóstico de resistencia la insulina	12
4. Modelos animales para el estudio de la diabetes mellitus	14
4.1. Modelo STZ	15
4.2.1. Administración crónica de fructosa en el desarrollo de modelos de resistencia a la insulina	17
4.2.2. Consumo de fructosa y efectos deletéreos sobre la salud	18
4.2.3. Efectos metabólicos de la fructosa y RI	19
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	21
METODOLOGÍA	23
1. Estandarización de RI	23

1.1. Animales experimentales	23
1.2.1. Grupos experimentales	24
1.2.2. Inducción de hiperglucemia	25
1.2.3. Jarabe	25
1.2.4. Tratamiento farmacológico	25
2. Evaluación del modelo	27
2.1. Medición de parámetros	27
2.2. Pruebas de tolerancia a la glucosa oral (“PTG”)	27
2.3. Extracción de suero	27
2.4. Determinación de resistencia a la insulina	28
3. Análisis de datos	29
<hr/>	
RESULTADOS	30
<hr/>	
DISCUSIÓN	46
<hr/>	
CONCLUSIONES	52
<hr/>	
PERSPECTIVAS	53
<hr/>	
REFERENCIAS	54
<hr/>	

Abreviaturas

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AGL	ácidos grasos libres
AS160	sustrato de Akt de 160 KDa
ATP	Adenosín trifosfato
DM	diabetes mellitus
DMT2	diabetes mellitus tipo 2
DNA	ácido desoxirribonucleico
EHGNA	hígado graso no alcohólico
EHH	estado hiperosmolar hiperglucémico
F1	fructosa 1,6 bisfosfato
G6P	glucosa-6-fosfato
GLUT2	transportador de glucosa 2
GLUT4	transportador de glucosa 4
GLUT5	transportador de glucosa 5
GSK3	enzima glucógeno sintasa cinasa 3
H	grupo control hiperglucémico
HbA1C	hemoglobina glicada
HJ	grupo hiperglucémico + jarabe
HJF	grupo hiperglucémico + jarabe + fármaco
HLA	antígeno leucocitario humano
HNF1B	factor nuclear 1- β del hepatocito
HOMA-IR	modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IR	receptor de insulina
IRS	sustrato del receptor de insulina
IRS1	sustrato 1 del receptor de insulina
JNK	cinasa c-Jun N-terminal
MCP-1	proteína quimioatrayente de monocitos 1
mTor	molécula blanco de rapamicina en mamíferos
N	grupo normoglucémico
NAD+	nicotinamida adenina dinucleótido
NF-κB	factor nuclear κ B
PTG	prueba de tolerancia oral a la glucosa
OMS	Organización Mundial de la Salud
p110	subunidad catalítica de PI3K
p85	subunidad reguladora de PI3K

PAI-1	inhibidor del activador del plasminógeno-1
PARP-1	poli (ADP-Ribosa) polimerasa
PDK1	cinasa dependiente de fosfoinositidos-1
PGRab	proteínas G pequeñas Rab
PI	Fosfoinositol
PI3K	fosfatidilinositol 3-cinasa
PI4,5-P2	fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato
PI4-P	fosfatidilinositol 4-fosfato
PIP2	fosfoinositol 3,4-bisfosfato
PIP3	fosfoinositol 3,4,5- trisfosfato
PKB o Akt	la proteína cinasa B
PP2A	fosfoproteína fosfatasa 2A
RI	resistencia a la insulina
RIC	respuesta inflamatoria crónica
ROS	especies reactivas de oxígeno
Ser	Serina
STZ	Estreptozotocina
Thr	Treonina
Tyr	Tirosina

Resumen

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad caracterizada por un estado de hiperglucemia crónica causada por trastornos en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas como consecuencia de resistencia a la insulina (RI) a nivel tisular, una falla en la secreción de dicha hormona o la combinación de ambas. Debido al acelerado aumento en el número de pacientes con DMT2 se han implementado modelos animales como una herramienta importante para estudiar los mecanismos fisiopatológicos presentes en esta enfermedad, así como desarrollar nuevos tratamientos.

La presente investigación tuvo como objetivo la estandarización de un modelo animal con RI a partir de la administración crónica de un jarabe con alto contenido en fructosa en durante un periodo de 42 días en ratas Wistar con hiperglucemia inducida por estreptozotocina (STZ). Para ello se registró semanalmente la glucosa plasmática y el peso de los animales y quincenalmente se midieron los niveles de colesterol y triglicéridos. También se registró diariamente el consumo de líquidos y alimento.

Con el fin de determinar si hubo una alteración en el metabolismo de la glucosa se realizaron pruebas de tolerancia oral a la glucosa (PTG) y se cuantificaron los niveles de insulina, al inicio y al final del experimento, por medio de la técnica de inmunoensayo ELISA. La valoración de la RI se calculó mediante el índice de resistencia a insulina (HOMA-IR).

Al finalizar el periodo experimental se observó que el consumo crónico de jarabe alto en fructosa en ratas hiperglucémicas STZ modifica y acelera el aumento de los niveles de triglicéridos, incrementa los valores de glucosa y mantiene una hiperglucemia crónica, modifica las PTG, incrementa los valores del HOMA-IR, y aumenta la ingesta calórica y el consumo de líquidos. Así mismo, el modelo responde a tratamiento farmacológico de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg) disminuyendo los niveles de glucosa y triglicéridos. La metformina es un hipoglucemiante oral que promueve sensibilidad a la insulina en adipocito, miocito y hepatocito. La disminución de los niveles de glucosa y la mejora del perfil lipídico se atribuye a la reducción de la producción hepática de glucosa mediante la disminución de la gluconeogénesis hepática, así como el aumento de la captación de glucosa en miocito y adipocito. Por otro lado, la glibenclamida es un hipoglucemiante con propiedades insulinosecretoras que estimula la célula β para la liberación de insulina promoviendo la disminución de la glucemia basal a partir de la inhibición de liberación hepática de glucosa y el aumento en el transporte de glucosa en músculo y adipocito.

Introducción

En las últimas décadas, la DMT2 se ha convertido en la forma más común de diabetes, representando alrededor del 90% de los casos relacionados a dicha patología a nivel mundial (IDF, 2017). Debido al creciente número de pacientes diagnosticados con esta enfermedad, la Federación Internacional de Diabetes (IDF, por sus siglas en inglés) considera a la DMT2 como una de las enfermedades crónico- degenerativas con mayor impacto en la población y se ha convertido en una crisis socio-sanitaria que, por su naturaleza crónica, causa complicaciones patológicas a largo plazo y representa uno de los mayores gastos dentro del sector de salud que seguirá en aumento si ésta no es controlada (IDF,2017).

Las complicaciones fisiopatológicas se caracterizan por disfunción de las células β y RI, los cuales dificultan progresivamente el control de los niveles de glucosa en la sangre y conducen a la aparición de complicaciones micro y macrovasculares (De Fronzo et al., 2015). La RI es uno de los factores más estudiados dentro de la DMT2; esta provoca la disminución de la acción de la insulina en los tejidos periféricos produciendo alteraciones en el metabolismo de proteínas, lípidos y carbohidratos. Para contrarrestar la RI, el páncreas aumenta la secreción de insulina generando un estado de hiperinsulinismo compensatorio que a largo plazo terminará en el fallo de las células β y, por lo tanto, disminuirá la secreción de insulina (Pollak, 2016).

Para la comprensión y tratamiento de la DMT2 es necesario el desarrollo de modelos animales que permitan entender los mecanismos de los diferentes trastornos que presenta dicha enfermedad. En la actualidad, existe una amplia gama de modelos de hiperglucemia y RI para su estudio, sin embargo, la mayoría de ellos tardan meses en desarrollar RI por lo que resultan muy costosos (mantenimiento) y de difícil seguimiento. Debido a lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo la estandarización de un modelo animal con hiperglucemia que desarrollará RI en un menor periodo de tiempo.

La RI se desarrolló a partir de una alteración dietética que consistió en el consumo de una bebida con alto contenido en fructosa. Se eligió dicho monosacárido debido a que es el edulcorante más utilizado en alimentos (galletas, cereales, etc.) y bebidas procesadas (bebidas carbonatadas, jugos, etc.). Estudios recientes han demostrado que el consumo crónico de fructosa disminuye la sensibilidad a la insulina ya que promueve la lipogénesis y la acumulación de triglicéridos (Pérez et al., 2007). Esto, aunado al acelerado aumento del consumo de bebidas carbonatas y alimentos procesados en países desarrollados y en vías de desarrollo, implica una continua exposición de fructosa que se ha asociado a efectos deletéreos en la salud como el desarrollo de RI (Riveros et al., 2014).

Antecedentes

1. Diabetes

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que se desencadena a partir de una insuficiente producción de insulina por parte del páncreas y/o a partir de que el organismo no utiliza con eficacia la insulina producida (OMS, 2016).

1.1. Clasificación

La Organización Mundial de la Salud (OMS) la clasifica principalmente en:

- **Diabetes mellitus de tipo 1:** se caracteriza por hiperglucemia generada por una producción nula de insulina y requiere la administración crónica de dicha hormona (OMS, 2016b). Generalmente, el desarrollo de esta patología es consecuencia de la destrucción de las células β del páncreas por un fenómeno autoinmune; así mismo, es causada por mutaciones de varios genes (los genes de riesgo más establecidos son los que afectan a la regulación de la tolerancia inmunológica como los genes que codifican el antígeno leucocitario humano (HLA, por sus siglas en inglés) (Wiebe, Wägner & Novoa-Mogollón), y por factores ambientales (OMS, 2017b). Sus principales síntomas son hiperglucemia, poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio (OMS, 2017c).
- **Diabetes mellitus de tipo 2 (DMT2):** es una enfermedad multifactorial caracterizada por un estado de hiperglucemia crónico ocasionada por una falla en la secreción de insulina y/ o RI (OMS, 2017c). Está asociada con la obesidad, la poca actividad física y una mala alimentación; además, es causada por mutaciones de varios genes, los genes de riesgo más comunes son los que afectan la función de la célula beta como el factor nuclear 1- β del hepatocito (*HNF1B*, por sus siglas en inglés) y en la acción de la insulina como el sustrato 1 del receptor de insulina (*IRS1*, por sus siglas en inglés) Wiebe, Wägner & Novoa-Mogollón), y también por factores ambientales (OMS, 2017 b).
- **Diabetes gestacional:** se define como un estado de intolerancia la glucosa e hiperglucemia que surge durante el embarazo (OMS, 2017b). Las mujeres con diabetes gestacional corren mayor riesgo de desarrollar DMT2 en el futuro (OMS, 2017c).

1.2. Epidemiología

En las últimas décadas, la DM se ha convertido en un importante problema de salud mundial. En 2017 se registraron 425 millones de adultos con diabetes, de los cuales entre

un 87% y 91% presentó DMT2; para el 2045 se estima que esta cifra aumente a 629 millones. Esto representa una cifra alarmante para el sector salud ya que se calcula que el gasto mundial en salud a diabetes es de 727 millones de dólares (IDF, 2017).

En la actualidad, la DMT2 representa una de las enfermedades con mayor repercusión socio-sanitaria como resultado de su elevada frecuencia e impacto de las complicaciones crónicas de la enfermedad; dentro de éstas, resalta el factor de riesgo para el desarrollo de la patología cardiovascular (Goday, 2002). Según la IDF, las enfermedades cardiovasculares son la causa más común de muerte e incapacidad en pacientes diabéticos; entre ellas encontramos: la angina de pecho, infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica e insuficiencia cardíaca congestiva (IDF, 2015).

2. Diabetes mellitus tipo 2

La DMT2 es una patología caracterizada por un estado de hiperglucemia crónica causado por trastornos en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas generados por una falla en la secreción de insulina, resistencia a dicha hormona a nivel tisular o la combinación de ambas (De Fronzo et al., 2015). En la mayoría de los casos puede ser controlada a partir de dieta y ejercicio (De Fronzo et al., 2015). Mientras que, en otros casos, es necesario tratamiento farmacológico con hipoglucemiantes y/o insulina (Rodríguez et al., 2017).

2.1. Diagnóstico y tratamiento

Es común que en sus inicios los pacientes con DMT2 no presenten manifestaciones clínicas o estas sean mínimas durante varios años antes del diagnóstico (OMS, 2017). El diagnóstico de DMT2 se realiza por métodos analíticos según los criterios establecidos por distintas organizaciones de salud como la Asociación Americana de Diabetes (ADA, por sus siglas en inglés). De acuerdo a la ADA (2016), existen diferentes métodos para diagnosticar la DMT2 (Tabla 1). Un paciente es diabético cuando presenta los valores indicados en la Tabla 1 utilizando los siguientes métodos de diagnóstico: la medición de hemoglobina glicada (HbA1C), la medición de glucosa plasmática en ayunas, prueba aleatoria de glucosa plasmática y prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTG).

Para realizar un diagnóstico certero es necesario repetir cada método una segunda vez. Así mismo, un paciente está en riesgo de desarrollar DMT2 y ser considerado como prediabético cuando presenta los valores indicados en la Tabla 1. La prediabetes es un trastorno en el cual, el nivel de glucosa en la sangre es mayor de lo normal, pero no lo suficientemente alto como para que sea considerado como diabetes, los valores de referencia también se pueden observar en la Tabla 1 (ADA, 2016).

Tabla 1. Parámetros para diagnosticar la DMT2, ADA (2016).

Parámetros	Normal	Prediabetes	T2DM
Hemoglobina glicada (HbA1C).	<5.7%	5.7–6.4%	≥6.5%
Glucosa plasmática en ayunas	<100 mg por dl	100–125 mg por dl	≥126 mg por dl
Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTG)	<140 mg por dl*	140–199 mg por dl*	≥200 mg por dl*
Pruebas de glucosa aleatoria.	<140 mg por dl	140–199 mg por dl	≥200 mg por dl

*Nota: Los valores de la PTG corresponde a los niveles de glucosa 2 horas después de haber tomado una solución de 75 g de glucosa anhidrida.

Entre los principales métodos para el tratamiento de la DMT2 encontramos la administración de fármacos como la metformina y la glibenclamida. La metformina representa el principal tratamiento a nivel mundial para controlar la hiperglucemia (IDF, 2017); su mecanismo de acción consiste en la reducción de la producción hepática de glucosa mediante la disminución de la gluconeogénesis hepática, así como el aumento de la captación de glucosa (Cases, 2018). Este fármaco es la única biguanida recomendada actualmente, ya que la fenformina y la buformina tienen un riesgo elevado de provocar acidosis láctica (Arno, Nadal & Cases, 2004). Por otro lado, la glibenclamida es un hipoglucemiante oral de la familia de la sulfonilureas, con propiedades insulinosecretoras que actúa en receptores específicos de la célula β (Sánchez, 2008).

2.2. Complicaciones

La DMT2 desarrolla complicaciones agudas y crónicas causadas por alteraciones metabólicas características de esta patología. La complicación aguda típica es el estado hiperosmolar hiperglucémico (EHH) provocada por hiperglucemia severa, que a su vez genera glucosuria y polidipsia (Morales et al., 2017). En cuanto a complicaciones crónicas, resaltan la disfunción endotelial, la aterotrombosis y aterosclerosis, todas ellas responsables del desarrollo de micro y macroangiopatías (Tabla 2).

El endotelio es una capa mononuclear que recubre la cara interna de los vasos sanguíneos que se encarga de la síntesis de múltiples factores responsables de regular la

vasodilatación, inflamación, proliferación celular y la integridad hemostática. La disfunción endotelial es la complicación crónica más común en la DMT2 y se encuentra directamente relacionada con trastornos en el metabolismo de la glucosa, hiperglucemia crónica, RI, estado inflamatorio crónico y el aumento de especies reactivas de oxígeno (ROS) que aceleran la glicoxidación de proteínas y lípidos (Muntaner et al., 2015).

La hiperglucemia crónica daña el endotelio de los vasos sanguíneos mediante el proceso conocido como aterosclerosis, el cual, produce un estrechamiento de las arterias que posteriormente provocará la reducción de flujo sanguíneo al músculo cardíaco, cerebro y extremidades (OMS, 2017b). El mecanismo fisiopatológico que subyace a las enfermedades cardiovasculares es la aterotrombosis; ésta se caracteriza por el engrosamiento de la pared arterial a consecuencia de la deposición de material lipídico. La aterotrombosis progresa de una manera lenta y silenciosa, su manifestación aguda se relaciona con la ruptura de una placa aterosclerótica, que induce la formación de un trombo que puede obstruir la arteria (Muntaner et al., 2015).

Tabla 2. Complicaciones vasculares en la DMT2.

Microvasculares	Macrovasculares
-Retinopatía	-Angiopatía cardíaca
-Nefropatía	-Angiopatía cerebral
-Neuropatía	-Angiopatía periférica

3. Resistencia Insulina

Se define como RI a una condición en el cual las células de tejidos blanco que usualmente responden a niveles normales de insulina dejan de hacerlo, por lo que requieren mayores concentraciones de la hormona para responder (Reyes & Plancarte, 2008). La disminución de la respuesta a la insulina, produce trastornos en el metabolismo de los lípidos, carbohidratos y proteínas (Pollak, 2016), así como un aumento en la producción de glucosa hepática (Reyes & Plancarte, 2008). La RI se caracteriza por una disminución en la captación de glucosa inducida por la insulina a nivel celular, específicamente en adipocitos y músculo esquelético (Reyes & Plancarte, 2008), como respuesta a este problema el páncreas aumenta la secreción de insulina generando una fase compensatoria que da origen a un estado de hiperinsulinemia (Pollak, 2016).

Se ha registrado que en individuos con RI ocurren dos procesos fundamentales: 1) aumento de la RI de las células diana, y 2) falla de las células β provocado por el prolongado aumento de la secreción de insulina para la compensación de la resistencia de los tejidos blanco a la acción de la insulina (Torre et al., 2011). Es por ello que los pacientes con RI están predispuestos al desarrollo DMT2 y síndrome metabólico (Ríos & Angosto 2015), además de estar asociados con un amplio número de desórdenes de salud como el síndrome de ovario poliquístico (SOP) y la enfermedad de hígado graso no alcohólico (EHGNA) (Pollak, 2016), infecciones crónicas como consecuencia de desajustes del sistema inmunológico (Ruíz-Alvares et al., 2006), hipertensión, obesidad y enfermedades de tipo cardiovascular (Reyes & Plancarte, 2008).

3.1. Mecanismos moleculares de resistencia a la insulina

La insulina es producida y liberada por las células β pancreáticas en respuesta a niveles elevados de glucosa plasmática. Dicha hormona participa en el control de funciones energéticas dentro del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, debido a que, a través de la unión a su receptor, aumenta la captación de glucosa en el miocito y adipocito (Zamora, Chávez & Méndez, 2004). Así mismo, la presencia de insulina estimula otros mecanismos, entre los que encontramos la inhibición de la producción hepática de glucosa, la β -oxidación de ácidos grasos, la glucogenólisis y la proteólisis, así como la estimulación de la glucólisis, gluconeogénesis y síntesis de proteínas (Zamora, Chávez & Méndez, 2004).

En un individuo sano, la insulina se une a su receptor desencadenando una serie de cascadas de señalización que permiten su correcto funcionamiento. Sin embargo, cuando existe un defecto en su señalización, se llega a un estado de RI (Reyes & Plancarte, 2008). En condiciones fisiológicas normales, cuando la insulina interacciona con su receptor y lo activa, se da inicio a **la vía de señalización de la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3K/Akt)** (Figura 1), la cual es el principal mecanismo por el que la insulina realiza sus funciones en el metabolismo de carbohidratos y lípidos (Reyes & Plancarte, 2008).

La unión de dicha hormona con el receptor de insulina (IR) genera un cambio conformacional en dicho receptor que estimula su actividad tirosina cinasa, con la consecuente autofosforilación de los residuos de tirosina (Tyr) del IR (Chávez et al., 2006). Una vez que el receptor está activo se favorece la fosforilación de los residuos de Tyr del sustrato del receptor de insulina (IRS), el cual una vez fosforilado, se transforma en un sitio de unión de proteínas que contienen dominios SH2, como es el caso de **PI3K** (Reyes & Plancarte, 2008). La interacción entre IRS y la subunidad reguladora (p85) del PI3K genera cambios conformacionales que provocan la activación de la subunidad catalítica (p110) de

PI3K (Reyes & Plancarte, 2008). Debido a que la subunidad p110 se encuentra ubicada cerca de la membrana plasmática, ésta tiene acceso a los componentes fosfolipídicos de la membrana como fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato (PIP2), al cual fosforila en la posición 3 del inositol, generando como producto fosfatidilinositol3,4,5- trisfosfato (PIP3). Ambos productos son esenciales como sitio de unión y activación de cinasas de Ser como la cinasa dependiente de fosfoinositidos-1 (PDK1) y la proteína cinasa B (**PKB o Akt**) (Reyes & Plancarte, 2008).

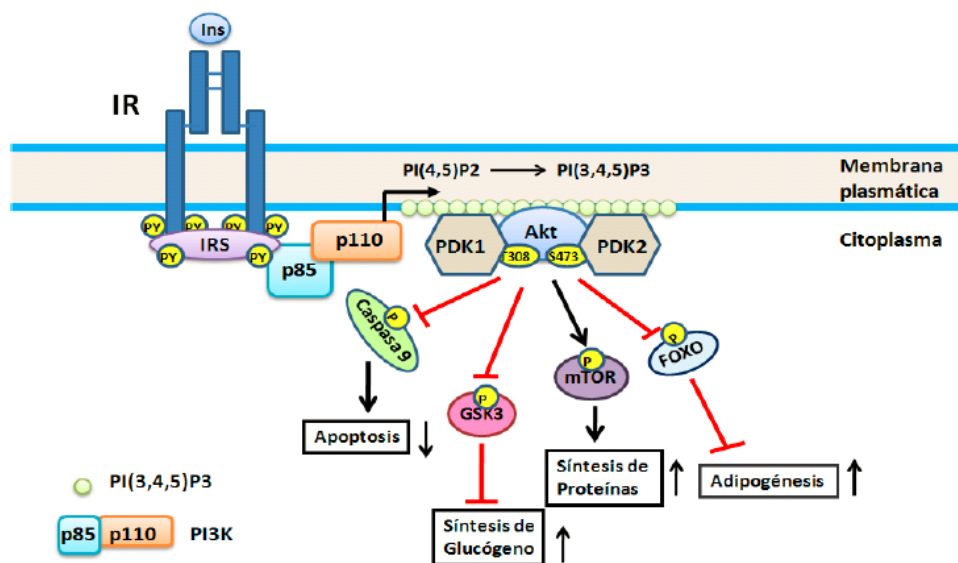


Figura 1. Activación de la vía de la PI3K/Akt por la insulina. Esta vía representa el principal mecanismo por el que la insulina ejerce sus funciones en el metabolismo. El IR activo y autofosforilado, favorece la fosforilación del IRS la cual contiene varios sitios de fosforilación en residuos de Tyr (Y) que al ser fosforilados por el IR, se convierten en sitios de unión y activación de proteínas que contienen dominios SH2 como PI3K. La PI3K consta de una subunidad reguladora (p85) y de una subunidad catalítica (p110). La interacción entre p85/IRS-1 da por resultado la activación de p110 y a consecuencia de ello, p110 tiene acceso a su sustrato PI (4,5) P2, el cual es fosforilado en la posición 3 del inositol, generando PI (3, 4,5) P3, que sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como PDK1 y Akt. El complejo proteico PDK2 activa a Akt, induciendo una primera fosforilación en la Ser473 que es seguida por una fosforilación en la Thr308, esta última inducida por PDK1. Akt regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de regulación o inhibición de diferentes sustratos que son factores clave en las acciones metabólicas de la insulina, como mTor, FOXO, GSK3 y la caspasa 9. (Tomado de Reyes & Plancarte, 2008).

La activación Akt desempeña un papel central en la señalización de la insulina ya que se encarga de la regulación, a partir de la fosforilación, de diferentes sustratos que desempeñan factores clave en las acciones metabólicas de la insulina (Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna & Olivares-Reyes, 2017). Entre ellos encontramos a: 1) la molécula blanco de rapamicina en mamíferos (**mTOR**), que al ser fosforilada promueve la síntesis proteica a través de las vías p70S6K/S6 y 4EBP1/eIF4 en el miocito; 2) el factor de transcripción **FOXO**, que fomenta la adipogénesis a partir de su inhibición en tejido adiposo; 3) la enzima glucógeno sintasa cinasa 3 (**GSK3**), que al ser activada favorece la activación de la glucógeno sintasa y la síntesis de glucógeno en el hepatocito y miocito y 4) la **caspasa 9**, donde su inhibición disminuye la apoptosis (Reyes & Plancarte, 2008).

Así mismo, la activación de Akt participa en la incorporación de glucosa en músculo y tejido adiposo a través de la translocación del transportador de glucosa 4 (GLUT4) a la membrana celular (Sandoval-Muñiz et al., 2016). El transporte de GLUT4 a la membrana plasmática depende de varios mecanismos, entre ellos encontramos su translocación dependiente de la vía activación PI3K / Akt. Durante dicha vía, AS160 (el cual presenta un dominio Rab/GAP), un sustrato de Akt de 160 KDa, participa en la regulación de proteínas G pequeñas Rab (PGRab) que intervienen en el tráfico vesicular de GLUT4 (Reyes & Plancarte, 2008). AS160 al ser fosforilado por Akt, es inhibido, activando la acción de las PGRab para la exocitosis de transportador, causando el incremento del tráfico dependiente de Rab del transportador GLUT4 a la membrana plasmática (Figura 2) (Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna & Olivares-Reyes, 2017).

Cuando existe un estado de RI, la alteración en el transporte de glucosa se debe a que la cascada de señalización de la insulina se ve interrumpida. Los mecanismos por los que se genera la resistencia a la insulina pueden ser múltiples y variar de un individuo a otro. Sin embargo, entre las alteraciones más comunes encontramos cambios en la actividad del IR e IRS, en donde el aumento en la fosforilación en residuos de Serina (Ser)/ Treonina (Thr), en lugar de residuos Tyr, ocasiona una modificación en la vía de señalización (Anaya & Ariza, 2005). En los últimos años, se ha encontrado que la mayor parte de las fosforilaciones residuos Ser/Thr son inhibitorias, esto se debe a que bloquean la transducción de señales de la insulina impidiendo la fosforilación de los residuos de Tyr de los IRS por el IR activado (Meisenberg & Simmons, 2018); como consecuencia también se ve disminuida la actividad de la vía dependiente de PI3K/Akt, lo que genera una deficiente translocación de GLUT4 que a su vez causa una disminución en la captación de glucosa en los tejidos blanco (miocito y adipocito) (Sandoval-Muñiz et al., 2016).

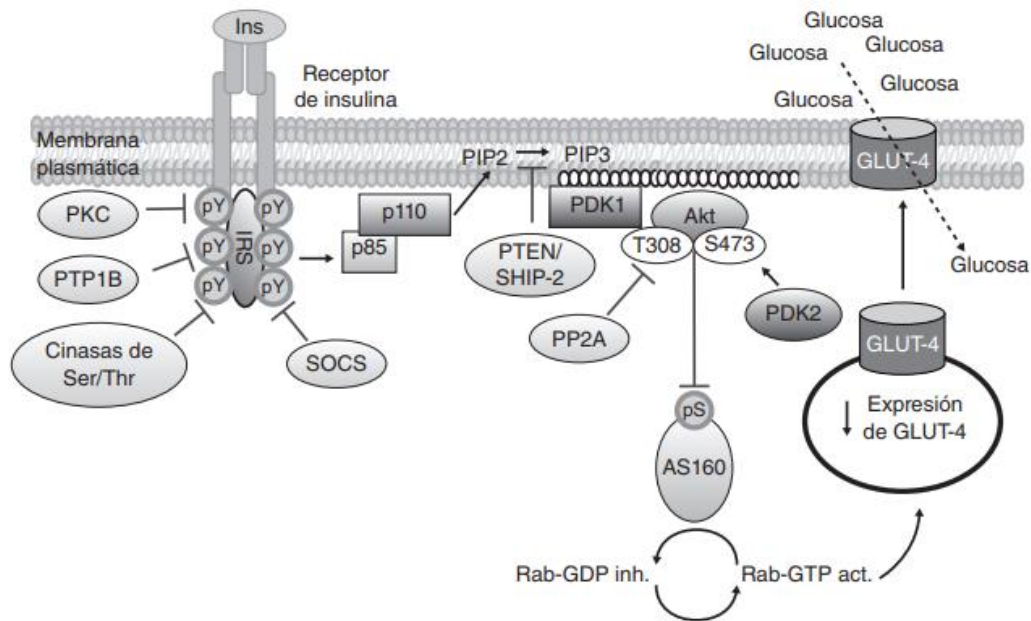


Figura 2. Regulación de las acciones de la insulina: translocación del GLUT4 y RI. A nivel del receptor, se han descrito varios mecanismos de regulación entre los que se incluyen su endocitosis y reciclamiento; la desfosforilación de residuos de Tyr clave que participan en la activación del receptor y en su asociación con proteínas adaptadoras, por acción de la PTP-1B, y la fosforilación del receptor en residuos de Ser/Thr por la PKC y otras cinasas de Ser/Thr que afecta a la actividad enzimática del receptor de insulina. Estos mecanismos alteran la actividad del receptor, desacoplando la formación de complejos proteicos y regulando su número y localización celular. Existen otros puntos de regulación de la señalización de insulina, río abajo de su receptor: a nivel de las proteínas IRS, por la fosforilación de residuos de Ser/Thr y por acción de SOCS; a nivel de Akt, por la acción de la fosfatasa PP2A, y, a nivel de la síntesis de PIP3, por la acción de las fosfatasas de lípidos PTEN y SHIP-2, que antagonizan de manera específica la señalización de PI3K/Akt. (Tomado de Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna & Olivares-Reyes, 2017).

3.2. Métodos para diagnosticar resistencia la insulina

La RI es una condición que se encuentra directamente relacionada con el desarrollo DMT2, es por ello que resulta relevante su detección temprana. Actualmente, existen diversos métodos para la evaluación de la sensibilidad a la insulina que se fundamentan en los valores de insulina y glucosa en ayuno. La importancia de cuantificarla insulinemia y glucemia en ayuno radica en que éstos valores permiten estimar la sensibilidad a la insulina y la captación de glucosa de los tejidos blanco (Carrasco, Ganali & Reyes, 2013). Se ha visto que el hiperinsulinismo en ayuno está estrechamente asociado con

insulinorresistencia e intolerancia a la glucosa; ésto se debe a que la célula β , ante la disminución de la acción de la insulina en los tejidos blanco (adipocito, miocito y hepatocito), entra en un estado de hiperinsulinismo compensatorio que permite aumentar la captación de glucosa en dichos tejidos y regular los niveles de glucosa, dicha acción provocará a largo plazo el deterioro de la célula β (Ballerini et al., 2016).

De acuerdo con Martínez, Maldonado & López (2011), existen diversos métodos para el diagnóstico de la RI, entre lo más comunes encontramos:

El **modelo de evaluación homeostática de resistencia a la insulina (HOMA-IR, por sus siglas en inglés)**, desarrollado por Matthews y colaboradores (1985), es el método más utilizado para determinar RI. Se deriva de la interacción entre la función celular β y la sensibilidad a la insulina; cuando hay una disminución en la secreción de insulina por parte de la célula β , la concentración plasmática de insulina va a ser menor provocando que la concentración de glucosa basal se eleve. Por otro lado, cuando hay RI, la glucemia basal se mantiene en parámetros normales como resultado de un estado de hiperinsulinemia compensatoria (Cuéllar, Sibaja, & Aguirre, 2016). Este modelo es utilizado en pacientes y modelos experimentales en etapas tempranas de RI.

$$HOMA-IR = \frac{[\text{insulina plasmática en ayuno } (\mu\text{U}/\text{ml}) * \text{glucosa plasmática en ayuno } (\text{mmol}/\text{L})]}{22.5}$$

Valores de referencia: Se considera sensibilidad normal a la insulina un valor ≤ 3.0 (Cuéllar, Sibaja, & Aguirre, 2016).

El **índice Matsuda-DeFronzo o índice de sensibilidad a la insulina compuesto (ISI-Compuesto)**, propuesto por Matsuda y De Fronzo (1999), es un índice de sensibilidad a la insulina obtenido a partir de las determinaciones de glucosa e insulina derivadas de una prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTG) (Carrasco, Ganali & Reyes, 2013).

$$ISI\text{-compuesto} = 10,000 \div \sqrt{[(IPA * GPA) * (xGPC * xIPC)}$$

Nota: donde IPA es la insulina plasmática en ayuno en $\mu\text{U}/\text{ml}$, GPA la glucosa plasmática en ayuno en mg/dl , xGPC es el promedio de la concentración de glucosa plasmática en todos los puntos de la curva y xIPC es el promedio de la concentración de insulina plasmática en todos los puntos de la curva.

Valores de referencia: Se considera RI si el valor obtenido ≤ 4.3 (Cuéllar, Sibaja, & Aguirre, 2016).

Clamp hiperinsulinémico y clamp hiperglucémico

El **clamp hiperinsulinémico** es otro método que permite cuantificar la utilización global de glucosa bajo un estímulo de hiperinsulinemia. Es considerado para diagnosticar RI ya que provee la medida más confiable de sensibilidad a la insulina. Por otro lado, el **clamp hiperglucémico** permite medir la respuesta pancreática a la glucosa bajo condiciones de hiperglucemia. En este método se evalúa la secreción bifásica de la insulina *in vivo*, donde una alteración en la primera fase de la secreción de insulina será un reflejo de una patología en la célula β .

Valores de referencia: no se ha reportado un punto de corte para diagnosticar RI con el *clamp*, esto se debe a que es una técnica muy invasiva que hasta el momento sólo es empleada en la investigación.

4. Modelos animales para el estudio de la diabetes mellitus

Debido al acelerado aumento en el número de pacientes diabéticos, es importante la realización de estudios que permitan presentar soluciones y nuevas técnicas de tratamiento; para realizar estos estudios se han implementado modelos animales. Estos modelos representan una herramienta importante para comprender los mecanismos fisiopatológicos que caracterizan la DM (Amaya et al., 2016).

Los modelos de la DMT2 se clasifican de acuerdo al mecanismo de inducción que genera la intolerancia a la glucosa y algunos otros problemas característicos de la enfermedad (hiperglucemia) en: modelos espontáneos, que a su vez se dividen en modelos análogos e intrínsecos; y modelos inducidos (Arias-Díaz & Balibrea, 2007). Los tipos de modelos y su clasificación se puede observar en la Tabla 3.

Los modelos espontáneos surgen de linajes de animales que presentan una o múltiples mutaciones, o por cruces periódicos de animales con hiperglucemia, donde mediante cruces endogámicos se favorece un determinado rasgo de la DMT2 (obesidad, hiperglucemia, hiperfagia, hiperinsulinemia, RI, etc.) (Casado, 2007). Por otro lado, los modelos inducidos son aquellos en los que se pueden reproducir unas o más signos característicos de la DMT2, esto se logra partir de 1) la manipulación genética que afecta directamente a un gen en particular y puede producir su sobreexpresión (ratas/ratones transgénicos), eliminación (ratas/ratones knock-out) o remplazo (ratas/ratones knock-in), 2) la inducción hormonal, a partir de la administración de corticoides, que causa un estado patológico que se asemeje a la DMT2, y 3) la administración de fármacos, como la

STZ o el aloxano, que tienen un efecto tóxico sobre las células β (Monzón, Alberto & Farré, 2012).

Tabla 3. Clasificación de los modelos animales de diabetes mellitus tipo 2 (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

Modelos en DMT2		
Modelos espontáneos	<i>Modelos análogos</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Rata Goto-Kakizaki (GK) - Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO) - Ratón KK - <i>Psammomys obesus</i> (rata israelí de la arena) - Rata OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat)
	<i>Modelos intrínsecos</i>	<ul style="list-style-type: none"> - Ratón db/db - Ratón ob/ob - Ratón Agouti - Rata Zucker (fa/fa)
Modelos inducidos	<ul style="list-style-type: none"> - Inducción hormonal - Administración de fármacos - Manipulación genética 	

Nota: Modelos animales de la DMT2. La tabla muestra la clasificación de los diferentes modelos animales de utilizados para el estudio de la DMT2 de acuerdo al mecanismo de inducción que genera la intolerancia a la glucosa y algunos otros problemas característicos de la enfermedad.

4.1. Modelo de hiperglucemia STZ

Entre los modelos inducidos más utilizados encontramos a las ratas STZ; el modelo STZ consiste en la inducción experimental de hiperglucemia a partir de la administración de (Masiello, 2006). La STZ induce hiperglucemia debido a su acción citotóxica sobre las células β , dicha acción provocará muerte celular debido a la sobreactivación de diversos mecanismos de reparación celular (Masiello et al., 1998).

La STZ es un fármaco que daña específicamente a la célula β debido a la afinidad que presenta por el transportador de glucosa 2 (GLUT2), que se expresa principalmente en las

células pancreáticas (Castrejón, Carbó& Martínez, 2007). Debido a esta especificidad, la STZ entra a la célula β por el transportador GLUT2 y provoca la alquilación del ácido desoxirribonucleico(DNA), la inhibición del ciclo de Krebs y la disfunción mitocondrial (Szkudelski, 2012). El daño del DNA produce la activación y sobre estimulación de la enzima Poli (ADP-Ribosa) polimerasa (PARP-1) (Figura 4), la cual participa en la reparación del DNA (Ko & Rhen, 2012). La sobre estimulación de PARP-1 provocará la disminución de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD⁺) y adenosín trifosfato (ATP) celular que llevarán a la célula a un estado de desgaste energético ocasionando que las células β entren en apoptosis (Szkudelski, 2012).

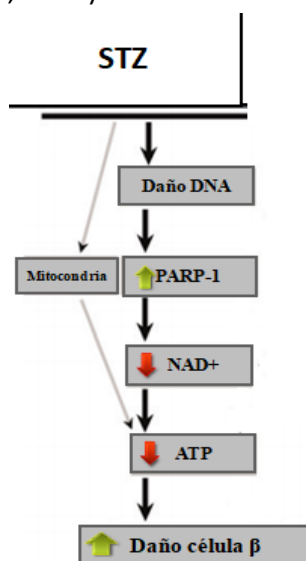


Figura 4. Esquema de la acción citotóxica de la STZ en la célula β . La STZ entra a la célula β provocando la alquilación del DNA, este daño induce la activación y sobreestimulación de la enzima Poli (ADP-Ribosa) polimerasa (PARP-1). La sobre estimulación PARP-1 ocasiona una disminución de la concentración de NAD⁺ y ATP, lo que produce un desgaste energético que llevará a la apoptosis de la célula β . (Adaptada de Szkudelski, 2012).

La reducción del número de células β en los islotes pancreáticos provocará un estado de hiperinsulinemia compensatorio que a largo plazo producirá una falla en la secreción de insulina desencadenando un estado de hiperglucemia crónica (Bequer et al., 2014). Se ha observado que la administración de STZ en edad adulta provoca la destrucción total del páncreas endocrino e hiperglucemia severa, mientras que en el período neonatal provoca hiperglucemia moderada debido a la regeneración parcial de células β (Bequer et al., 2014). Se ha visto que en los modelos de ratas neonatales STZ ocurre una disminución en la secreción de insulina. Sin embargo, ésta no es suficiente para secretar la insulina requerida por el animal en la edad adulta (Bequer et al., 2014).

4.2.1. Administración crónica de fructosa en el desarrollo de modelos de resistencia a la insulina

A pesar de que el modelo STZ presenta algunos de los signos característicos de la DMT2, éste no desarrolla RI (Masiello, 2006). Por ello, es necesario implementar un modelo hiperglucémico que también tenga RI, esto con el fin de tener mayor similitud con dicha patología. Existen diversos modelos que promueven el desarrollo de RI, entre ellos encontramos los modelos de administración crónica de fructosa. Se ha mostrado que el consumo de fructosa a largo plazo se asocia a diversas alteraciones metabólicas como RI, hígado graso, DMT2, etc. (Riveros et al., 2014).

Entre algunos de éstos encontramos el modelo de inducción de DMT2 de Dupas y colaboradores (2016), en el que se caracterizaron los efectos a corto y mediano plazo de la exposición con fructosa en ratas Wistar. Para el estudio se utilizaron 32 ratas (machos) de 3 semanas, de las cuales 16 tuvieron como tratamiento el consumo de una bebida enriquecida con fructosa durante 15 semanas (20% P/V durante las primeras 9 semanas y 25% P/V entre las 10 y 15 semanas). A partir de las 6 semanas se pueden observar signos de síndrome metabólico, como hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y disminución en la sensibilidad a la insulina; mientras que a las 12 semanas las ratas son francamente resistentes a la insulina (Dupas et al., 2016).

Otro modelo representativo es el de Chin-Hui Su y colaboradores (2009), en el que se indujo un modelo similar a DMT2 con la finalidad de mostrar RI. Para su desarrollo se utilizaron ratas Wistar (machos) de 6 semanas, las cuales fueron alimentadas durante dos semanas con dieta normal y posteriormente durante cuatro semanas con una dieta de fructosa al 60%. Se observó una disminución en la acción de insulina después de las ocho semanas (Chao et al., 20018).

Finalmente, el modelo de síndrome metabólico de Renna y colaboradores (2007), en el que a partir de ratas espontáneamente hipertensas y la administración crónica de una dieta una rica en carbohidratos (fructosa) obtuvieron un modelo experimental útil para el diagnóstico de los factores que configuran el síndrome metabólico. En este modelo utilizaron ratas Wistar Kyoto (machos) espontáneamente hipertensas de 30 días, que fueron sometidas a un tratamiento de administración crónica de fructosa al 10% P/V durante un período de 10 semanas. Al finalizar el periodo experimental el grupo de interés presentó valores de HOMA y PTG característicos de RI. Así mismo, mostraron elevación en los niveles de triglicéridos, disminución del colesterol HDL y aumentó de presión arterial sistólica (Renna et al., 2007).

De acuerdo a estos antecedentes, existen múltiples modelos de administración crónica de fructosa que contribuyen al desarrollo de RI, sin embargo, el tiempo de desarrollo es muy prolongado, siendo ocho semanas el periodo mínimo para ver resultados, lo que representa una gran desventaja en cuanto a costos (mantenimiento) y seguimiento del experimento.

4.2.2. Consumo de fructosa y efectos deletéreos sobre la salud

La fructosa es un monosacárido que podemos encontrar de forma natural en frutas y miel, y de forma añadida en alimentos o bebidas procesadas como bebidas carbonatadas, néctares, cereales, mermeladas, jugos, etc. (Riveros et al., 2014). En las últimas décadas, el consumo de fructosa ha aumentado considerablemente debido a que ésta, especialmente en la forma de "jarabe de maíz alto en fructosa", ha remplazado a la sacarosa en muchos alimentos y bebidas por su propiedad edulcorante, su bajo costo, y por la producción limitada de insulina que ésta produce debido a su bajo índice glucémico (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007). No obstante, investigaciones recientes han demostrado que la ingesta crónica de grandes cantidades de fructosa estimula procesos de lipogénesis y acumulación de triglicéridos, que contribuyen a disminuir la sensibilidad a la insulina (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007). Esto, aunado al acelerado aumento del consumo de bebidas carbonatas y alimentos procesados en países desarrollados y en vías de desarrollo, implica una continua exposición de fructosa que se ha asociado a efectos deletéreos en la salud como el desarrollo de RI, EHGNA, DMT2, obesidad y enfermedades cardiovasculares (Riveros et al., 2014).

En las últimas décadas, se ha observado que los factores dietéticos presentan un fuerte vínculo con el desarrollo de la DMT2 y RI. El consumo elevado de alimentos poco saludables, principalmente bebidas azucaradas adicionadas con fructosa, se encuentra directamente asociado al desarrollo de sobrepeso y obesidad. Así mismo, las personas con sobrepeso y obesidad poseen mayores riesgos de padecer enfermedades como hipertensión, síndrome metabólico, hepatopatías, intolerancia a la glucosa y DM (IDF, 2017). Como se mencionó anteriormente, existe un aumento en el consumo de bebidas azucaradas en diferentes países; siendo México el primer consumidor de refrescos a nivel mundial con 163 litros por persona al año (OPS, 2017). En México, de acuerdo con el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), el consumo de azúcares añadidos se encuentra por encima de los parámetros sugeridos por la OMS (INSP, 2017). La OMS recomienda que el consumo de éstos represente menos del 10% de aporte calórico total, esto se debe a que un consumo mayor produce efectos negativos sobre la salud (OMS, 2016c). En el 2017, de acuerdo con estimaciones presentadas por el director del Centro de

Investigación en Nutrición y Salud del INSP, entre el 66% y 91% de la población obtiene más del 10% del total de las calorías que ingiere a través de azúcares añadidos, siendo las bebidas azucaradas las que aportan el 70% de estos azúcares (46% de los refrescos carbonatados, 12% de las bebidas azucaradas no carbonatadas y 12% de las leches con azúcar) (INPS, 2017).

4 .2.3. Efectos metabólicos de la fructosa y RI

De forma específica, la fructosa es absorbida en el intestino y transportada por el epitelio intestinal hacia el hígado por el transportador de glucosa 5 (GLUT5). A diferencia de la glucosa, la fructosa no es regulada por la fosfofructocinasa (Figura 5A); esta enzima es un punto de regulación de la glucólisis que cataliza la conversión de fructosa-6-fosfato (F6P) a fructosa-1,6-bisfosfato (F1,6BisP). Este paso es uno de los puntos reguladores de la glucólisis (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007). Debido a que la fructosa se salta ese proceso regulatorio puede entrar continuamente a la glucólisis y desregular los procesos metabólicos (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007). Así mismo, el alto flujo de fructosa al hígado provoca un aumento en la lipogénesis *de novo* y síntesis de triglicéridos desencadenar un estado de hipertrigliceridemia crónico, correlacionado directamente con el desarrollo de RI. La RI por hipertrigliceridemia se generará partir del aumento de AGL, responsables de inducir fallas en la sensibilidad de la insulina por la inhibición del transporte de glucosa en el músculo y tejido adiposo (Figura 5B) (Zamora, Chávez & Méndez, 2004).

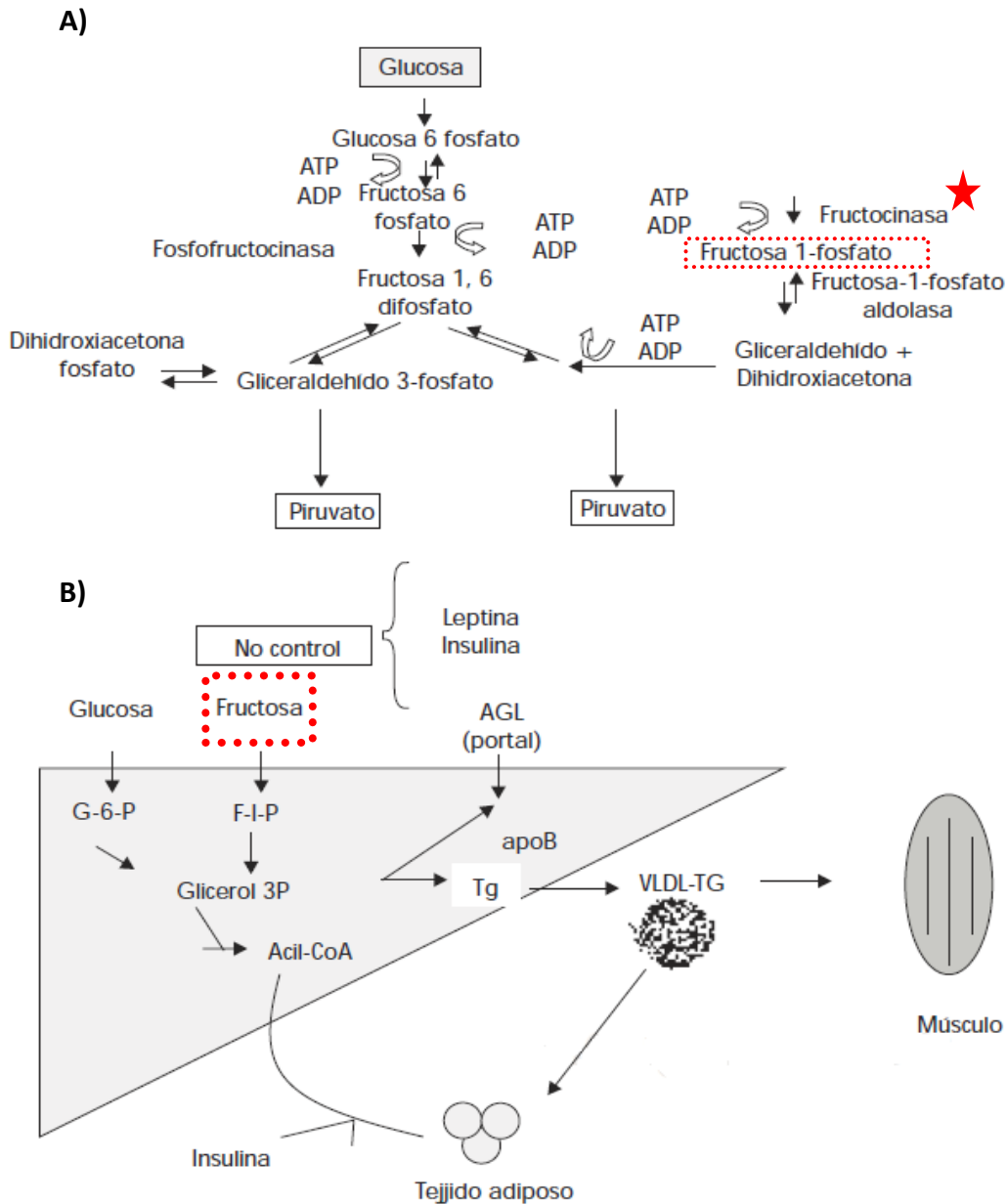


Figura 5. Metabolismo de glucosa y fructosa. A) Entrada de la fructosa en la glucólisis: entrada de la fructosa en la parte distal de la glucólisis, posterior al sitio de regulación de la fosfofructocinasa. **B)** Metabolismo hepático: la fructosa provee de carbonos a los grupos glicerol y acil para la formación de triglicéridos. La acumulación intramiocelular y hepática de lípidos reduce la sensibilidad a la insulina. No existe estimulación de la leptina ni de la insulina para regular la ingesta energética. G-6-P, glucos-6-fosfato; F-1-P, fructosa-1-fosfato; AGL, ácidos grasos libres; Tg, triglicéridos; VLDL, lipoproteínas de muy baja densidad. (Adaptado de Pérez et al. (2007).

Justificación

Dado el incremento en la prevalencia de la DMT2 a nivel mundial, el rápido desarrollo de modelos animales para su tratamiento se ha vuelto uno de los principales objetivos en la investigación básica. En los últimos años se ha observado que el consumo crónico de dietas ricas en carbohidratos, específicamente de fructosa, se encuentran asociados con desarrollo de RI y DMT2. Estos antecedentes nos alientan a estandarizar un modelo experimental de DMT2 mediante la administración crónica de un jarabe de maíz con alto contenido de fructosa en ratas STZ que genere hiperglucemia crónica y falla en la secreción de insulina. Así mismo se tiene la finalidad de que el modelo se obtenga en un periodo de tiempo corto, sea económico, de fácil seguimiento, y que responda al tratamiento farmacológico, metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), con el propósito de probar nuevas moléculas con potencial efecto hipoglucemiante.

Objetivos

General

- Estandarizar un modelo animal con RI a partir de la administración crónica de jarabe alto en fructosa en ratas Wistar STZ y evaluar si el modelo responde a fármacos hipoglucemiantes.

Particulares

- Evaluar si el consumo crónico de jarabe alto en fructosa modifica los valores de glucosa, colesterol, triglicéridos y peso en ratas Wistar STZ a lo largo 42 días.
- Determinar si el consumo crónico de jarabe alto en fructosa modifica las PTG en ratas Wistar STZ al finalizar el periodo experimental de 42 días.
- Cuantificar el HOMA-IR al inicio y al final del periodo experimental para determinar si la administración crónica de jarabe indujo RI en ratas Wistar STZ.
- Examinar si el consumo crónico de jarabe alto en fructosa modifica la ingesta calórica a lo largo del experimento.
- Determinar el consumo de jarabe y alimento y relacionar la cantidad de calorías consumidas con el peso y la generación de RI.

- Evaluar si el modelo responde a la administración de fármacos, metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), modificando los niveles de glucosa, triglicéridos y la ingesta calórica total.
- **Hipótesis**

La administración crónica de jarabe alto en fructosa en ratas Wistar STZ:

- Aumentará los niveles de glucosa (hiperglucemia crónica), triglicéridos y el peso en ratas Wistar STZ a lo largo 42 días.
- Aumentará el pico hiperglucémico y el área bajo la curva en las PTG de ratas Wistar STZ al finalizar el periodo experimental.
- Los valores del HOMA-IR al inicio del periodo experimental serán normales, mientras que los finales mostrarán RI respecto al grupo control.
- Aumentará la ingesta calórica total a lo largo del experimento.
- El consumo del jarabe aumentará respecto a su grupo control provocando una disminución en el consumo de alimento. El aumento en el consumo de jarabe provocará un aumento de peso asociado al desarrollo de RI.
- El modelo responderá a la administración de los fármacos, metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), disminuyendo los niveles de glucosa, triglicéridos y la ingesta calórica (consumo de alimento y jarabe).

Metodología

1. Estandarización de RI

1.1. Animales experimentales

Los animales utilizados para el desarrollo de este proyecto fueron proporcionados por el bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM. Se usaron ratas machos y hembras de la cepa Wistar de 21 días de edad con un peso aproximado de 40 g. Todos los individuos se mantuvieron con fotoperiodos de 12h luz y 12h oscuridad con libre acceso a agua/jarabe (Tabla 4.1.1) y alimento 5001 Rodent Laboratory Chow de Purina (Tabla 4.2). Durante los 42 días del experimento se registró el consumo de agua/jarabe, alimento y el peso de los animales experimentales. Para pesar el alimento se utilizó la báscula de cocina T-fal Optiss, mientras que para medir el agua/jarabe se usaron probetas de 100 ml.

Tabla 4.1.1 Información nutrimental jarabe natural madreleña.

Nutrientes	
Porción: 25 ml	
Contenido energético:	
82.8 Kcal	
Proteínas	0.00g
Grasas (lípidos)	0.00g
Grasa saturada	0.00g
Carbohidratos (hidratos de carbono)	20.70g
Azúcares	20.70g
Fibra dietética	0.00g
Sodio	0.40g

Tabla 4.2 Información nutrimental alimento 5001 Rodent Laboratory Chow de Purina.

Contenido energético : 4.09 Kcal/g	
Nutrientes	Porcentaje (%)
Proteína	24.1
Grasas (extractos de éter)	5
Grasa (hidrólisis ácida)	6.4
Fibra	5.2
Minerales	6.9
Extractos libres de nitrógeno	48.7

1.2.1. Grupos experimentales

Para estandarizar el modelo animal se utilizaron ratas normoglucémicas e hiperglucémicas, que fueron divididas en 4 grupos experimentales de 6 organismos cada uno; a cada grupo se le asignó un tratamiento particular (Tabla 5).

Tabla 5. Grupos experimentales asignados para la estandarización del modelo animal con RI en ratas Wistar STZ.

Grupo experimental	Tratamiento	Administración
Control normoglucémico (N)	Solución fisiológica	p.o.
	Agua	bebedero
Control hiperglucémico (H)	Solución fisiológica	p.o.
	Agua	bebedero
Grupo hiperglucémico + jarabe (HJ)	Solución fisiológica	p.o.
	Jarabe madreleña 10%	bebedero
Control hiperglucémico + jarabe + fármaco (HJF)	Metformina-Glibenclamida (500 mg/kg y 5 mg/kg)	p.o.
	Jarabe madreleña 10%	bebedero

Nota: Tratamientos. El grupo control normoglucémico (N) tuvo libre acceso a agua y se le administró 1.5 ml de solución fisiológica p.o. dos veces al día por 42 días. El grupo control hiperglucémico (H) tuvo libre acceso a agua y se le administró 1.5 ml de solución fisiológica p.o. dos veces al día por 42 días. El grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) tuvo libre acceso a jarabe y se le administró 1.5 ml de solución fisiológica p.o. dos veces al día por 42 días. El grupo hiperglucémico + jarabe + fármaco (HJF) tuvo libre acceso a jarabe y se le administró metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg)- glibenclamida (500 mg/kg y 5 mg/kg) p.o. dos veces al día por 42 días.

1.2.2. Inducción de hiperglucemia

Para la inducción de hiperglucemia se utilizó STZ, que presenta una acción citotóxica sobre las células β del páncreas. La STZ fue disuelta en un buffer de acetatos 0.1 M a un pH de 4.5 (acetato de sodio y ácido acético). La inducción consistió en inyectar el fármaco en la vena caudal de los animales con un ayuno de 12 horas. La dosis utilizada fue de 65 mg/kg. Se seleccionaron para el estudio animales con una glucemia alrededor de 200 mg/dl transcurridas dos semanas de la inducción.

1.2.3. Jarabe

Para la preparación del jarabe al 10% se utilizó jarabe natural madrileña (Tabla 4.1.1) y agua en una proporción de 1:10, respectivamente, la tabla 4.1.2 indica el contenido energético en 1L de la bebida preparada. Adicionalmente, la figura 5 muestra el perfil del jarabe madrileña utilizado para la estandarización del modelo. De acuerdo con el cromatograma, los carbohidratos que conforman al jarabe son fructosa y glucosa, siendo la fructosa la que se encuentra en mayor proporción.

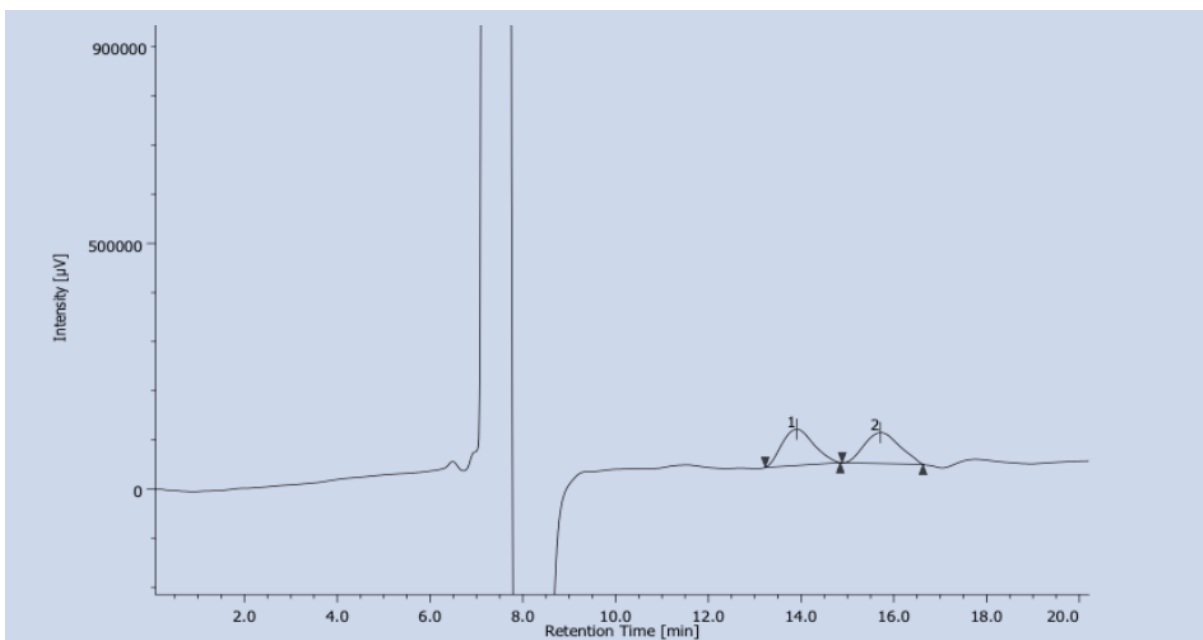
Tabla 4.1.2 Información nutrimental jarabe madrileña diluido al 10 %

Nutrientes	
Porción: 1000 ml	
Contenido energético: 331.2 Kcal	
Proteínas	0.00g
Grasas (lípidos)	0.00g
Grasa saturada	0.00g
Carbohidratos	82.80g
Azúcares	82.80g

1.2.4. Tratamiento Farmacológico

Durante los 42 días del experimento se administró 1.5 ml de solución fisiológica o metformina-glibenclamida (Aurax; 500 mg/kg y 5 mg/kg), dos veces al día (9:00 am y 5:00 pm) utilizando una cánula esofágica.

A) Estándares de fructosa Rt 13.9 y glucosa Rt 15.7



B) Jarabe Madrileña

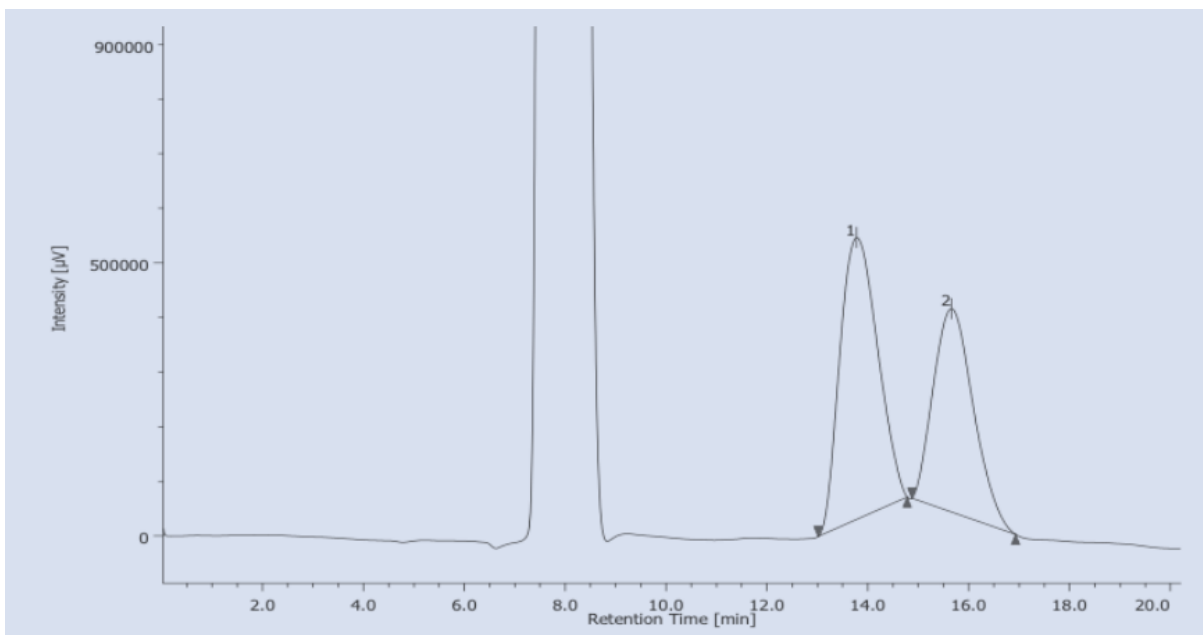


Figura 5. Cromatogramas resultantes del análisis de **A)** estándares de fructosa Rt 13.9 y glucosa Rt 15.7 y **B)** jarabe madrileña mediante un sistema de HPLC. Identificación de picos: 1: fructosa y 2: glucosa.

2. Evaluación del modelo

2.1. Medición de parámetros

Se realizaron las primeras mediciones de glucosa, colesterol y triglicéridos cuando las ratas cumplieron 35 días de edad nacidas debido a que se dejó transcurrir un periodo de dos semanas en el cual los organismos se alimentaron y bebieron agua ad libitum, con la finalidad de que los niveles de triglicéridos disminuyeran y se estabilizaran después del destete y/o de la inducción de hiperglucemia.

El periodo experimental inició cuando las ratas cumplieron 35 días de edad. La medición de glucosa se realizó por duplicado cada 7 días, durante 42 días. La medición de colesterol y triglicéridos se realizó por duplicado cada dos semanas, durante el periodo experimental. Para la medición, se extrajo una gota de sangre de la cola de la rata, la cual fue obtenida después de realizar un corte en la punta de la misma. La sangre fue analizada con el glucómetro y tiras reactivas para glucosa Accu-chek Active, mientras que, para analizar colesterol y triglicéridos, se utilizó el glucómetro y tiras reactivas Accutrend® Plus.

2.2. Extracción de suero

Después de un ayuno de 12 horas se obtuvieron muestras de sangre de 2 ml con ayuda de un tubo capilar. Los tubos se etiquetaron con el número de muestra y el sexo del individuo, y se centrifugaron a 12000 rpm durante 10 min en la centrifuga SCIOGEX D2012 Plus a 10,464.48 g's. Posteriormente, se colocaron aproximadamente 50 µL del sobrenadante (suero) en tubos para PCR previamente etiquetados (número de muestra y sexo). Al finalizar, se ultracongelaron a -40°C para posteriormente cuantificar la insulina por medio de la técnica de ELISA. Este procedimiento se llevó a cabo en los T0 y T42 del periodo experimental.

2.3. Pruebas de tolerancia a la glucosa oral ("PTG")

Al finalizar los 42 días del periodo experimental, se sometieron a los organismos a un ayuno de 12 horas. Se extrajo sangre de la vena caudal de las ratas Wistar para registrar los niveles de glucosa plasmática. Los valores de glucosa fueron medidos por duplicado con tiras reactivas para glucosa en el glucómetro Accu-chekActive. A continuación, se administró una carga de glucosa (2g/Kg) vía oral, mediante una cánula esofágica. Después de la carga de glucosa se midió la glucosa sanguínea cada 30 minutos durante 2 horas

2.4. Determinación de resistencia a la insulina

La valoración de RI se llevó a cabo mediante la determinación de los valores de HOMA-IR al inicio y al final del experimento. Este índice nos permite relacionar la concentración de insulina en ayuno secretada para mantener en homeostasis los niveles de glucosa plasmática en ayuno.

$$\text{HOMA-IR} = \frac{[\text{insulina plasmática en ayuno } (\mu\text{U}/\text{ml}) * \text{glucosa plasmática en ayuno } (\text{mmol}/\text{L})]}{22.5}$$

En el diagrama 1 se puede observar de forma más clara y cronológica la evaluación de los diferentes parámetros del modelo durante todo el periodo experimental. Así como la edad de los animales durante cada etapa de la estandarización del modelo.

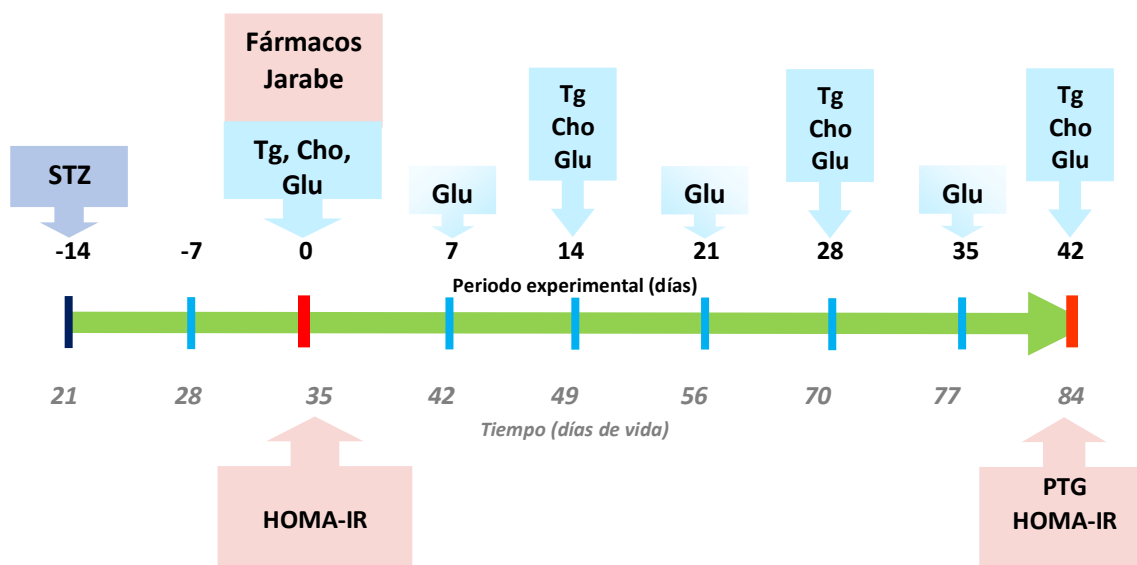


Diagrama 1. Diseño experimental. Para la inducción de hiperglucemia se utilizó STZ en ratas machos y hembras de la cepa Wistar de 21 días de edad. Posteriormente, se dejó transcurrir un periodo de dos semanas con la finalidad de que los niveles de triglicéridos se estabilizaran después del destete y/o de la inducción de hiperglucemia. Las primeras mediciones de glucosa (Glu), colesterol (Cho) y triglicéridos (Tg) se hicieron cuando las ratas cumplieron 35 días de edad. La medición de glucosa se realizó por duplicado cada 7 días, durante 42 días. La medición de colesterol y triglicéridos se realizó por duplicado cada dos semanas, durante el periodo experimental. La administración de jarabe y de fármacos, metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), inicio en el tiempo 0 y terminó el tiempo 42 del periodo experimental. La valoración de RI se llevó a cabo mediante la determinación de los valores de HOMA-IR al inicio y al final del experimento. Las PTG se realizaron al finalizar el periodo experimental.

3. Análisis de datos

Tanto los datos obtenidos en las PTG, así como los datos de glucosa, colesterol, triglicéridos, consumo de líquidos y alimentos fueron analizados por medio de un ANOVA con pruebas post-hoc de Tukey, tomando un valor de significancia de $p \leq 0.05$. Los valores de HOMA-IR se calcularon utilizando el software HOMA 2 Calculator de la Universidad de Oxford (<https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>). Las pruebas estadísticas y las gráficas fueron realizadas en el programa GraphPadPrism 7.00.

Resultados

1. Peso

La tabla 5 muestra el aumento de peso de los diferentes grupos durante el periodo experimental. No se registraron diferencias entre tratamientos, pero si contra el T0 en algunos grupos. El grupo control normoglucémico (N) mostró aumento significativo de peso vs. su T0 en los T28, T35 y T42. El grupo control hiperglucémico (H) tuvo un incremento significativo en los T35 Y T42 vs. T0; sin embargo, se puede ver en la figura 6 que este incremento fue el menor entre todos los grupos.

Por otro lado, en el grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) no se observaron fluctuaciones significativas en el aumento; sin embargo, se puede ver en la figura 6 que el aumento de este grupo presenta una tendencia a ser mayor que al del grupo H y es muy parecido al aumento del grupo control hiperglucémico + jarabe + fármaco (HJF). El grupo HJF desde el T14 hasta el T42 tuvo un aumento significativo vs. su T0; a pesar de ello, se puede observar en la tabla 5 que el incremento fue menor vs. grupo N.

En la figura 6, se puede observar de formas más clara una tendencia constante en aumento de peso de todos los grupos experimentales. No obstante, no se registraron diferencias significativas del aumento entre tratamientos.

Tabla 5

Peso promedio observado a lo largo del periodo experimental

Grupo (N =6)	Peso (g)						
	T0	T07	T14	T21	T28	T35	T42
N	106 ± 10	146 ± 16	174 ± 21	218 ± 28	232 ± 30*	252 ± 32*	275 ± 36*
H	98 ± 10	121 ± 11	139 ± 16	157 ± 20	171 ± 18	179 ± 20*	183 ± 20*
HJ	104 ± 6	141 ± 14	165 ± 23	180 ± 31	198 ± 32	218 ± 37	229 ± 43
HJF	116 ± 1	140 ± 6	170 ± 9*	194 ± 10*	210 ± 8*	199 ± 16*	233 ± 6*

Nota: Media de peso (g) ± SEM. * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, control hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe + fármaco.

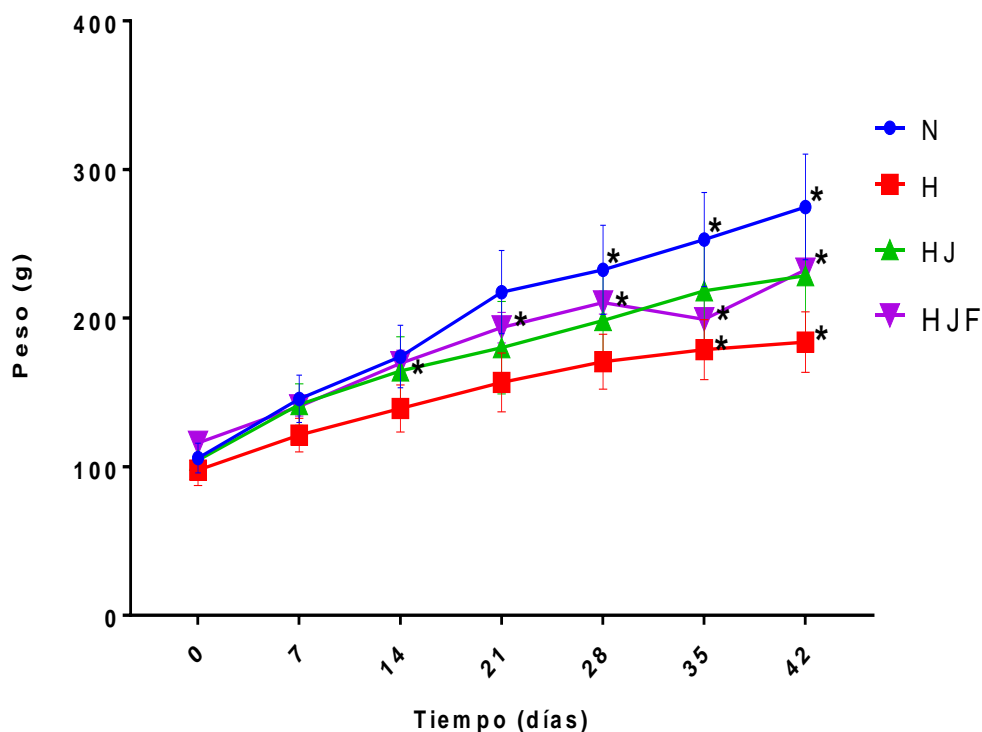


Fig. 6. Peso de los grupos durante el periodo experimental. Media de consumo de alimento en cada grupo (g) \pm SEM. * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo. N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

2. Consumo de alimento

La tabla 6 contiene el consumo de alimento de los diferentes grupos a lo largo del periodo experimental. En el grupo N, no se observaron cambios en el consumo. El grupo H aumentó su consumo de alimento considerablemente en el T42 vs. su T0, y el T42 vs. grupo N. Dicho comportamiento parece estar relacionado con el trastorno del metabolismo de los carbohidratos ocasionado por la falla en la secreción de la insulina del modelo STZ. Así mismo, en la figura 7 se puede observar una tendencia mayor de consumo vs. los demás grupos.

En el grupo HJ se registró una disminución significativa de consumo en su T28, T35 y T42 vs. grupo N y desde el T14 hasta al T42 vs. grupo H. Dicha disminución se debe al consumo en conjunto con el jarabe.

En el grupo HJF no hubo modificaciones significativas en el consumo de alimento a lo largo del periodo experimental ni vs. el grupo HJ; sin embargo, en la tabla 6 se puede observar que el consumo tiende a ser menor vs. grupo HJ a partir del T28. En la figura 7, se muestra la conducta del consumo de alimento de cada grupo en cada semana.

Tabla 6.

Consumo promedio de alimento a lo largo del periodo experimental

Grupo (N =6)	Alimento (g)/ Semana					
	T07	T14	T21	T28	T35	T42
<i>N</i>	22 ± 0	22 ± 2	21 ± 1	22 ± 1	24 ± 1	24 ± 1
<i>H</i>	26 ± 2	27 ± 2	27 ± 2 ^a	27 ± 1 ^a	30 ± 1 ^a	35 ± 2 ^{a*}
<i>HJ</i>	20 ± 0	19 ± 1 ^b	19 ± 1 ^b	18 ± 0 ^{ab}	19 ± 1 ^{ab}	18 ± 1 ^{ab}
<i>HJF</i>	18 ± 1	18 ± 1	19 ± 1	16 ± 1 ^a	16 ± 1 ^a	15 ± 1 ^a

Nota: Media de alimento (g) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N) ($p < 0.05$). b indica diferencia significativa vs. control hiperglucémico (H). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

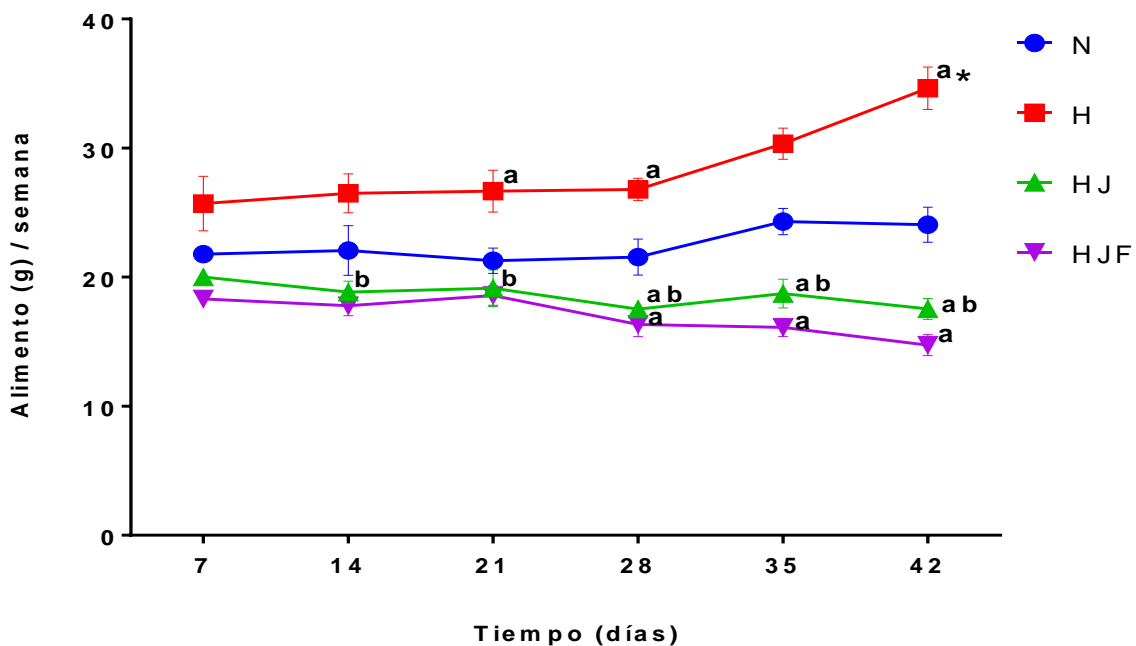


Fig. 7. Consumo de alimento de los grupos durante el periodo experimental. Media de consumo de alimento en cada grupo (gr) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencia significativa vs. (H), control hiperglucémico. N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

3. Consumo de agua/jarabe

La tabla 7 muestra el consumo de agua/ jarabe de los diferentes grupos experimentales. Se puede ver que el grupo N no mostró modificaciones en el consumo de agua durante el periodo experimental y presentó el menor consumo de líquido de los grupos. Dentro del grupo H se registró un aumento significativo en el consumo de agua desde el T28 hasta el T42 vs. su T0, así como desde T0 hasta el T42 vs. el grupo N. Dicho aumento se atribuye al estado poliuria y polidipsia ocasionado por la hiperglucemia crónica propia del modelo STZ.

En el grupo HJ, se observa un aumento significativo en el consumo de jarabe en el T21, T28, T35 y T42 vs. su T0; en el T14, T21, T28, T35 y T42 vs. grupo H; y de líquido desde T0 hasta T42 vs. grupo N. En la figura 8 se puede ver cómo este grupo tiene una tendencia mayor de consumo de líquido vs. los otros grupos. El aumento se atribuye a los mismos factores del tratamiento anterior (H), y se complementa con las propiedades edulcorantes de la bebida que estimulan un mayor consumo, así como su aporte en la ingesta calórica.

En el grupo HJF, no se observan cambios significativos en el aumento de consumo de jarabe a lo largo del periodo experimental. No obstante, en la tabla 7 se observa un aumento significativo del consumo de líquido desde el T0 hasta el T42 vs. el grupo N y una disminución significativa en el T21, T28, T35, T 42 vs. el grupo HJ. La disminución de consumo de HFJ está directamente relacionada con la administración de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg) y su efecto hipoglucemiante. En la figura 8 se puede ver el patrón de consumo de agua/jarabe de cada grupo durante cada semana.

Tabla 7.

Consumo promedio de agua/ jarabe a lo largo del periodo experimental

Grupo (N =6)	Agua/Jarabe (ml) / Semana					
	T07	T14	T21	T28	T35	T42
N (Agua)	45 ± 2	42 ± 3	52 ± 3	50 ± 1	50 ± 2	47 ± 4
H (Agua)	85 ± 8 ^a	116 ± 10 ^a	134 ± 16 ^a	178 ± 8 ^{a*}	188 ± 4 ^{a*}	191 ± 3 ^{a*}
HJ (Jarabe 10%)	112 ± 19 ^a	180 ± 26 ^{ab}	214 ± 23 ^{ab*}	269 ± 16 ^{ab*}	279 ± 10 ^{ab*}	307 ± 25 ^{ab*}
HJF (Jarabe 10%)	123 ± 21 ^a	123 ± 8 ^a	137 ± 14 ^{ac}	148 ± 15 ^{ac}	142 ± 16 ^{ac}	149 ± 6 ^{ac}

Nota: Media de agua o jarabe (ml) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N) ($p < 0.05$). b indica diferencia significativa vs. control hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) ($p < 0.05$) * indican diferencias significativas contra el T07 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

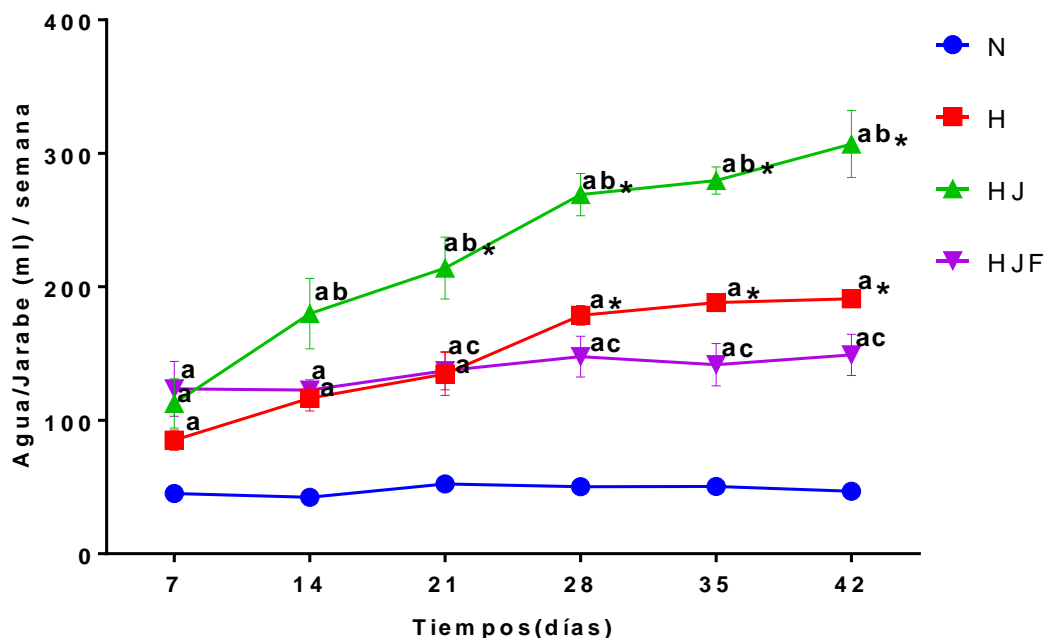


Fig. 8. Consumo de agua/jarabe de los grupos durante el periodo experimental. A) Media de consumo de líquido en cada grupo (ml) \pm SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencia significativa vs. control hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) ($p < 0.05$). * indican diferencias significativas contra el T07 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

4. Ingesta calórica

La tabla 8 muestra la ingesta calórica de los diferentes grupos durante el periodo experimental. Se registraron diferencias entre tratamientos y vs. el T0 en algunos grupos. El grupo N no mostró un aumento significativo en su ingesta vs. su T0. El grupo H tuvo un incremento significativo en su ingesta calórica en T42 vs. T0, y desde T21 hasta el T42 vs. su grupo control (N). Esto se puede deber a la polifagia asociada con el trastorno del metabolismo de los carbohidratos ocasionado por el modelo STZ.

Por otro lado, se puede ver en la figura 9 que el grupo HJ tuvo un incremento significativo en la ingesta total desde el T28 hasta el T42 vs. su T0, en el T21 al T42 vs. el grupo H y del T0 hasta el T42 vs. grupo N. Así mismo se puede observar una disminución en la ingesta calórica del alimento desde el T0 hasta el T42 vs. grupo H y del T28 al T42 vs. grupo N. Adicionalmente, en la figura 9 se puede observar que este grupo tuvo una mayor

tendencia de aumento de ingesta que en cualquier otro grupo. Dicho comportamiento se relaciona con el consumo de jarabe y con la posible polifagia producida por el modelo STZ.

Finalmente, en la tabla 8 se puede observar que el grupo HJF tuvo una disminución en la ingesta calórica desde el T21 hasta el T42 vs. el grupo HJ, y un aumento en su ingesta desde el T21 hasta el T42 vs. grupo N. La disminución de la ingesta vs. el grupo HJ se puede deber a la administración de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg); mientras que el aumento vs. el grupo N se debe al consumo de jarabe.

Tabla 8.

Ingesta calórica a lo largo del periodo experimental

Grupo (N=6)	Ingesta Calórica	Consumo de energía (Kcal) / semana					
		T07	T14	T21	T28	T35	T42
N	Alimento	89 ± 2	90 ± 8	86 ± 4	88 ± 6	99 ± 4	98 ± 5
	Total	89 ± 2	90 ± 8	86 ± 4	88 ± 6	99 ± 4	98 ± 5
H	Alimento	105 ± 9	108 ± 6	109 ± 7 ^a	110 ± 4 ^a	124 ± 5 ^a	142 ± 7 ^{a*}
	Total	105 ± 9	108 ± 6	109 ± 7^a	110 ± 4^a	124 ± 5^a	142 ± 7^{a*}
HJ	Alimento	82 ± 1 ^b	77 ± 3 ^b	78 ± 6 ^b	72 ± 1 ^{ab}	77 ± 5 ^{ab}	72 ± 3 ^{ab}
	Jarabe	37 ± 6	59 ± 9	70 ± 8	88 ± 5	92 ± 3	101 ± 8
	Total	118 ± 7^a	136 ± 11^a	149 ± 12^{ab}	160 ± 6^{ab*}	169 ± 7^{ab*}	173 ± 6^{ab*}
HJF	Alimento	65 ± 5 ^a	66 ± 5 ^a	69 ± 2 ^a	77 ± 4	71 ± 3 ^a	69 ± 3 ^a
	Jarabe	41 ± 7	40 ± 3	45 ± 5 ^c	49 ± 5 ^c	47 ± 5 ^c	47 ± 2 ^c
	Total	105 ± 8	106 ± 5	114 ± 4^{ac}	125 ± 5^{ac}	117 ± 5^{ac}	116 ± 4^{ac}

Nota: Media de ingesta (Kcal) ± SEM. * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo (p<0.05). a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencia significativa vs. control hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) (p<0.05). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, control hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe + fármaco.

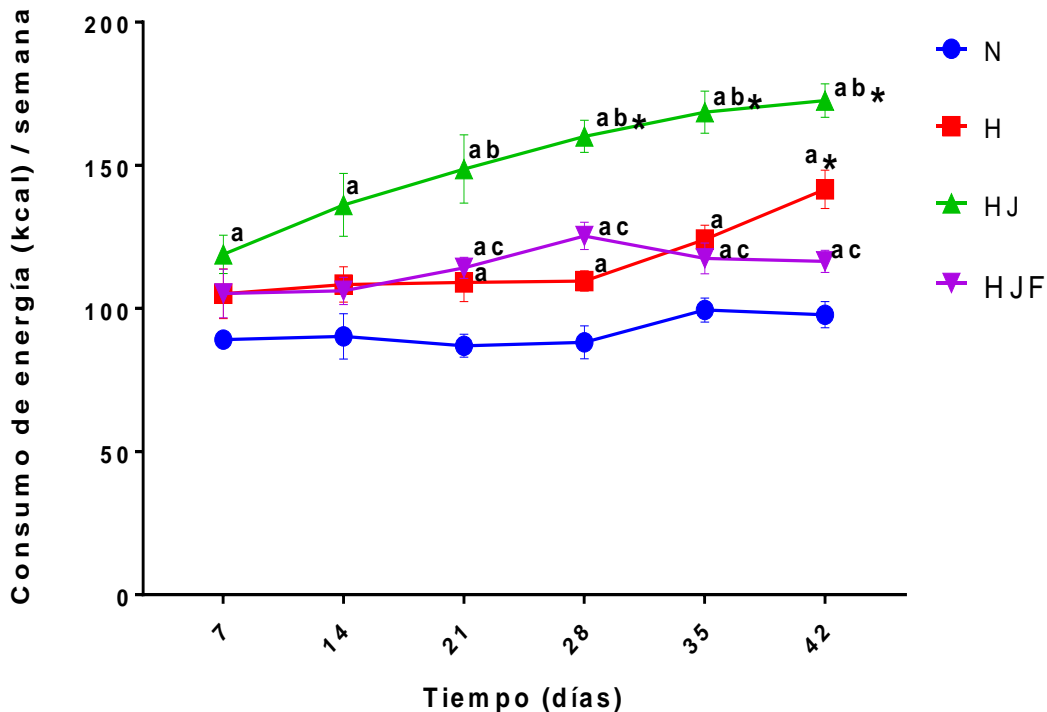


Fig. 9. Ingesta calórica durante el periodo experimental. Media de ingesta en cada grupo (Kcal) \pm SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencias significativas vs. control hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

5. Glucosa plasmática

La Tabla 9 muestra los niveles de glucosa plasmática en ayuno de los grupos experimentales en cada semana del tratamiento. El grupo N no presentó cambios en los niveles de glucosa plasmática a lo largo del periodo experimental, lo que indica que presentan una homeostasis normal de la glucosa. En el caso del grupo H, se observa un aumento de los niveles de glucosa en los T21, T28, T35 y T42 vs. su T0. Así mismo, en la tabla 9 se pueden observar diferencias significativas entre el aumento de glucosa plasmática en todos los tiempos del grupo H vs. el grupo N. El aumento de dichos niveles refleja el desarrollo de un estado de hiperglucemia crónica ocasionado por el tratamiento con STZ.

El grupo HJ no presentó variaciones significativas en el aumento de glucosa en ninguno de sus tiempos vs. su T0, ni vs. el grupo H; no obstante, los valores de glucosa son >100 mg/dl lo que indica un estado de hiperglucemia crónica que presenta una tendencia a ser menor que los valores de H en todos los tiempos, esto se puede observar más claramente en la figura 10. Adicionalmente, muestra un aumento significativo de glucosa desde T0 hasta el T42 vs. el grupo N. Dicho aumento es propio del modelo STZ y el consumo de jarabe.

Por otro lado, el grupo HJF, presentó diferencias significativas en la disminución de glucosa vs. grupo HJ en el T28, T35 y T42, y el T42 vs. su T0 (Tabla 5). La disminución de dichos niveles se atribuye a la administración de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg). Además, mostró un aumento significativo de glucosa el T0, T07 y T14 vs. grupo N, y una disminución a partir del T21 hasta el T42, por lo que no se encuentran diferencias entre los niveles de glucosa vs. el grupo N.

Tabla 9.

Glucosa sanguínea en ayuno durante el periodo experimental

Grupo (N =6)	Glucosa plasmática (mg/dl)						
	T0	T07	T14	T21	T28	T35	T42
N	107 ± 8	119 ± 8	107 ± 5	114 ± 6	114 ± 3	114 ± 6	95 ± 3
H	236 ± 46 ^a	347 ± 65 ^a	411 ± 45 ^a	436 ± 30 ^{a*}	441 ± 25 ^{a*}	411 ± 15 ^{a*}	441 ± 37 ^{a*}
HJ	199 ± 27 ^a	194 ± 42 ^a	328 ± 69 ^a	296 ± 88 ^a	361 ± 74 ^a	327 ± 75 ^a	387 ± 78 ^a
HJF	231 ± 38 ^a	200 ± 38 ^a	163 ± 17 ^a	140 ± 10	126 ± 4 ^c	141 ± 8 ^c	115 ± 3 ^{c*}

Nota: Media de glucosa plasmática (mg/dl) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N) (p<0.05). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) (p<0.05). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo (p<0.05). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, control hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

En la figura 10 se puede observar más claramente la dinámica de los niveles de glucosa de los diferentes grupos experimentales durante un período de 42 días.

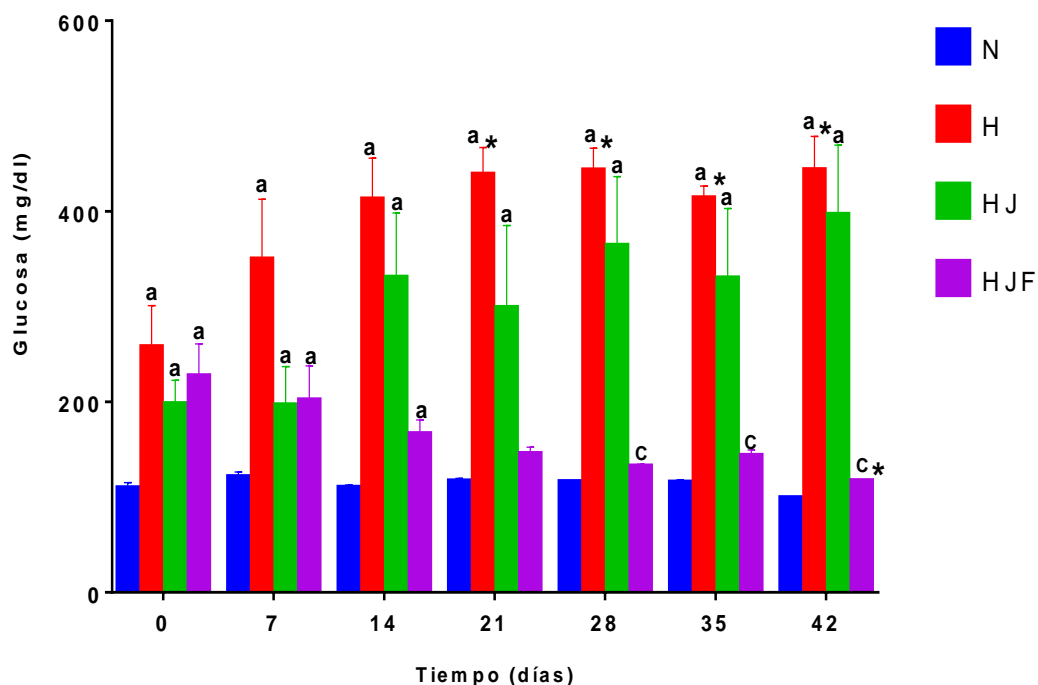


Fig. 10. Comportamiento de los niveles de glucosa plasmática de los diferentes grupos durante el periodo experimental. Media de glucosa plasmática en cada grupo (mg/dl) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N) ($p < 0.05$). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) ($p < 0.05$). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, control hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe + fármaco.

6. Triglicéridos

Otro parámetro de interés fueron los triglicéridos, los valores obtenidos se presentan en la tabla 10. El grupo N no presentó fluctuaciones a lo largo del periodo experimental. En el grupo H, los niveles de triglicéridos aumentaron significativamente en los T28 y T42 vs. su T0, así como en los T28 y T42 respecto al grupo N. El aumento de estos se encuentra asociado al estado de hiperglucemia crónico ocasionado por el modelo STZ.

El grupo HJ mostró un incremento significativo en el T14, T28 y T42 respecto a su T0, también se encontraron diferencias entre el T42 vs. T0 del grupo H. Por otro lado, se observa un aumento significativo desde el T14 hasta el T42 vs. grupo N. El aumento tan acelerado de triglicéridos vs. el grupo H y N fue estimulado por la administración crónica de la bebida con jarabe alto en fructosa, así como por la hiperglucemia crónica del modelo STZ.

En el grupo HJF, se observó un aumento significativo de los triglicéridos en el T14 vs. su T0 y vs. el T14 del grupo H y N, provocado por los mismos agentes que en el grupo HJ. Sin embargo, por la administración del tratamiento de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), se puede ver en la figura 11 como los niveles disminuyen significativamente en los T28 y T42 vs. el grupo H y se observa que no existe diferencia significativa entre los niveles de triglicéridos en el T28 y T42 vs. grupo N.

Tabla 10.

Triglicéridos en ayuno a lo largo del periodo experimental

Grupo (N =6)	Triglicéridos (mg/dl)			
	T0	T14	T28	T42
<i>N</i>	113 ± 9	111 ± 9	106 ± 9	94 ± 12
<i>H</i>	105 ± 11	158 ± 27	235 ± 29 ^{a*}	229 ± 31 ^{a*}
<i>HJ</i>	89 ± 6	245 ± 33 ^{ab*}	246 ± 26 ^{a*}	300 ± 47 ^{ab*}
<i>HJF</i>	107 ± 5	193 ± 19 ^{a*}	143 ± 14 ^c	119 ± 4 ^c

Nota: Media de triglicéridos (mg/dl) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico (H) (p<0.05). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) (p<0.05). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo (p<0.05). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJ F, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

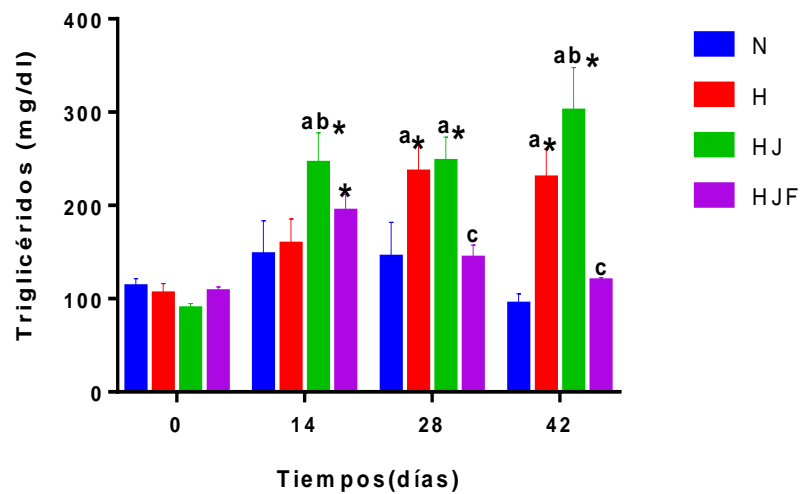


Fig. 11. Comportamiento de los niveles de triglicéridos de los diferentes grupos durante el periodo experimental. Media de triglicéridos en cada grupo (mg/dl) ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) ($p < 0.05$). * indican diferencias significativas respecto al T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

7. Curvas de tolerancia a la glucosa

En la tabla 11 se presentan los valores de las PTG de cada grupo realizadas en el T42 del experimento. Se registró un aumento significativo en los niveles de glucosa plasmática entre el T0 y T30 de todos los grupos experimentales. Este pico hiperglucémico es característico de las PTG después de la administración de la carga de glucosa.

El grupo N presentó un pico hiperglucémico significativo, con un aumento de 70 puntos sobre su T0, que posteriormente este valor disminuyó hasta regresar a niveles basales, perdiendo significancia estadística en los últimos dos tiempos. Por otro lado, el grupo H presentó niveles muy elevados de glucosa en el pico hiperglucémico, aumentado 206 puntos por encima de su T0; y en el T60, 149 puntos por encima de su T0. Así mismo, la concentración de glucosa fue mayor a partir del T30 hasta el T120 vs. grupo N. La elevación y comportamiento de los valores de glucosa en el grupo H es debido a una falla de secreción de insulina inducida por el modelo STZ.

En el grupo HJ también se observó un incremento significativo de glucosa en el pico hiperglucémico, aumentado 204 puntos por encima de su T0; y en el T60, 149 puntos por encima de su T0. Al ser comparado vs. el grupo H no se encontró diferencias significativas entre el aumento (T30) y disminución (T60, T90 y T120) de glucosa en los diferentes tiempos; sin embargo, se puede observar que a partir del T90 y hasta el T120 la concentración de glucosa se mantiene y son mayores que en el grupo H. Adicionalmente, se puede ver en la figura 12 que la glucosa no disminuyó hasta regresar a niveles basales en el T120, mientras que en el grupo H si lo hizo. Por otro lado, al compararlo con el grupo N, se puede observar diferencias significativas en el aumento (T30) y disminución (T60, T90, T120) de glucosa. La intolerancia a la glucosa también se atribuye al modelo STZ y a la posible disminución de la sensibilidad a la insulina ocasionada por el consumo de jarabe.

Finalmente, en la tabla 11 se puede observar que grupo HJF presentó un aumento significativo de los niveles de glucosa en el T30 y en T60 vs. su T0 y desde el T30 hasta el T120 vs. el grupo N. Las diferencias significativas vs. el grupo N se atribuye al modelo STZ y a la posible disminución de la sensibilidad a la insulina ocasionada por el consumo de jarabe. Adicionalmente, al ser comparado con el grupo HJ, se observó que los niveles de glucosa en todos los tiempos y el pico hiperglucémico en el T30 son menores. Esto se puede deber al efecto sensibilizador y/o hipoglucemiante del tratamiento farmacológico. En la figura 12 observan los niveles de glucosa de los diferentes grupos experimentales después de administrar una carga de glucosa

Tabla 11

Glucosa en pruebas PTG

Grupo (N =6)	T0	T30	T60	T90	T120
N	110 ± 7	180 ± 2*	143 ± 5*	126 ± 7	116 ± 6
H	375 ± 37 ^a	581 ± 9 ^{a*}	524 ± 16 ^{a*}	442 ± 34 ^a	368 ± 26 ^a
HJ	388±49 ^a	592 ± 9 ^{a*}	526 ±25 ^{a*}	455 ± 46 ^a	430 ±52 ^a
HJF	116 ± 9 ^c	331 ± 18 ^{ac*}	273 ± 12 ^{ac*}	199 ± 16 ^{ac}	150 ± 12 ^{ac}

Nota: Media de glucosa (mg/dl) ± SD. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico(N) (p<0.05). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe(H+J) (p<0.05) * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo (p<0.05). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

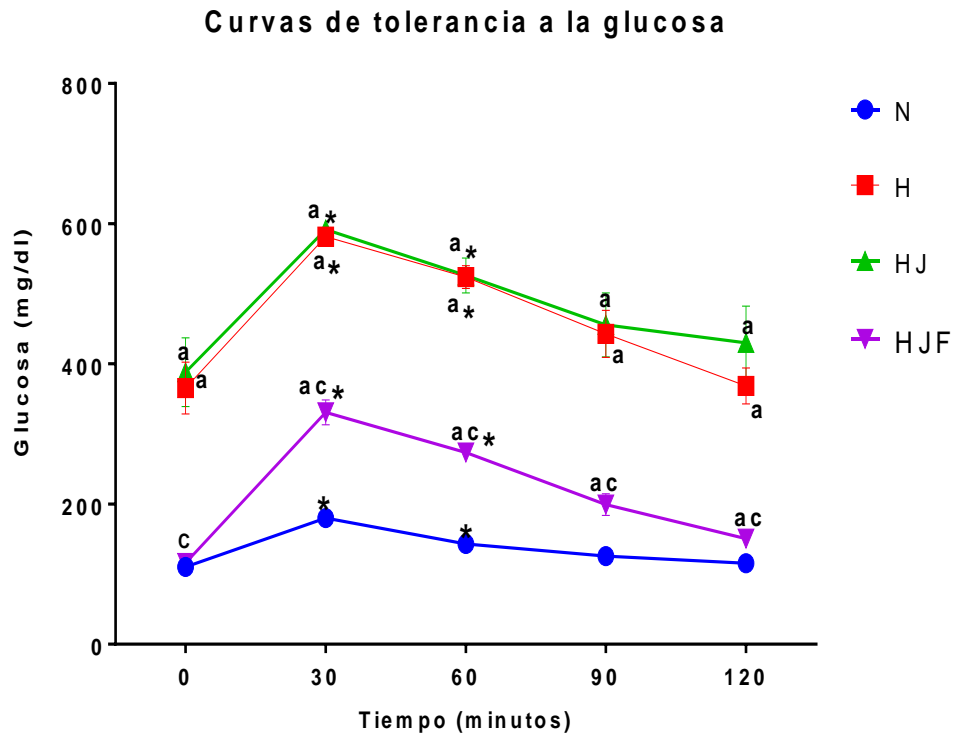


Fig. 12. Comportamiento de los niveles de glucosa en las PTG. Media de glucosa plasmática en cada grupo (mg/dl) \pm SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

8. HOMA-IR

En la tabla 12 se pueden apreciar los valores del índice **HOMA-IR**, éste refleja RI cuando los valores obtenidos son > 3 ; siendo 3 el valor límite considerado como sensibilidad a la insulina normal. Esta prueba fue realizada como un estudio preliminar para la valoración de la RI del modelo. Los valores utilizados corresponden sólo a dos organismos de cada grupo experimental.

Se registró que los valores iniciales entre los grupos fueron similares. Aunado a esto, se puede observar en la figura 13 una tendencia de que el HOMA aumentó en todos ellos. En el grupo N se puede ver el aumento del HOMA al finalizar el periodo experimental. No obstante, el incremento no fue estadísticamente significativo por lo que podría ser

atribuido a la propia fisiología y homeostasis de las ratas de nuestro bioterio. Por otro lado, se observa que el HOMA de los otros grupos fue modificado por los tratamientos.

Los grupos H y HJ presentaron valores significativamente altos en el T42 vs. su T0, lo que sugiere una falla en la secreción de insulina propia del modelo STZ y/o una disminución en la sensibilidad a la insulina generada por el consumo crónico de fructosa. Así mismo, se puede observar que el índice HOMA-IR del T42 del grupo HJ es más alto y estadísticamente significativo vs. el grupo H y el grupo N, lo que indicaría que existe una menor sensibilidad a la insulina que se atribuye al tratamiento con fructosa. El grupo HJF mostró disminución significativa vs. el grupo HJ y no tuvo diferencias significativas vs. el grupo N, lo que indica que el tratamiento con fármaco disminuyó o mantuvo su HOMA al final del experimento, debido a una posible disminución de la resistencia y/o al incremento de insulina. En la figura 13 se presentan los valores del índice HOMA-IR de cada grupo experimental.

Tabla 12.

Valores de HOMA-IR al inicio y al finalizar el periodo experimental.

Grupo (N= 2)	T0			T42		
	Glucosa (mg/dl)	Insulina (ng/ml)	HOMA-IR	Glucosa (mg/dl)	Insulina (ng/ml)	HOMA-IR
N	94 ± 19	0.6 ± 0.01	2 ± 0	95 ± 8	3 ± 1	4 ± 0
H	220 ± 48 ^a	0.3 ± 0.3	1 ± 0	339 ± 37 ^a	0.8 ± 0.3	9 ± 1 ^{a*}
HJ	173 ± 3 ^a	0.8 ± 0.3	3 ± 0	432 ± 28 ^a *	0.7 ± 0.2	18 ± 4b ^{ab*}
HJF	154 ± 5 ^a	0.7 ± 0.06	2 ± 0	105 ± 2 ^c	2 ± 1	1 ± 1 ^c

Nota: Media de glucosa, insulina y HOMA-IR ± SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencia significativa vs. control hiperglucémico (H). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ). * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo (p<0.05). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

Valores del HOMA-IR

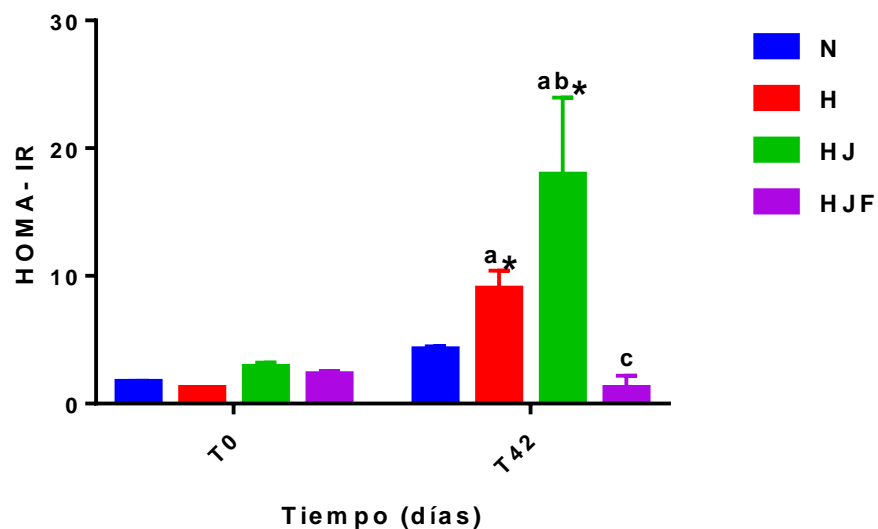


Fig. 13. HOMA-IR. Media del índice en cada grupo (mg/dl) \pm SEM. a indica diferencias significativas vs. control normoglucémico (N). b indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico (H) ($p < 0.05$). c indica diferencias significativas vs. grupo hiperglucémico + jarabe (HJ) ($p < 0.05$). B * indican diferencias significativas contra el T0 en cada grupo ($p < 0.05$). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HJ, grupo hiperglucémico + jarabe; HJF, control hiperglucémico + jarabe+ fármaco.

Discusión

El presente trabajo experimental tuvo como objetivo principal estandarizar un modelo animal con RI a partir de la administración crónica de jarabe con alto contenido en fructosa en un grupo de ratas Wistar hiperglucémicas inducidas por STZ. Durante el desarrollo de este proyecto se utilizaron 4 grupos experimentales: 1) un grupo normoglucémico (**N**) que fue utilizado como grupo control para evaluar la estabilidad de la inducción de hiperglucemia generada por el modelo STZ en el grupo control hiperglucémico (H) y para la estandarización del modelo animal con RI; 2) el grupo control hiperglucémico (**H**) que sirvió para valorar los efectos de la administración crónica de jarabe alto en fructosa en el grupo hiperglucémico + jarabe (HJ); 3) el grupo hiperglucémico + jarabe (**HJ**) para la estandarización del modelo animal con RI; y 4) un grupo hiperglucémico + 10% de jarabe + fármaco (**HJF**) para evaluar si el modelo responde a los fármacos metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg).

Se observó que el grupo *control normoglucémico (N)* a lo largo del tratamiento presentó un aumento de peso generado por el propio crecimiento del animal, y un consumo de alimento y agua homogéneo que mantuvo constante su ingesta calórica total. Así mismo, no hubo cambios significativos en los valores de glucosa plasmática, colesterol y triglicéridos a lo largo del experimento. Esto se debe a que la administración del vehículo (solución fisiológica) y la dieta no desencadenan un estado de hiperglucemia, hiperlipidemia e hipercolesterolemia en los individuos.

Por otro lado, el grupo *control hiperglucémico (H)* presentó a lo largo del tratamiento un aumento de peso provocado por el propio crecimiento del animal y por la acentuada tendencia en el incremento del consumo de alimento que elevó la ingesta calórica total. Además, se registró un aumento en el consumo de líquidos. Estos resultados pueden explicarse por la hiperglucemia crónica del modelo STZ.

Se ha reportado que la hiperglucemia crónica ocasiona desequilibrios osmóticos en el organismo provocando la polidipsia y, por consecuencia, la poliuria o poliuria que genera polidipsia ; mientras que la polifagia se puede explicar como una respuesta compensadora a la pérdida de glucosa por la orina, así como por la falta de energía que presentan las células (debido a la disminución en la captación de glucosa) generada por la disminución en la secreción de insulina del modelo (Bequer et al., 2016; Del Toro, 2001).

Adicionalmente, el grupo H presentó hiperglucemia crónica provocada por una falla en la secreción de la insulina generada por la STZ. Se sabe que la STZ actúa específicamente sobre las células β ocasionando daño y muerte celular, dando como resultado una disminución en la producción de insulina ocasionando hiperglucemia (Masiello et al.,

1998). Sin embargo, no se observó una alteración en los niveles de colesterol ocasionada por el modelo STZ debido a que el equipo utilizado no fue sensible, por lo que, para obtener los niveles de este parámetro, sería necesario medir colesterol HDL y LDL, o determinar por espectrofotometría su contenido en plasma o suero, aunque en la literatura se ha reportado que el modelo de STZ no modifica los niveles de colesterol (Vélez et al., 2015; Holmgren & Brown, 1993). Por otra parte, el aumento de triglicéridos observado en este grupo control probablemente se deba a la alteración de la regulación de la glucosa ocasionada por el tratamiento con STZ para la inducción de hiperglucemia. Se sabe que alteraciones en la homeostasis de la glucosa afectan directamente al metabolismo de los lípidos, particularmente en el almacenamiento y movilización de los triglicéridos (Figueroa, Pérez & Mejía, 2013).

Por otro parte, el grupo **hiperglucémico + jarabe (HJ)** a lo largo del tratamiento tuvo un aumento de peso por el propio crecimiento del animal y el incremento del consumo de jarabe que elevó la ingesta calórica total vs. su T0. Así mismo, no se observó un incremento significativo del peso ocasionado por el consumo de alimento y jarabe vs. los grupos N y H; sin embargo, se observó una tendencia de mayor aumento de peso al ser comparado con el grupo H, así como un aumento significativo en su ingesta calórica vs. el grupo N y H. Adicionalmente, al diseccionar un ejemplar del grupo HJ, se observó una mayor cantidad de tejido adiposo visceral que podría estar asociado al consumo crónico de fructosa y probablemente con un estado de obesidad abdominal que favorecería la disminución en la sensibilidad de insulina (Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna & Olivares-Reyes, 2017). Para poder asegurar estos supuestos es importante que estudios próximos evalúen la composición corporal y no sólo el peso.

La disminución en el consumo de alimento del grupo HJ vs. los grupos N y H fue ocasionada por el aumento en el consumo de jarabe; mientras que el aumento de consumo de jarabe puede deberse a los mecanismos fisiológicos derivados de la hiperglucemia crónica del modelo STZ mencionados con anterioridad y a las propiedades edulcorantes de la bebida que estimulan un mayor consumo (Bequer et al., 2016; Del Toro, 2001). Diversos estudios han mostrado que los azúcares simples, particularmente la fructosa, al ser ingeridos en forma líquida contribuyen a la reducción de ingesta de alimentos (Sangüesa et al., 2017). Sin embargo, dicha ingesta no se reduce lo suficiente como para compensar las calorías extras proporcionadas por las bebidas provocando un aumento en la ingesta calórica total (Sangüesa et al., 2017). Este criterio resulta muy importante ya que de acuerdo con la Asociación Diabetes Madrid (ADM) existen diversos estudios que sugieren que una alta ingesta calórica produce obesidad a mediano plazo que se encuentra directamente asociado al desarrollo de RI (Martín-Ridaura, 2018).

El grupo HJ presentó un comportamiento variable de hiperglucemia durante todo el periodo experimental. A pesar de esto, se observó una tendencia de hiperglucemia menor a la del grupo H que podría deberse a un estado compensatorio de hiperinsulinemia crónica generado por la disminución en la sensibilidad a la insulina que pudo ocasionar el consumo crónico de fructosa (Pollak ,2016; Riveros et al., 2014). No obstante, debido a que no se encontraron diferencias significativas entre los valores de insulina del grupo HJ vs. los grupos N y H, no se puede asegurar que el modelo desarrolló un estado de hiperinsulinemia compensatorio, por ello, es necesario analizar un mayor número de datos que arrojen resultados más precisos o también se podría cuantificar insulina cada semana.

Al igual que el grupo H, los niveles de colesterol no se pudieron cuantificar. No obstante, se detectó un rápido aumento en los niveles de triglicéridos. Previamente se mencionó que el modelo STZ por sí sólo aumenta los niveles de triglicéridos, sin embargo, la administración de jarabe en el modelo STZ aceleró su incremento. Este comportamiento también se ha observado en otros estudios, por ejemplo, el modelo de síndrome metabólico de Renna y colaboradores (2007) y el modelo de inducción de DMT2 de Dupas y colaboradores (2016) donde a partir de la administración crónica de una dieta rica en fructosa se obtuvo un acelerado aumento en los niveles de triglicéridos respecto a su control. El incremento de triglicéridos se debe a que la ingesta excesiva de carbohidratos, específicamente de glucosa y fructosa, induce lipogénesis de *novo* (Cascales, 2014). La lipogénesis de *novo* es una vía metabólica que convierte el exceso de los carbohidratos de la dieta en ácidos grasos, que una vez esterificados, se almacenan en el tejido adiposo y hepático como triglicéridos (Cascales, 2014). De acuerdo con diversas investigaciones, el aumento acelerado de triglicéridos podría ocasionar una disminución en la sensibilidad a la insulina (Renna et al., 2007; Dupas et al., 2016).

A pesar de los valores e triglicéridos observados en el grupo HJ, no se puede asegurar el desarrollo de RI, por lo que sería necesario determinar el desarrollo de obesidad aunado al incremento de tejido adiposo y la presencia de citocinas proinflamatorias. De acuerdo con la literatura, el tejido adiposo es el principal sitio de almacenamiento de triglicéridos en el organismo, y una parte de él, específicamente el tejido adiposo visceral, actúa como secretor de adipocinas y citocinas proinflamatorias (Hernández-Díaz et al., 2016). Cuando existe un estado de obesidad se provocan alteraciones en el tejido adiposo, que conllevan a una respuesta inflamatoria crónica que favorece la RI (Gutiérrez-Rodelo, Roura-Guiberna & Olivares-Reyes, 2017). Los problemas que desencadena la respuesta inflamatoria crónica son muy variados; sin embargo, todos los casos promueven el aumento de citocinas proinflamatorias (Punt et al., 2013). Estas citocinas regulan e inhiben el

metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas, y desempeñan un papel significativo en el desarrollo de RI (Hernández-Díaz et al., 2016).

El grupo **hiperglucémico + jarabe + fármaco (HJF)** tuvo un aumento de peso por el propio crecimiento del animal, y la ingesta de alimento y jarabe, parecido al del grupo N. No se observó un incremento en el consumo de alimento, jarabe e ingesta calórica debido a que las administraciones de los fármacos controlaron los mecanismos fisiopatológicos del modelo STZ y los efectos negativos del consumo crónico de jarabe alto en fructosa.

Así mismo, el tratamiento de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg) evitó que aumentaran los niveles de glucosa del grupo HJF a lo largo del periodo experimental debido a que comenzó a administrarse desde el principio. La metformina es un hipoglucemiante oral que promueve sensibilidad a la insulina en adipocito, miocito y hepatocito. La disminución de los niveles de glucosa se atribuye a: 1) la captación y oxidación de glucosa periférica por el miocito y adipocito cuando aumenta la sensibilidad a la insulina; 2) la disminución del glucógeno hepático basal; 3) la inhibición de la gluconeogénesis en el hepatocito; y 4) al aumento en la translocación de receptores de insulina (Serna & Martínez, 2006). Por otro lado, la glibenclamida es un hipoglucemiante oral de la familia de la sulfonilureas, con propiedades insulinosecretoras que actúa en receptores específicos de la célula β (Sánchez, 2008). En estudios experimentales se ha visto que su efecto hipoglucemiante radica en la estimulación de la célula β para la liberación de insulina que va a resultar en la disminución de la glucemia basal a partir de 1) la inhibición de liberación hepática de glucosa, y 2) el aumento en el transporte de glucosa en miocito y adipocito (Sánchez, 2008).

De la misma manera que lo observado el grupo HJ, se detectó un rápido aumento en los niveles de triglicéridos después de la segunda semana experimental atribuido al modelo STZ y al consumo del jarabe de fructosa. No obstante, los niveles de triglicéridos disminuyeron a partir del T28 debido al tratamiento farmacológico. Así mismo, en otros estudios también se ha observado que la administración crónica de metformina contribuye a mejorar el perfil lipídico (Quintero-Castillo et al., 2010).

Es importante resaltar que el tratamiento farmacológico de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg) fue simultáneo a la estandarización del modelo por lo que se podría pensar que el modelo no desarrolló RI debido al tratamiento. Sin embargo, se puede ver que el tratamiento farmacológico durante las dos primeras semanas del periodo experimental, del T0 al T14, no evitó el acelerado aumento de triglicéridos (que se encuentra directamente asociado a la disminución en la sensibilidad a la insulina) ocasionado por el consumo crónico del jarabe, ya que no se presentaron diferencias

significativas entre los valores de triglicéridos del grupo HJ vs. el grupo HFJ en el T14, y es hasta el T28 donde se ve una reducción de este valor. No obstante, como se había mencionado con anterioridad, los valores obtenidos de triglicéridos del modelo no pueden asegurar el desarrollo de RI, por lo que es necesario complementar estos datos con las técnicas antes mencionadas.

Adicionalmente, se realizaron PTG a cada grupo al finalizar el periodo experimental. Las **PTG** miden la capacidad que tiene el organismo para metabolizar la glucosa (Arriaga & Miguel, 2007), sirviendo como herramientas útiles para el diagnóstico de prediabetes y diabetes. Después del pico hiperglucémico observado en el T30 de las PTG del grupo **N**, los valores de glucosa no presentaron diferencia significativa vs. su T0, lo que nos indica que los individuos fueron capaces de regular y disminuir la concentración de glucosa en sangre, descartando así, alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos (Arriaga & Miguel, 2007).

En el grupo **H** se observó que después del pico hiperglucémico (T30), las concentraciones de glucosa tardaron en ser reguladas. Dicha alteración se debe a la disminución en la secreción de insulina por el daño a las células β del modelo STZ (Masiello et al., 1998) provocando que las acciones promovidas por la insulina en las células blanco no sean llevadas a cabo, prolongando el estado de hiperglucemia (Bequer et al., 2014).

Las alteraciones en la regulación de la glucosa en el grupo **HJ** se deben a la falla de secreción de insulina del modelo STZ y a la posible la disminución en la sensibilidad a la insulina ocasionada por el consumo de fructosa. La alteración de las PTG a partir de la administración crónica de fructosa por disminución en la sensibilidad a la insulina y la intolerancia a la glucosa también se han reportado en modelos anteriores como el modelo inducción de DMT2 de Dupas y colaboradores (2016), y el modelo de síndrome metabólico de Renna y colaboradores (2007).

El grupo **HJF** también presentó las alteraciones descritas en el metabolismo de los carbohidratos del grupo HJ. A pesar de ello, se observó una recuperación de los parámetros sanguíneos medidos que se traduce en un mejoramiento del homeostasis de la glucosa. Dicho comportamiento se debe al tratamiento farmacológico con metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg). De acuerdo con Saxena y colaboradores (2010) el tratamiento conjunto de metformina y glibenclamida mejora significativamente el comportamiento de las PTG y la homeostasis de la glucosa en general debido a que éstos influyen eficazmente para controlar la RI y promover la secreción de insulina mediante los mecanismos mencionados con anterioridad.

Así mismo, se calculó el **HOMA-IR** en el T0 y T42 de todos los grupos experimentales. El índice **HOMA-IR** es un método utilizado para el diagnóstico de la RI que evalúa la función de la célula β y la sensibilidad a la insulina (Martínez, Maldonado & López, 2011). Como se mencionó anteriormente, los grupos **H** y **HJ** presentaron valores significativamente altos del HOMA-IR al finalizar el periodo experimental vs. grupo N. Hasta el momento se sabe que el modelo de hiperglucemia inducido por STZ no desarrolla RI (Masiello et al., 1998; Chao et al., 2018). Sin embargo, se ha reportado que ratas STZ-NA presentan una disminución en la sensibilidad a la insulina en el tejido adiposo dos meses después de su inducción (Fierabracci et al. 2002; Novelli et al., 2004). Dicha disminución es ocasionada por la reducción de la capacidad de la insulina para estimular procesos de esterificación (Masiello et al. 2002), provocando un exceso de ácidos grasos circulantes que generan insulinoresistencia a través de los fenómenos de lipotoxicidad (Reyes, 2012).

Por otro lado, el tratamiento de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg) impidió el aumento del HOMA-IR al finalizar el periodo experimental del grupo **HJF**. Debido a que el HOMA-IR evalúa la insulinosensibilidad, el uso de metformina, hipoglucemiante que aumenta la sensibilidad de dicha hormona en sus tejidos blanco (Serna & Martínez, 2006), y glibenclamida, hipoglucemiante insulinoscretor, evitó su incremento (Sánchez, 2008).

Finalmente, los valores del HOMA-IR del grupo **HJ** pueden estar asociados a la disminución de la secreción de insulina generada por el modelo STZ, el descenso de la sensibilidad a la insulina en tejido adiposo del modelo STZ y la administración crónica de fructosa. Como se había mencionado con anterioridad, la ingesta crónica de grandes cantidades de fructosa estimula procesos de lipogénesis y acumulación de triglicéridos, que desencadenan un estado de hipertrigliceridemia crónica, correlacionado directamente con la disminución en la sensibilidad a la insulina y desarrollo de RI (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007).

En las últimas décadas el consumo de fructosa ha aumentado considerablemente debido a que ésta, especialmente en la forma de "jarabe de maíz alto en fructosa", ha remplazado a la sacarosa en muchos alimentos (mermeladas, cereales, pan, embutidos, galletas, etc.) y bebidas (refrescos, jugos, néctares, etc.) (Pérez, Zúñiga, & Mier, 2007), lo que aunado al acelerado aumento del consumo de alimentos y bebidas poco saludables en países en vías desarrollados como México, representa un factor de riesgo que a mediano plazo puede ser responsable de efectos deletéreos en la salud como el desarrollo de sobrepeso, obesidad, RI, EHGNA, DMT2 y enfermedades cardiovasculares (Riveros et al., 2014). Es por ello que los resultados obtenidos en este trabajo representan un apoyo en la investigación básica para el estudio y tratamiento de la DMT2.

Conclusiones

Los resultados indican que el consumo crónico de jarabe alto en fructosa suministrado por 42 días a ratas Wistar STZ:

- 1) Eleva los niveles de triglicéridos respecto al control normoglucémico (N) e hiperglucémico (H), y aumenta los niveles de glucosa al ser comparado contra el grupo N, provocando un estado de hiperglucemia crónica; por otro lado, mantiene la hiperglucemia observada en el grupo H.
- 2) Disminuye la tolerancia a la glucosa en relación al control normoglucémico (N) e hiperglucémico (H).
- 3) Aumenta el índice HOMA-IR mostrando el desarrollo de RI respecto al control normoglucémico (N) e hiperglucémico (H).
- 4) Disminuye el consumo de alimento, aumenta el consumo de jarabe e incrementa la ingesta calórica en relación al control normoglucémico (N) e hiperglucémico (H).
- 5) No aumenta significativamente el peso al ser comparado con el control normoglucémico (N) e hiperglucémico (H).
- 6) Responde a la administración de metformina-glibenclamida (500mg/kg y 5mg/kg), disminuyendo los niveles de glucosa, triglicéridos, la ingesta calórica total y aumentado la tolerancia a la glucosa y la concentración de insulina sérica al ser comparado con el grupo hiperglucémico + jarabe (HJ), y muestra valores similares en esos mismos parámetros respecto al control normoglucémico (N).

Perspectivas

Para que la estandarización de este modelo sea más robusta es necesario:

- 1) Analizar un mayor número de datos para obtener los valores faltantes del HOMA-IR.
- 2) Evaluar la composición corporal y no sólo el aumento de peso.
- 3) Cuantificar triglicéridos en hígado y tejido adiposo.
- 4) Realizar análisis histológicos en hígado y tejido adiposo.
- 5) Cuantificar citocinas proinflamatorias.

Referencias

1. Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2), 160-168.
2. Arno, A. G., Nadal, J. F., & Cases, M. M. (2004). Criterios de control y pautas de tratamiento combinado en la diabetes tipo 2. Actualización 2004. *Medicina clínica*, 123(5), 187-197.
3. Arriaga, H. M. T., & Miguel, H. (2007). La curva de tolerancia a la glucosa oral. Un enfoque alternativo. *Contactos*, 64, 21-24.
4. Asociación Americana de Diabetes. (2016). El diagnóstico de la diabetes e información sobre la prediabetes. Recuperado de <http://www.diabetes.org/es/informacion-basica-de-la-diabetes/diagnostico.html>
5. Amaya, A., Dolores, E., Álvarez, P., Ferreira-Rubio, G., Gómez, L. M., & Galar, M. (2016). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglicémica de la glibenclamida.
6. Barrientos, C., Cárdenas, A. S., Vázquez, J., & Garrido, O. (2013). Efecto en la ingesta de alimento e inducción de resistencia a la insulina de sobre rata nulípara y gestante. *Revista del Hospital Juárez de México*, 80(4), 224-230.
7. Bequer, L., Gómez, T., Molina, J. L., Artilles, D., Bermúdez, R., & Clapés, S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*, 36(2).
8. Carrasco, N. F., Galgani, F. J. E., & Reyes, J. M. (2013). Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 24(5), 827-837.
9. Casado, M. (2007). Modelos animales en el estudio de la diabetes. *AvDiabetol*, 23, 432-8.
10. Cascales, M. (2014). Lipogénesis de novo y termogénesis. Recuperado de: [file:///C:/Users/v2_mm/Downloads/1571-6440-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/v2_mm/Downloads/1571-6440-1-PB%20(1).pdf)
11. Cases, M. M. (2008). Metformina y diabetes mellitus tipo 2. *Atención primaria*, 40(3), 147-153.

12. Castrejón, V., Carbó, R., & Martínez, M. (2007). Mecanismos Moleculares que intervienen en el transporte de la glucosa. *Revista de Educación Bioquímica*, 26(2), 49-57.
13. Chao, P. C., Li, Y., Chang, C. H., Shieh, J. P., Cheng, J. T., & Cheng, K. C. (2018). Investigation of insulin resistance in the popularly used four rat models of type-2 diabetes. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 101, 155-161.
14. Chávez, A. G., Hernández, L. M. M., Zúñiga, M. D. J. S., Argueta, S. E., Zarza, J. E. N., & Rodríguez, S. R. (2006). Inflamación y resistencia a la insulina: Mecanismos para el desarrollo de la disfunción endotelial y aterosclerosis. *Investigación clínica*, 17(2).
15. Cuéllar, A. Y. D., Sibaja, C. M., & Aguirre, A. U. (2016). *Endocrinología clínica de Dorantes y Martínez*. Editorial El Manual Moderno.
16. De Fronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews. Disease Primers*, 115019. doi:10.1038/nrdp.2015.19
17. Del Toro M. (2001). Efecto de la cocarboxilasa sobre la glucemia en ratas Wistar inducidas a diabetes (tesis). Colima, México: Universidad de Colima.
18. Dupas, J., Goanvec, C., Feray, A., Guernec, A., Alain, C., Guerrero, F., & Mansourati, J. (2016). Progressive Induction of Type 2 Diabetes: Effects of a Reality-Like Fructose Enriched Diet in Young Wistar Rats. *PLoS One*, 11(1), e0146821.
19. Estévez, A. F., Zarzabal, M. D., Carballo, R. S., & Pérez, L. P. (2001). Efecto del Glicolít sobre la absorción de glucosa proveniente de una fuente de sacarosa 14C. *Rev Cubana Angiol y CirVasc*, 2(1), 10-5.
20. Federación Internacional de la Diabetes. (2017). Atlas de la Diabetes de la Federación Internacional de Diabetes (IDF). Octava edición.
21. Fierabracci, V., De Tata, V., Pocai, A., Novelli, M., Barberà, A., & Masiello, P. (2002). Oral tungstate treatment improves only transiently alteration of glucose metabolism in a new rat model of type 2 diabetes. *Endocrine*, 19(2), 177-184.
22. Figueroa, M. C., Pérez, I. H., & Mejía, R. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista MVZ Córdoba*, 18.
23. Goday, A. (2002). Epidemiología de la diabetes y sus complicaciones no coronarias. *Revista Española de Cardiología*, 55(6), 657-670.

24. González, E. (2008). Diabetes mellitus tipo 1 y 2: etiopatogenia, formas de comienzo, manifestaciones clínicas, historia natural. *Medicine: Programa De Formación Médica Continuada Acreditado*, (17), 1091.
25. Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A., & Olivares-Reyes, J. A. (2017). Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización. *Gaceta Médica de México*, 153(2), 214-228.
26. Hernández-Díaz, A., Arana-Martínez, J. C., Carbó, R., Espinosa-Cervantes, R., & Sánchez-Muñoz, F. (2016). Omentina: papel en la resistencia a la insulina, inflamación y protección cardiovascular. *Archivos de cardiología de México*, 86(3), 233-243.
27. Holmgren, P. R., & Brown, A. C. (1993). Serum cholesterol levels of nondiabetic and streptozotocin-diabetic rats fed a high cholesterol diet. *ARTERY-KALAMAZOO-*, 20, 337-345.
28. Ko, H. L., & Ren, E. C. (2012). Functional aspects of PARP1 in DNA repair and transcription. *Biomolecules*, 2(4), 524-548.
29. Martín-Ridaura. (2018). Resistencia a la insulina, prevención y tratamiento. Asociación Diabetes Madrid. Recuperado de:<https://diabetesmadrid.org/resistencia-a-la-insulina-prevencion-y-tratamiento/>
30. Martínez, A., Maldonado, J., & López, M. (2011). Métodos diagnósticos de la resistencia a la insulina en la población pediátrica. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 68(5), 397-404.
31. 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.
32. Matsuda M, DeFronzo RA. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing: comparison with the euglycemic insulin clamp. *Diabetes Care*1999; 22:1462-1470.
33. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*1985; 28:412-419.
34. Muntaner, J., Roggia, R., & Badimon, J. J. (2015). diabetes y aterotrombosis. importante impacto en la carga global de. *RevFedArgCardiol*, 44(3), 133-138.

35. Morales et al. (2017). Complicaciones agudas de la diabetes mellitus tipo II. Departamento de Integración de Ciencias Médicas, Centro de Enseñanza y Certificación de Aptitudes Médicas, Facultad de Medicina, UNAM.
36. Monzón, S., Alberto, L., & Farré, C. (2012). La inducción de la diabetes en la experimentación animal.
37. Novelli, M., Poci, A., Lajoix, A. D., Befy, P., Bezzi, D., Marchetti, P., & Masiello, P. (2004). Alteration of β -cell constitutive NO synthase activity is involved in the abnormal insulin response to arginine in a new rat model of type 2 diabetes. *Molecular and cellular endocrinology*, 219(1-2), 77-82.
38. Organización Mundial de la Salud. (2016). Informe Mundial sobre Diabetes: Resumen de orientación. Recuperado de: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204877/1/WHO_NMH_NVI_16.3_spa.pdf
39. Organización Mundial de la Salud. (2016b). Diabetes, Nota descriptiva: Noviembre del 2016. World Health Organization. Recuperado de: <http://www.who.int/dg/speeches/2016/obesity-diabetes-disaster/es/>
40. Organización Mundial de la Salud. (2016c). Obesidad y diabetes, una plaga lenta pero devastadora: discurso inaugural de la Directora General en la 47ª reunión de la Academia Nacional de Medicina. World Health Organization. Recuperado de: <http://www.who.int/dg/speeches/2016/obesity-diabetes-disaster/es/>
41. Organización Mundial de la Salud. (2017). Diabetes, Qué es la diabetes. World Health Organization. Recuperado de: <http://www.who.int/dg/speeches/2017/diabetes-what-is-it/es/>
42. Organización Mundial de la Salud. (2017b). Diabetes, Complicaciones de la diabetes. World Health Organization. Recuperado de: http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index3.html
43. Organización Mundial de la Salud. (2017c). Diabetes, Nota descriptiva: Noviembre del 2017. World Health Organization. Recuperado de <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
44. Organización Panamericana de la Salud. (2017). Los Impuestos a los Refrescos y a las Bebidas Azucaradas como Medida de Salud Pública, México. Recuperado: https://www.paho.org/mex/index.php?option=com_content&view=article&id=627:los-impuestos-refrescos-bebidas-azucaradas-medida-salud-publica&Itemid=499
45. Pérez, E., Zúñiga, A. E. S., & Mier, G. M. (2007). Efectos benéficos y deletéreos del consumo de fructosa. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 15(2), 67-74.

46. Pérez, M., & Medina-Gómez, G. (2011). Obesity, adipogenesis and insulin resistance. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 58(7), 360-369.
47. Pollak, F. (2016). RESISTENCIA A LA INSULINA: VERDADES Y CONTROVERSIAS. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(2), 171-178.
48. Punt, J., Stranford, S., Jones, P., & Owen, J. (2013). KUBY. Inmunología, 7e. México, D.F.: McGraw-Hill Interamericana Editores, S. A. de C.V.S.
49. Quintero-Castillo, D., Luz-Araujo, H., Guerra-Velázquez, M., Reyna-Villasmil, E., Bolívar, J. S., Torres-Cepeda, D., & Reyna-Villasmil, N. (2010). Perfil lipídico en mujeres obesas y no obesas con síndrome de ovarios poliquísticos tratadas con metformina. *Endocrinología y nutrición*, 57(6), 262-267.
50. Renna, N., Vázquez, M., González, S., Lama, C., Cruzado, M., & Miatello, R. (2007). Expresión vascular de factores de transcripción proinflamatorios en un modelo de síndrome metabólico. *Revista argentina de cardiología*, 75(1), 36-41.
51. Reyes, M. J. (2012). Características biológicas del tejido adiposo: el adipocito como célula endocrina. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 136-144.
52. Reyes, J. A. O., & Plancarte, A. A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9-18.
53. Ríos, M. S., & Angosto, M. C. (2015). Resistencia a la insulina, inflamación y obesidad. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.
54. Riveros, M. J., Parada, A., & Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud: malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Nutrición Hospitalaria*, 29(3), 491-499.
55. Rodríguez-Rivera, N. S., Cautle-Rodríguez, P., & Molina-Guarneros, J. A. (2017). Oral hypoglycemic agents for the treatment of diabetes mellitus type 2: use and regulation in Mexico. *Revista del Hospital Juárez de México*, 84(4), 203-211.
56. Ruiz-Álvarez, Vladimir, Rodríguez Enriquez, Yanik, & Hernández-Triana, Manuel. (2006). Infección por *Helicobacter pylori* y diabetes en adultos cubanos. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(1).

57. Sánchez, L. P. (2008). Sulfonilureas en el tratamiento del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y Nutrición*, 55, 17-25.
58. Sandoval-Muñiz, R. D. J., Vargas-Guerrero, B., Flores-Alvarado, L. J., & Gurrola-Díaz, C. M. (2016). Glucotransporters: clinical, molecular and genetic aspects. *Gaceta medica de Mexico*, 152(4), 547-557.
59. Saxena, P., Prakash, A., & Nigam, A. (2010). Effect of metformin therapy on 2-h post-glucose insulin levels in patients of polycystic ovarian syndrome. *Journal of human reproductivesciences*, 3(3), 139.
60. Serna, D. C., & Martínez, M. G. C. (2006). Biguanidas. *Medicina Interna de México*, 22(5), 439-449.
61. Su, C. H., Liu, I. M., Chung, H. H., & Cheng, J. T. (2009). Activation of I2-imidazoline receptors by agmatine improved insulin sensitivity through two mechanisms in type-2 diabetic rats. *Neuroscienceletters*, 457(3), 125-128.
62. Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine*, 237(5), 481-490.
63. Torre, E. M., Tejedor, F. J. L., Menéndez, S. A., Núñez, J. M., García, Á. A., Domingo, M. P., & Fernández-Santos, C. M. (2011). Recomendaciones para el tratamiento farmacológico de la hiperglucemia en la diabetes tipo 2. *Atención Primaria*, 43(4), 202-e1.
64. Vélez S, Gómez L, Tapia D, Guerrero E, Morán J. (2015). “Estandarización del Modelo de Diabetes Experimental Inducida por Estreptozotocina en Ratas Sprague-Dawley”. *Revmédciént*. 28(1):4-13.
65. Wiebe, J. C., Wägner, A. M., & Novoa Mogollón, F. J. (2011). Genética de la diabetes mellitus. *Nefrología*, 2(1), 111-119.
66. Zamora, D., Chávez, N. C., & Méndez, N. (2004). Mecanismos moleculares de resistencia a la insulina. *Médica Sur MG*, 11, 149-156.