



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESTUDIO CRÓNICO DEL EFECTO  
HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE  
*Calea urticifolia* (MILL.) DC. EN RATAS STZ-NA**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**GONZÁLEZ DÍAZ ANAHI ELIZABETH**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DR. ADOLFO ANDRADE CETTO  
CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX., 2023**



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

González

Díaz

Anahi Elizabeth

5617377558

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

313295070

2. Datos tutor

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

3. Datos sinodal 1

Dra.

Nadia Judith

Jacobo

Herrera

4. Datos sinodal 2

Dr.

Rolando Efraín

Hernández

Muñoz

5. Datos sinodal 3

Dr.

René de Jesús

Cárdenas

Vázquez

6. Datos sinodal 4.

Dra.

Fernanda Artemisa

Espinoza

Hernández

7. Datos de trabajo escrito

Estudio crónico del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Calea urticifolia* (Mill.) DC.  
en ratas STZ-NA.

82 p

2023

## Agradecimientos profesionales

A la Universidad Nacional Autónoma de México por formarme como profesionista y como persona, por todos los profesores y amigos que conocí a lo largo de mi paso por la máxima casa de estudios.

Al programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por los apoyos económicos brindados para la realización de esta tesis (no. de proyectos: IN213222 e IN226719).

A mi asesor, el Dr. Adolfo Andrade Cetto, por darme la oportunidad de ser parte del laboratorio de Etnofarmacología, por los consejos, el apoyo y la paciencia que me brindó a lo largo de toda mi investigación.

A la Dra. Nadia Judith Jacobo Herrera, al Dr. Rolando Efraín Hernández Muñoz y al Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez, por aceptar ser parte de mi jurado y por el tiempo dedicado a la revisión de esta investigación.

A la Dra. Sonia Escandón Rivera, por todas las enseñanzas dentro del laboratorio y por su amabilidad al resolver todas mis dudas.

A mis profesores: la Dra. Fernanda Artemisa Espinoza Hernández, quien me guió desde el inicio de la presente investigación, muchas gracias por el tiempo y la paciencia que dispuso en el desarrollo y la revisión de este trabajo. Al M.C. Gerardo Mata Torres, a la M.C. Daniela Moreno Vargas y a la M.C. Jazmín Samario Román, por la dedicación con la que me transmitieron los conocimientos teóricos y experimentales, por los consejos y por su siempre disposición.

Finalmente al M.C. Christian Alan Cabello, por recibirme siempre con entusiasmo en el bioterio, por todas y cada una de las enseñanzas y sobre todo, por transmitirme el gran amor y cuidado por los animales.

Sin duda alguna, todos y cada uno ustedes son el claro ejemplo de lo que es ser un excelente docente y un grandioso ser humano. Muchas gracias por apoyarme en todo momento. Por siempre les estaré infinitamente agradecida.

## Agradecimientos a título personal

A mi mami Adela, la mujer más noble de todo el universo, ninguna palabra será suficiente para agradecer todo el amor y apoyo que nos has brindado a mi hermana y a mí durante todo este tiempo, gracias por tu fortaleza, valentía y generosidad, porque gracias a eso me he levantado en los momentos más difíciles. Nosotras más que nadie sabemos que el camino no ha sido fácil y a pesar de eso, nunca nos has dejado solas, ni mucho menos, te has dado por vencida.

A mi hermana Diana, por aconsejarme, escucharme y levantarme los ánimos cuando ya no podía más. Mi mami y tú siempre serán mis motivos más grandes para seguir adelante. Sin ustedes yo no sería nada de lo que soy ahora, este logro es de ustedes. Hoy y siempre las amo con todo mi corazón.

A mi primo Flavio, eres como el hermano mayor que nunca tuvimos, gracias por todo tu apoyo.

A uno de los hombres que más admiro y respeto, mi tío Ricardo, muchas gracias por motivarme, apoyarme y aconsejarme desde la distancia, siempre le estaré infinitamente agradecida.

A mi abuelito Adul, el hombre más fuerte y admirable en toda la historia de la humanidad.

Al chico más inteligente y con los ojos más preciosos de todo el multiverso, Antonio, usted fue una de las primeras personas en motivarme para seguir con mi formación académica y sin duda ha sido parte de esta larga y gran travesía, gracias por impulsarme a ser una mejor persona y a seguir mis sueños, gracias por todo su tiempo, amor, paciencia y consejos. Le adoraré con todo mi corazón hasta el fin del universo.

A mi mejor amiga Fany, gracias por escucharme y apoyarme, sabes que siempre estaré ahí para ti. A mis amigas del CCH oriente, Coko, Liz y Karen. A mis biólogas favoritas Paloma y Jaqueline, gracias por todos los momentos que compartimos y por su sincera amistad. Las quiero con todo mi corazón.

A Adán, gracias por aconsejarme en uno de los momentos menos agradables de mi existencia, por hacerme reír y sobre todo, por escucharme cuando más lo necesitaba, eres un gran amigo.

Finalmente a una de las personas más importantes y más inesperadas que me dejó este proyecto, mi amigo Flavio, amigo, eres una de las personas más lindas que he conocido, siempre tan optimista, alegre, amable y sobre todo valiente, no tengo palabras para agradecerte todo el apoyo que me has brindado, quiero que sepas que te apoyaré en todo lo que necesites todo el tiempo que esté en este mundo, gracias por hacer de este proyecto una realidad y por hacer todos y cada uno de mis días de experimentación más amenos, muchísimas gracias. Te quiero muchísimo.

## Índice

Índice de figuras.....	VI
Índice de tablas.....	VI
Índice de gráficas .....	VI
Abreviaturas.....	VII
Resumen.....	IX
Introducción .....	1
Antecedentes.....	3
<b>1. Diabetes Mellitus.....</b>	<b>3</b>
a) Definición .....	3
b) Prevalencia a nivel mundial y en México.....	3
c) Tipos de diabetes .....	4
<b>2. Diabetes mellitus tipo 2.....</b>	<b>6</b>
a) Fisiopatología.....	6
b) Complicaciones .....	10
c) Pruebas de diagnóstico.....	11
d) Hipoglucemiantes orales.....	13
e) Mecanismo de acción de la glibenclamida .....	17
f) Mecanismo de acción de la metformina.....	18
<b>3. Modelos de diabetes mellitus.....</b>	<b>21</b>
a) Modelo STZ-NA.....	22
<b>4. El papel de la etnofarmacología.....</b>	<b>26</b>
<b>5. Plantas hipoglucemiantes .....</b>	<b>28</b>
<b>6. <i>Calea urticifolia</i> (Mill.) DC.....</b>	<b>30</b>
a) Taxonomía .....	30
b) Antecedentes etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos.....	31
<b>Justificación.....</b>	<b>37</b>
<b>Objetivos .....</b>	<b>38</b>
<b>Hipótesis.....</b>	<b>39</b>
<b>Metodología .....</b>	<b>40</b>
1. Colecta de <i>C. urticifolia</i> .....	40
2. Preparación y cálculo de dosis del extracto acuoso de <i>C. urticifolia</i> .....	41
3. Animales experimentales.....	42
a) Inducción del modelo STZ-NA .....	42
b) Administración de los tratamientos a los grupos experimentales.....	43
c) Evaluación de niveles de glucosa, triglicéridos y porcentaje de HbA1c .....	43
d) Análisis estadístico .....	44
<b>Resultados.....</b>	<b>45</b>
1. Glucosa plasmática .....	45
2. Hemoglobina glicada (HbA1c) .....	48
3. Triglicéridos.....	50
<b>Discusión .....</b>	<b>53</b>
<b>Conclusiones y perspectivas .....</b>	<b>68</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>69</b>

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Mapa que muestra el número de personas con diabetes en todo el mundo y por región de la Federación Internacional de Diabetes en 2021 y su proyección para el año 2030 y 2045.....	4
<b>Figura 2.</b> Fisiopatología de la DMT2.....	6
<b>Figura 3.</b> Resistencia a la insulina inducida por ácidos grasos libres (AGL) a través del estrés de retículo endoplásmico (RE) y estrés oxidativo. ....	8
<b>Figura 4.</b> Principales órganos blanco y acción de los hipoglucemiantes orales utilizados en el tratamiento de la DMT2.....	14
<b>Figura 5.</b> Mecanismo de secreción de la insulina estimulada por la glibenclamida. ....	18
<b>Figura 6.</b> Mecanismo de acción de la metformina en el hepatocito. ....	20
<b>Figura 7.</b> Mecanismo de acción de STZ y NA en la célula $\beta$ pancreática. ....	23
<b>Figura 8.</b> Estructura química de la estreptozotocina (STZ). ....	24
<b>Figura 9.</b> Estructura química de la nicotinamida (NA).....	25
<b>Figura 10.</b> Mapa de distribución de <i>C. urticifolia</i> (Mill.) DC. ....	30
<b>Figura 11.</b> <i>C. urticifolia</i> (Mill.) DC. ....	31
<b>Figura 12.</b> Estructuras de lactonas sesquiterpénicas de <i>C. urticifolia</i> (Mill.) DC. ....	33
<b>Figura 13.</b> Sitio de colecta de <i>C. urticifolia</i> en la comunidad de Tamala, Hidalgo. ....	40
<b>Figura 14.</b> Proceso de elaboración del extracto de <i>C. urticifolia</i> .....	41
<b>Figura 15.</b> Cronograma de evaluación de parámetros durante los 42 días del experimento. ....	44

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Criterios diagnósticos de diabetes y prediabetes avalados por la Asociación Americana de Diabetes (AAD). ....	13
<b>Tabla 2.</b> Modelos animales experimentales de diabetes mellitus tipo 2. ....	22
<b>Tabla 3.</b> Grupos experimentales y dosis diarias de administración de tratamientos.....	43
<b>Tabla 4.</b> Valores promedio de glucosa plasmática.....	45
<b>Tabla 5.</b> Valores promedio de HbA1c. ....	48
<b>Tabla 6.</b> Valores promedio de triglicéridos.....	50

## Índice de gráficas

<b>Gráfica 1.</b> Valores promedio de glucosa plasmática.....	46
<b>Gráfica 2.</b> AUC de glucosa plasmática. ....	47
<b>Gráfica 3.</b> Valores promedio de HbA1c. ....	49
<b>Gráfica 4.</b> Valores promedio de triglicéridos.....	51
<b>Gráfica 5.</b> AUC de triglicéridos. ....	52

## Abreviaturas

<b>AAD</b>	Asociación Americana de Diabetes
<b>ACC</b>	acetil-coenzima-A-carboxilasa
<b>AG</b>	ácidos grasos
<b>AGEs</b>	productos finales de glicación avanzada
<b>AGL</b>	ácidos grasos libres
<b>AGSL</b>	ácidos grasos saturados
<b>AGTL</b>	ácidos grasos insaturados
<b>AKT</b>	proteína cinasa B
<b>AMP</b>	adenosina monofosfato
<b>AMPK</b>	proteína cinasa activada por el adenosín monofosfato
<b>ATP</b>	adenosina trifosfato
<b>AUC</b>	área bajo la curva
<b>CEARC</b>	Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica
<b>DL<sub>50</sub></b>	dosis letal media
<b>DM</b>	diabetes mellitus
<b>DMT2</b>	diabetes mellitus tipo 2
<b>DPP-4</b>	enzima dipeptidil peptidasa 4
<b>EMA</b>	Agencia de Medicina Europea
<b>ERK1/2</b>	proteínas cinasas reguladas por señales extracelulares 1/2
<b>ERO</b>	especies reactivas de oxígeno
<b>F1,6Pasa</b>	fructosa-1,6-bisfosfatasa
<b>FDA</b>	Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos
<b>FID</b>	Federación Internacional de Diabetes
<b>G6Pasa</b>	enzima glucosa 6-fosfatasa
<b>GIP</b>	polipéptido insulínotropico dependiente de glucosa
<b>GLP-1</b>	peptido similar al glucagón tipo 1
<b>GLU</b>	glucosa
<b>GLUT2</b>	transportador de glucosa tipo 2
<b>GLUT4</b>	transportador de glucosa tipo 4
<b>GMPc</b>	guanosín monofosfato cíclico
<b>GP</b>	glucosa plasmática
<b>GPA</b>	glucemia plasmática en ayunas
<b>H</b>	control hiperglucémico
<b>HbA1c</b>	hemoglobina glicada
<b>HE</b>	control hiperglucémico + extracto de <i>Calea urticifolia</i>
<b>HF</b>	control hiperglucémico + fármaco metformina/glibenclamida
<b>i.p.</b>	intraperitoneal
<b>i.v.</b>	intravenoso
<b>IKK<math>\beta</math></b>	cinasa de Ik $\beta$
<b>IL-1<math>\beta</math></b>	interleucina 1 Beta
<b>IL-6</b>	interleucina 6
<b>IMSS</b>	Instituto Mexicano del Seguro Social
<b>INS</b>	insulina

<b>IRS1</b>	sustrato de receptor de insulina 1
<b>ISGLT-2</b>	inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2
<b>JNK</b>	cinasa amino terminal de c-Jun
<b>N</b>	control normoglucémico
<b>NA</b>	nicotinamida
<b>NAD<sup>+</sup></b>	nicotinamida adenina dinucleótido
<b>NADH</b>	dinucleótido de nicotinamida y adenina
<b>NAMPT</b>	nicotinamida fosforribosil transferasa
<b>NO</b>	óxido nítrico
<b>NOM</b>	Norma Oficial Mexicana
<b>NOX</b>	enzima NADPH oxidasa
<b>OCT-1</b>	transportador 1 de catión orgánico
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>ONU</b>	Organización de las Naciones Unidas
<b>p.c.</b>	peso corporal
<b>p38</b>	proteína cinasa activada por mitógenos de 38 KDa
<b>PARP-1</b>	poli- ADP ribosa polimerasa 1
<b>PDK1</b>	proteína cinasa dependiente de fosfoinosítidos 1
<b>PDK2</b>	proteína cinasa dependiente de fosfoinosítidos 2
<b>PEPCK</b>	fosfoenolpiruvato carboxicinas
<b>PI3K</b>	proteína cinasa de fosfatidilinositol 3
<b>PIP2</b>	fosfatidilinositol-4,5-bifosfato
<b>PIP3</b>	fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato
<b>PKA</b>	proteína cinasa dependiente de AMPc
<b>PKC</b>	proteína cinasa C
<b>PPAR<math>\gamma</math></b>	proliferadores de peroxisoma gamma
<b>PTGO</b>	prueba de tolerancia a la glucosa oral
<b>RE</b>	retículo endoplásmico
<b>RI</b>	resistencia a la insulina
<b>S</b>	serina
<b>SGLT2</b>	co-transportadores sodio-glucosa 2
<b>STZ</b>	estreptozotocina
<b>TG</b>	triglicéridos
<b>TNF-<math>\alpha</math></b>	factor de necrosis tumoral alfa
<b>TZDs</b>	tiazolidinedionas
<b>VLDL</b>	lipoproteína de muy baja densidad
<b>Y</b>	tirosina

## Resumen

La diabetes mellitus es una enfermedad que afecta a millones de personas en el mundo cada año, siendo una de las principales causas de muerte a nivel mundial. Esta enfermedad está categorizada en cuatro tipos, siendo la diabetes mellitus tipo 2 la de mayor prevalencia y que ocasiona múltiples complicaciones crónicas, las cuales consumen la mayor parte del presupuesto de salud pública en México.

Debido a lo anterior, la elaboración de nuevos fármacos que disminuyan los efectos negativos de la enfermedad ha cobrado importancia en los últimos años, con el propósito de aumentar la calidad de vida del paciente. Cabe destacar que, en países como el nuestro, la medicina tradicional ha jugado un papel muy importante desde tiempos prehispánicos y, actualmente, la etnofarmacología nos ayuda a comprender mejor los elementos usados en esta práctica humana. La etnofarmacología es la ciencia que recopila información sobre la forma de preparación y las indicaciones terapéuticas de los tratamientos medicinales de las comunidades rurales, indagando con mayor profundidad en sus características químico-biológicas.

En este contexto, *Calea urticifolia* (Mill.) DC. es un arbusto que pertenece a la familia Asteraceae que se distribuye desde México hasta Panamá, y forma parte de la medicina tradicional mexicana puesto que se utiliza para tratar diferentes enfermedades como artritis, cáncer, diabetes, fiebre, tos, vómito, gastritis, úlceras gástricas, procesos inflamatorios, para el destete de niños y sanar llagas, entre otros, su uso etnobotánico se ha reportado en Chiapas, Durango, Guadalajara, Hidalgo, Oaxaca, Puebla y San Luis Potosí. Anteriormente en el laboratorio de Etnofarmacología, Facultad de Ciencias, UNAM se llevaron a cabo estudios en los que se comprobó el efecto hipoglucemiante agudo de *C. urticifolia* en el modelo STZ-NA, así como la identificación de algunos de los compuestos químicos posiblemente involucrados en el mecanismo hipoglucemiante de esta especie. Sin embargo, no hay estudios que ratifiquen que este efecto pueda mantenerse de forma crónica.

Debido a lo anterior, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto crónico hipoglucemiante del extracto acuoso de *C. urticifolia* sobre los siguientes parámetros

metabólicos: glucosa, triglicéridos y hemoglobina glicada (HbA1c). El extracto fue administrado durante 42 días a ratas hiperglucémicas inducidas con un modelo utilizado para simular algunas características de la diabetes mellitus tipo 2 (STZ-NA, propuesto por Masiello y colaboradores en 1998). Este estudio se llevó a cabo de forma crónica considerando que en las comunidades rurales los tratamientos medicinales se administran de esta manera y porque permite conocer el impacto que tiene el tratamiento sobre los parámetros aquí evaluados, así como sus posibles efectos adversos a largo plazo.

Con base en los resultados de este estudio, se observó que en el día 42 el extracto acuoso de *C. urticifolia* redujo los niveles de glucosa plasmática en un 31% y evitó significativamente el aumento en un 3% de la HbA1c respecto al grupo hiperglucémico, mientras que no presentó efecto alguno sobre los niveles de triglicéridos.

En conclusión, se observó un efecto hipoglucemiante crónico del extracto de *C. urticifolia* que se tradujo en una reducción significativa de la HbA1c, de igual forma se presentó la evidencia de que su administración en una dosis tradicional evitó que los niveles de glucosa plasmática aumentaran desde el inicio del tratamiento y hasta su finalización. Lo que nos indica que, a pesar de la intervención tardía con *C. urticifolia* en personas diabéticas no controladas, los niveles de glucosa pueden ser mejor controlados gracias a que evito el aumento en la HbA1c y la glucosa plasmática. Estos efectos ayudarían a retrasar la aparición o el desarrollo de las complicaciones asociadas a la DMT2. El efecto hipoglucemiante se asoció a compuestos como la rutina y el ácido clorogénico presentes en este extracto que pueden regular el metabolismo de la glucosa a través de varios mecanismos.

## Introducción

La diabetes mellitus (DM) es uno de los mayores problemas de salud a nivel mundial, no sólo por sus altos índices de prevalencia, sino también por los altos costos que genera en la economía de las familias y de los países. La DM se define como un síndrome o conjunto de enfermedades caracterizadas por hiperglucemia crónica, ocasionada por diversos factores, entre los que se encuentran los genéticos, epigenéticos y ambientales, que ocasionan defectos en la secreción o acción de la insulina, o en ambos (Couselo-Fernández & Rumbo-Prieto, 2018). Además de los síntomas clásicos de este padecimiento (poliuria, polidipsia, polifagia y la pérdida de peso), se presentan otros cuadros metabólicos como la hiperglucemia hiperosmolar no cetónica; además de comorbilidades como la obesidad, la hipertensión y la dislipidemia (Bravo-Mediavilla, 2002).

La hiperglucemia crónica no controlada acelera la aparición de complicaciones microvasculares y macrovasculares que dañan la calidad de vida del paciente, por lo que los objetivos del tratamiento de la DM son prevenirlas o retrasarlas. Actualmente se dispone de un amplio arsenal terapéutico de fármacos que actúan por diferentes mecanismos, lo que permite potenciar su efecto hipoglucemiante y facilitar el control glucémico (Gallardo-Jiménez et al., 2020).

No obstante, en las comunidades rurales, las personas consideran a la medicina tradicional como la principal opción para tratar sus padecimientos. Aproximadamente el 80% de la población mexicana hace uso frecuente de la herbolaria. De las 4500 plantas medicinales estimadas, 3000 están registradas en el herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), y sólo 5% cuentan con análisis farmacológicos. Por otro lado, de las 250 especies comercializadas de manera cotidiana, más del 85% provienen de la recolección sin planes de manejo sustentables (CONABIO, 2020). Esto es un indicador de que la utilización de plantas medicinales ha aumentado de forma exponencial tanto para mejorar el estado de salud, como para tratar enfermedades crónicas, siendo la DM una de ellas. Sin embargo, en el contexto de este crecimiento, perdura la incertidumbre sobre la eficacia y seguridad de la gran cantidad de plantas medicinales que existen (Gallego & Ferreira, 2015).

*Calea L.* es un género muy conocido que consta de aproximadamente 125 especies. Algunas de ellas se han utilizado en la medicina popular para tratar varios problemas de salud como diabetes, hipertensión arterial, trastornos respiratorios y gastrointestinales (Cardoso-Lima et al., 2018).

Una de estas especies es *Calea urticifolia* (Mill.) DC., la cual ha sido estudiada en el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias de la UNAM. Recientemente se evaluó el efecto hipoglucémico agudo del extracto acuoso a dosis tradicionales sobre el modelo STZ-NA en ratas Wistar. Esto se llevó a cabo a través de pruebas de tolerancia a la glucosa, analizando el efecto *in vivo* e *in vitro* sobre la absorción de glucosa intestinal y la producción de glucosa hepática. En dicho estudio se concluyó que uno de los mecanismos que contribuyen a su actividad hipoglucémica es la inhibición de la gluconeogénesis hepática (Andrade-Cetto et al., 2021).

Por otro lado, Guzmán (2010) demostró que el extracto etanólico de *C. urticifolia* inhibe la secreción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y la interleucina-6 (IL-6), inducidas por la ingesta de una dieta rica en grasas en ratas de la cepa Wistar. Asimismo, Ortiz-Segura (2011) corroboró el efecto hipoglucemiante, hipolipemiante y antiinflamatorio del extracto de *C. urticifolia*, mediante la valoración de concentración de insulina, adipocinas y citocinas proinflamatorias. No obstante, a pesar de que existe evidencia científica del efecto hipoglucemiante de esta especie, no existen estudios de su efecto a largo plazo sobre parámetros como la glucosa plasmática, HbA1c y triglicéridos por lo tanto, en la presente investigación, se evaluó el efecto crónico del extracto acuoso de *C. urticifolia* sobre los parámetros mencionados anteriormente en el modelo de hiperglucemia STZ-NA.

## Antecedentes

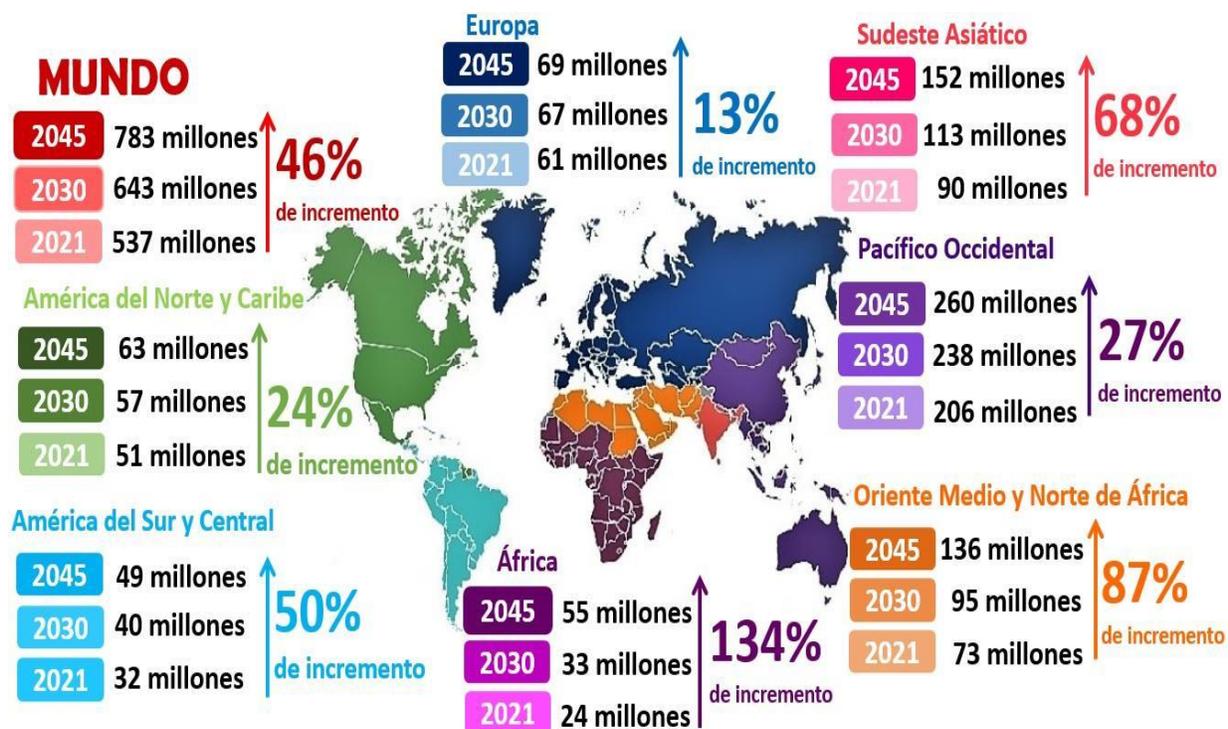
### 1. Diabetes Mellitus

#### a) Definición

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de trastornos metabólicos de numerosas etiologías caracterizados por elevados niveles de glucosa en sangre (hiperglucemia) e intolerancia a la insulina. La afección surge debido a la alteración metabólica de carbohidratos, lípidos y proteínas ocasionada por la insuficiencia en la secreción o acción de la insulina (Sen et al., 2016). A largo plazo, los altos niveles de glucosa están asociados a complicaciones microvasculares y macrovasculares que conducen a enfermedades cardíacas, cerebrovasculares, ceguera y enfermedades renales (Ullah et al., 2016).

#### b) Prevalencia a nivel mundial y en México

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que la prevalencia de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es alta y va incrementándose en todas las regiones, tanto es así que para el año 2030 esta enfermedad generará un costo de 893 000 millones de dólares a nivel mundial (Monterrubio-Angulo et al., 2018). En 2021, la Federación Internacional de Diabetes (FID) calculó que 537 millones de adultos de un rango de edad de 20 a 79 años la padecen y, actualmente, nuestro país ocupa el séptimo lugar de diabetes a nivel mundial (FID, 2021). Por otra parte, se calcula que para el año 2045 habrá un incremento del 24% en la prevalencia de esta enfermedad en América del Norte y el Caribe, lo que pone en riesgo a 63 millones de personas, mientras que a nivel global se prevé que 783 millones de adultos tendrán diabetes (**Figura 1**) (FID, 2021).



**Figura 1.** Mapa que muestra el número de personas con diabetes en todo el mundo y por región de la Federación Internacional de Diabetes en 2021 y su proyección para el año 2030 y 2045. Imagen tomada y modificada del Atlas de la Diabetes de la FID, (2021).

### c) Tipos de diabetes

La Asociación Americana de Diabetes (AAD, 2022) clasifica a la DM en cuatro tipos de acuerdo a su origen:

- **Diabetes mellitus tipo 1.** Anteriormente denominada diabetes insulino dependiente o juvenil. Representa sólo el 10% de los casos en todo el mundo. Se caracteriza por la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas endocrino, lo que conlleva a la absoluta deficiencia de insulina. Regularmente se asocia a individuos sin una historia familiar de diabetes (Paschou et al., 2018).
- **Diabetes mellitus tipo 2.** Conocida anteriormente como diabetes no insulino dependiente o del adulto. Es la de mayor incidencia y se distingue por una afección denominada resistencia a la insulina (RI), y por la pérdida progresiva de la secreción de insulina debido a una disfunción de las células  $\beta$  pancreáticas.

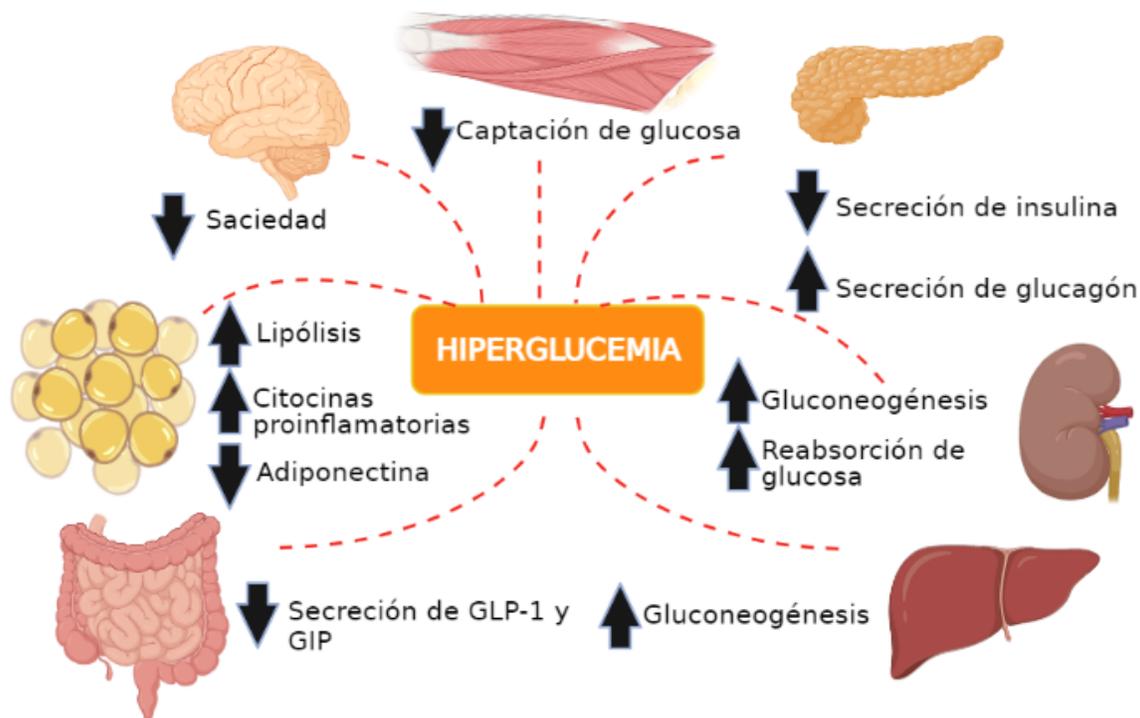
- **Diabetes gestacional.** Se caracteriza por hiperglucemia durante el embarazo y es diagnosticada durante el segundo o tercer trimestre. Las mujeres que padecieron diabetes durante su embarazo pueden desarrollar DMT2 durante los próximos años. La prevalencia varía del 1 al 14 % en todo el mundo. Entre los factores de riesgo asociados a la evolución de diabetes gestacional están el sobrepeso, multiparidad, antecedente de intolerancia a la glucosa, afecciones obstétricas graves, grupo o raza étnica, edad, antecedentes de DM de manera directa, abortos previos, etc. (Medina et al., 2017).
- **Tipos específicos de diabetes por otras causas.** En este tipo se encuentran síndromes de diabetes monogénica, enfermedades del páncreas exocrino (fibrosis quística) y diabetes inducida por fármacos o algunos productos químicos como son los glucocorticoides, tratamientos para el VIH/SIDA o después de algún trasplante de órgano (AAD, 2020).

## 2. Diabetes mellitus tipo 2

La DMT2 es la forma más prevalente de diabetes (90%-95%) y el riesgo de desarrollarla aumenta proporcionalmente con la edad, la obesidad y el sedentarismo. Esta enfermedad resulta de la asociación de RI y secreción compensatoria deficiente de insulina, con posible predominio de alguna de las dos condiciones, aunque ambas son necesarias (Vidal-Puig et al., 2014).

### a) Fisiopatología

El conocimiento actual indica que múltiples defectos fisiopatológicos subyacen a la DMT2, de los cuales son reconocidos al menos ocho: RI, alteración de la secreción de insulina, alteración de la supresión de glucagón, aumento de la lipólisis, producción elevada de glucosa hepática, deficiencia/resistencia a la incretina, reabsorción de glucosa renal y defectos del sistema nervioso central (incluyendo alteración del tono dopaminérgico y desregulación de la saciedad) (Dagogo-Jack, 2017) (**Figura 2**).



**Figura 2.** Fisiopatología de la DMT2.

Los principales defectos fisiopatológicos que conducen al desarrollo y progresión de la diabetes tipo 2 afectan a diferentes órganos y tejidos, ocasionados por la hiperglucemia crónica a la que están expuestos. Imagen tomada y modificada de Dagogo-Jack, (2017). Creada en Biorender.com

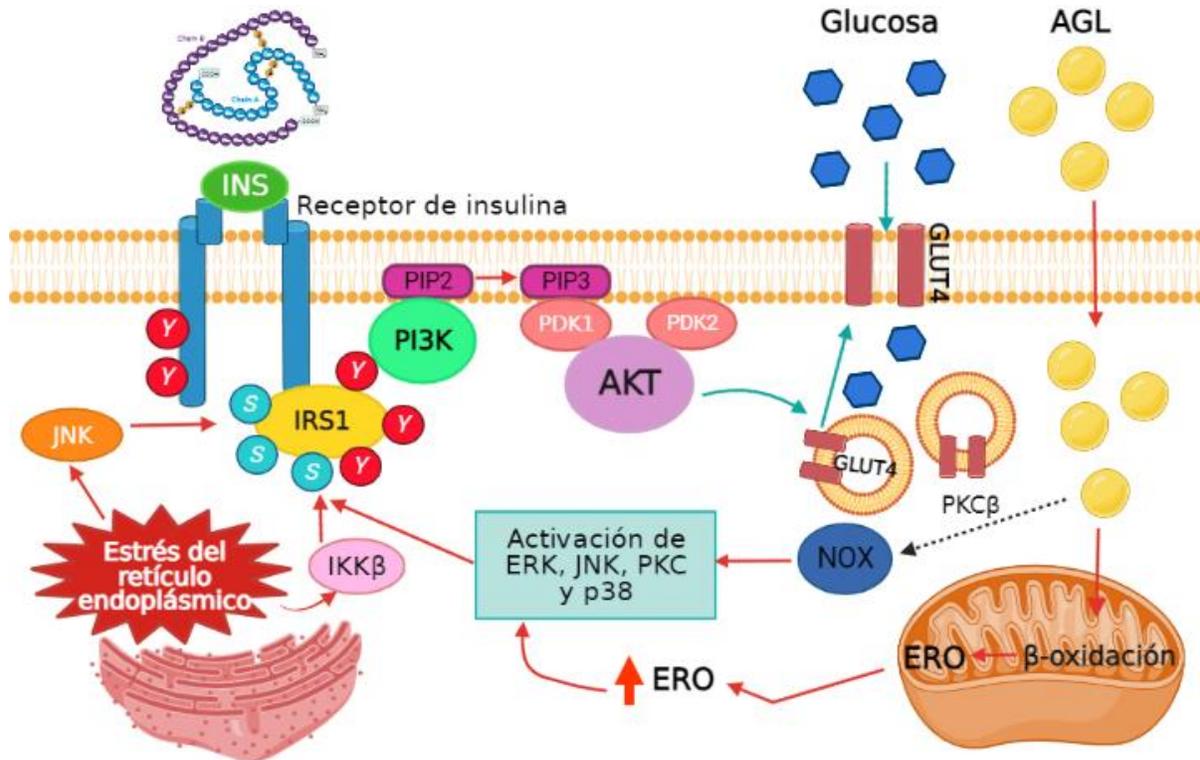
La DMT2 se define como una enfermedad progresiva caracterizada por RI e insuficiencia y falla de la célula  $\beta$  pancreática que da como resultado un estado hiperglucémico crónico. La disfunción de las células  $\beta$  se atribuye a una predisposición genética en el contexto de hábitos de vida poco saludables, que conduce a la pérdida de masa celular, la cual está asociada con la falla en la secreción de insulina y la RI. En particular, los polimorfismos en el gen TCF7L2 en la célula  $\beta$  pancreática se han relacionado con una pérdida progresiva de secreción de insulina y el desarrollo de DMT2 debido a una respuesta alterada de las hormonas incretinas como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) (Gómez-Peralta et al., 2020).

En la DMT2 se lleva implícito un fenómeno de disfunción de la célula  $\beta$  pancreática como consecuencia de la glucolipototoxicidad a la que es expuesta y que conlleva finalmente a la apoptosis con pérdida de la masa de células  $\beta$ , dejando de igual forma a las células  $\alpha$  carentes de la inhibición paracrina por parte de la insulina (Lima-Martínez et al., 2011).

Por otro lado, se define como RI a la disminución de la acción de la insulina a nivel de células blanco, lo que produce alteraciones en el metabolismo glucídico, lipídico y proteico principalmente en tejidos muscular, adiposo y hepático. Para contrarrestar la RI, el páncreas aumenta la secreción de insulina produciendo un estado de hiperinsulinismo compensatorio, pero con el tiempo la célula  $\beta$  pierde su capacidad para mantener la hiperinsulinemia, produciéndose un déficit de insulina y la aparición de la hiperglucemia, lo que deriva en DMT2 (Pollack, 2016). Cabe resaltar que la RI suele formar parte de otras patologías como el síndrome metabólico, y está asociada con el sobrepeso y la obesidad.

Los ácidos grasos (AG) son utilizados como la principal fuente energética del organismo durante periodos de ayuno o cuando no existe suficiente glucosa. Sin embargo, cuando los valores de ácidos grasos libres (AGL) son elevados, como en el caso de la obesidad, se induce un estado de lipotoxicidad que lleva a la activación de distintas respuestas celulares asociadas a la RI, como el estrés oxidativo, estrés del retículo endoplásmico (RE), apoptosis e inflamación (**Figura 3**). Entre los AGL identificados como principales causantes de estas respuestas celulares, se encuentran los ácidos grasos saturados (AGSL), es decir, aquellos que contienen

únicamente enlaces simples, así como los insaturados con los dobles enlaces dispuestos en posición *trans* (AGTL, Vázquez-Jiménez et al., 2017).



**Figura 3.** Resistencia a la insulina inducida por ácidos grasos libres (AGL) a través del estrés de retículo endoplásmico (RE) y estrés oxidativo.

Los AGL provocan un aumento en el estrés oxidativo por el incremento en la  $\beta$ -oxidación. Adicionalmente, los AGL pueden activar a PKC $\beta$ , la cual induce la activación de la NOX y la producción de ERO. Una vez establecido, el estrés oxidativo activa múltiples cinasas de serina, como la ERK, JNK y p38, las cuales fosforilan el IRS1. Por otra parte, el estrés del RE provoca un aumento en las actividades de la JNK y la IKK $\beta$ , las cuales a su vez fosforilan a IRS1. La fosforilación de IRS1 en residuos de serinas se ha asociado a una disminución en su estado de fosforilación en tirosinas, lo que reduce su capacidad para interactuar con otras proteínas de señalización, alterándose principalmente la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K) /AKT, la cual modula la captación de glucosa en el músculo y tejido adiposo, participando en la translocación de GLUT4. AGL, ácidos grasos libres; AKT, proteína cinasa B; ERO, especies reactivas de oxígeno; ERK1/2, proteínas cinasas reguladas por señales extracelulares 1/2; GLUT4, glucotransportador de glucosa 4; INS, insulina; IKK $\beta$ , cinasa de IK $\beta$ ; IRS1, sustrato del receptor de la insulina 1; JNK, cinasa amino terminal de c-Jun; NOX, enzima NADPH oxidasa; p38, proteína cinasa activada por mitógenos de 38 KDa; PDK1, proteína cinasa dependiente de fosfoinosítidos 1; PDK2, cinasa dependiente de fosfoinosítidos 2; PI3K, cinasa de fosfatidilinositol 3; PIP2, fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato; PIP3, fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato; PKC, proteína cinasa C; RE, retículo endoplásmico; S, serina; Y, tirosina. Imagen tomada y modificada de Vázquez-Jiménez et al. (2017). Creada en Biorender.com

La RI en el tejido muscular y tejido adiposo disminuye la captación de glucosa. Esto refleja defectos en la señalización de la insulina que resultan del compromiso inherente o adquirido de la compleja cascada de eventos que siguen a la unión de la insulina a su receptor transmembranal (Krents, 2012). Esta alteración activa la proteína cinasa C (PKC) que a su vez activa a la cascada de la serina cinasa, llevando al incremento en la fosforilación de los residuos de serinas en el sustrato del receptor de insulina (IRS1). El incremento en la fosforilación de serinas impide la fosforilación de residuos de tirosinas en IRS1, lo cual, a su vez inhibe la actividad de la fosfoinositol-3-cinasa (PI3K) /AKT, determinando en última instancia la supresión del transporte de glucosa inducido por insulina (Cipriani & Quintanilla, 2010). Estos eventos traen como consecuencia una menor translocación del transportador de glucosa 4 (GLUT4) a la membrana celular.

De manera particular, la RI en el tejido adiposo ocasiona el aumento de ácidos grasos libres, es decir no esterificados, en la circulación (lipólisis) debido a que se ve alterado el efecto antilipolítico de la insulina, mientras que en el músculo esquelético hay una disminución en la síntesis y almacenamiento de glucógeno, debido a que el músculo no capta la glucosa por el efecto de los AGL (Carvajal-Carvajal, 2015).

Los factores mencionados anteriormente ocasionan una desregulación en la homeostasis de la glucosa que afecta a otros órganos y tejidos. En el riñón, continúa la reabsorción de glucosa, principalmente mediada por los co-transportadores sodio-glucosa 2 (SGLT2), lo que contribuye a perpetuar la hiperglucemia (Segura, 2016). Se ha observado que en los pacientes diabéticos hay un incremento en la actividad transportadora de SGLT2, lo que se traduce en un aumento de la reabsorción tubular de glucosa. Cabe resaltar que el 90% de la glucosa filtrada se reabsorbe por la alta capacidad de este transportador (Pérez-López et al., 2010).

En el hígado, la RI conduce a la incapacidad de la insulina para controlar la actividad de las enzimas gluconeogénicas, contribuyendo a un aumento de la producción de glucosa hepática y, por lo tanto, promoviendo niveles elevados de glucosa en sangre. En la diabetes, el aumento en la tasa de gluconeogénesis hepática contribuye significativamente a la hiperglucemia en el estado de ayuno (Barthel & Schmolli, 2003). Estos fenómenos se deben tanto a la reducción de la

actividad insulínica como al incremento relativo en la concentración de glucagón plasmático (Cipriani & Quintanilla, 2010). En pacientes obesos y con DMT2, el aumento de la grasa corporal y la tasa de lipólisis contribuyen al aumento en la disponibilidad de glicerol y AGL, que actúan como sustratos gluconeogénicos (Gastaldelli et al., 2000).

A largo plazo, los altos niveles de glucosa ocasionan glucotoxicidad, lo cual se asocia con las complicaciones microvasculares y macrovasculares, debido a que el exceso de glucosa activa otras rutas metabólicas, como la vía de los polioles y la formación de productos de glicación avanzada. Los cambios estructurales que dan lugar a estos compuestos tóxicos a menudo tardan meses o años, por lo que las proteínas y otras sustancias que tienen vida media larga son más susceptibles a ser modificadas por la exposición a la glucosa. Estas alteraciones producen defectos en la permeabilidad endotelial (Díaz-Casasola & Luna-Pichardo, 2016).

Asimismo, ante el estado de hiperglucemia crónica se da un incremento en la glicación de proteínas tisulares a nivel sistémico, lo cual genera el acúmulo tisular de productos finales de glicación avanzada (AGEs) y aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), favoreciendo el estrés oxidativo (Moreno-Barrio et al., 2019), el cual está asociado con RI mediante la inhibición de las señales de la insulina y la desregulación de adipocinas (Tangvarasittichai, 2015).

## **b) Complicaciones**

La DMT2 desarrolla, a lo largo de su evolución, una serie de complicaciones que determinan su grado de morbilidad y mortalidad. Por ello, encontrar nuevas estrategias para su prevención, control y tratamiento es prioritario (Torrades, 2006).

En la DM existe un estado de hiperglucemia, el cual está asociado con las diferentes complicaciones de la diabetes y están relacionadas con los diferentes estados de estrés oxidativo que se están suscitando (Storino et al., 2014). La hiperglucemia crónica induce la formación de AGEs que se unen a la superficie celular, provocando disfunción glomerular, endotelial y de la matriz extracelular. Asimismo, media la activación de PKC, la cual altera la producción de

fibronectina, colágeno tipo IV, proteínas contráctiles y de la matriz extracelular en las células endoteliales (García-Ocaña et al., 2020).

Los mecanismos que explican cómo la hiperglucemia y el estado metabólico propio de la DM en particular pueden generar daño y estrés oxidativo en órganos cuyas células no dependen prioritariamente de la insulina para la captación de glucosa (riñón, retina, cristalino y sistema nervioso) son: la autooxidación de la glucosa y otros mecanismos de daño tisular como la vía del sorbitol, la glicación de proteínas, la activación de la vía de los polioles y la disminución de las defensas antioxidantes (Hernández-García et al., 2017). Estos desequilibrios metabólicos causan alteración en la transducción de señales, como la alteración en la expresión de genes, y daño del endotelio, ocasionando una serie de complicaciones a las personas diabéticas (Díaz-Flores et al., 2004).

Las complicaciones pueden ser agudas, como la acidosis láctica y el estado hiperosmolar hiperglucémico, o crónicas, que se clasifican en microvasculares y macrovasculares. Las complicaciones microvasculares engloban el pie diabético, la retinopatía, nefropatía y neuropatía diabética, y habitualmente son asintomáticas hasta que alcanza un estado avanzado de daño (Molina-Escribano et al., 2012). Finalmente, las macrovasculares incluyen la cardiopatía isquémica, la enfermedad cerebrovascular y la enfermedad arterial periférica (Costo-Muriel et al., 2020).

### c) Pruebas de diagnóstico

El diagnóstico de la DM es indispensable en la prevención de las complicaciones asociadas a esta enfermedad, las cuales son causa principal de las altas tasas de mortalidad. Sin embargo, una condición previa que puede ser un factor determinante para padecer DM es la prediabetes, también denominada hiperglucemia intermedia, una afección comúnmente asintomática que se define por variables glucémicas que son más altas de lo normal, pero por debajo de los umbrales de la DM (Tabák et al., 2012) (**Tabla 1**).

Se sabe que existe una asociación entre la prediabetes y las complicaciones de la DM, por lo que varios estudios sugieren que cambiar el estilo de vida en adultos prediabéticos reduce el

riesgo de padecer diabetes en un 40%-70% (Bansal, 2015). En este sentido, el diagnóstico es una herramienta fundamental para la asignación de un adecuado tratamiento farmacológico al paciente. Los criterios para diagnosticar la DM de acuerdo con la AAD (2022) son los siguientes:

- **Glucemia al azar.** Se toman los niveles de glucosa plasmática (GP) en cualquier momento del día. Se diagnostica cuando los niveles son  $\geq 200$  mg/dl (11.1 mmol/L).
- **Glucemia plasmática en ayunas (GPA).** Para esta prueba, se requiere al menos un ayuno de 8 horas y se diagnostica cuando el nivel de glucosa es igual o superior a 126 mg/dl (7.0 mmol/L).
- **Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO).** En esta prueba, el nivel de glucosa en plasma se mide antes y 2 horas después de la ingestión de 75 g de glucosa. La DM se diagnostica si el nivel de GP es superior a los 200 mg/dl (11.1 mmol/L). Los pacientes tienen que consumir una dieta con al menos 150 g por día de carbohidratos durante 3 a 5 días y no tomar ningún medicamento que afecte la tolerancia a la glucosa, como esteroides y diuréticos tiazídicos (Goyal & Jialal, 2018).
- **Hemoglobina glicada fracción A1c (HbA1c).** Es una prueba estandarizada y realizada en el laboratorio, en la cual los niveles  $\geq 6.5\%$  (48 mmol/mol) indican el diagnóstico de DM (Gil-Velázquez et al., 2013). La HbA1c es una proteína globular derivada de la adición no enzimática de glucosa al grupo amino de la hemoglobina, específicamente a la valina N-terminal de la cadena  $\beta$  de la hemoglobina. Su concentración depende tanto de la concentración de la glucosa en sangre y la vida media de los eritrocitos. Debido a que la vida media de éstos es de aproximadamente 120 días, la HbA1c representa la glucemia de las 8-12 semanas previas, siendo libre de las fluctuaciones que ocurren diariamente en las concentraciones de la glucosa sérica (Juárez-López, 2015).

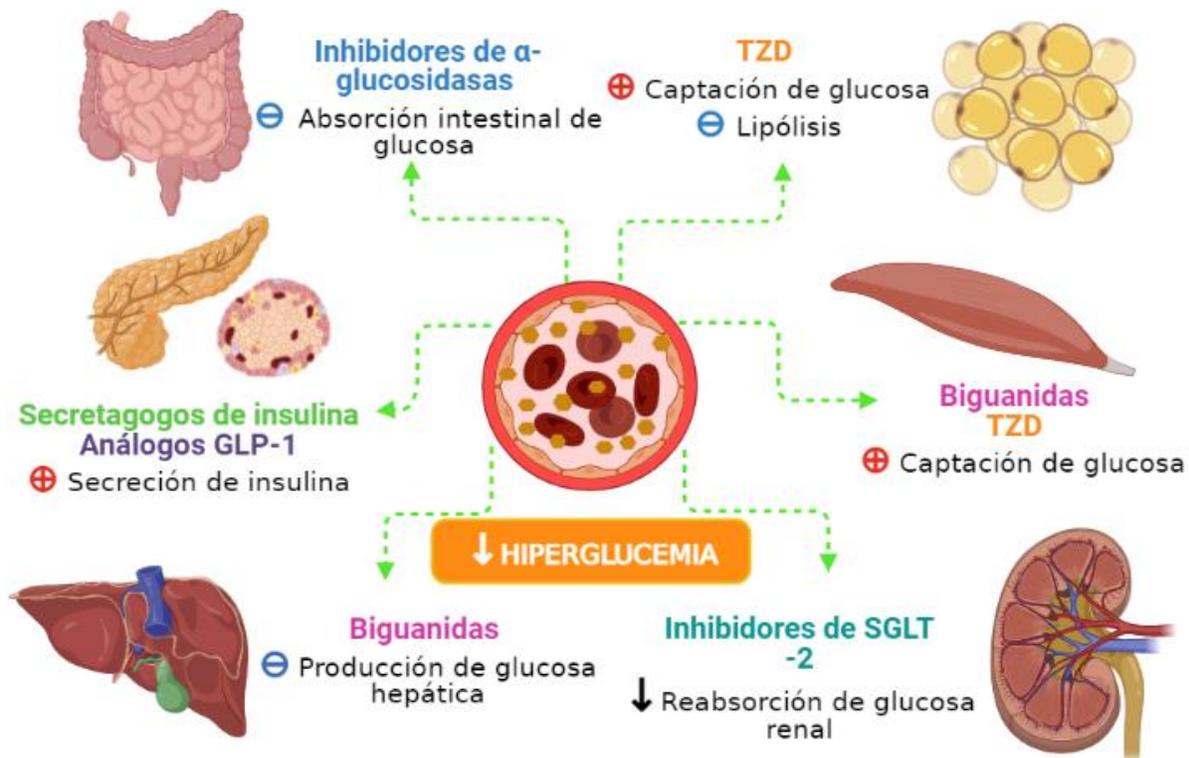
**Tabla 1.** Criterios diagnósticos de diabetes y prediabetes avalados por la Asociación Americana de Diabetes (AAD).

	<b>GPA</b>	<b>PTGO</b>	<b>HbA1c</b>	<b>Glucemia al azar</b>
DM	≥126 mg/dl	≥200 mg/dl	≥6.5%	≥200 mg/dl
Prediabetes	100-125 mg/dl	140-199 mg/dl	5.7-6.4%	

DM: diabetes mellitus; GPA: glucemia plasmática en ayunas; PTGO: prueba de tolerancia a la glucosa oral; HbA1c: Hemoglobina glicada. Tabla tomada y modificada de Rivas-Sánchez et al. (2020).

#### **d) Hipoglucemiantes orales**

La importancia del tratamiento farmacológico radica en un adecuado control de los niveles de glucemia, debido a que la regulación de la hiperglucemia disminuye las posibilidades de padecer alguna complicación derivada de la DM. Actualmente se dispone de un amplio arsenal terapéutico, con fármacos que actúan por diferentes mecanismos (**Figura 4**), lo que permite potenciar su efecto hipoglucemiante y facilitar el control glucémico (Lorenzo-Hernández et al, 2020).



**Figura 4.** Principales órganos blanco y acción de los hipoglucemiantes orales utilizados en el tratamiento de la DMT2. Imagen tomada y modificada de DeFronzo et al. (2015). Creada en BioRender.com

El enfoque del tratamiento inicial recomendado incluye cambios en el estilo de vida (dieta y ejercicio) y monoterapia, que incluye a la metformina. Sin embargo, si no se alcanzan niveles adecuados de HbA1c en aproximadamente tres meses, el tratamiento debe intensificarse, agregando un segundo hipoglucemiante oral (Thrasher-Maryland, 2017). Algunos de los principales fármacos hipoglucemiantes con los que se dispone actualmente son los siguientes:

- **Secretagogos de insulina**

a) Sulfonilureas: Estimulan la secreción de insulina en las células  $\beta$ -pancreáticas. Dentro de este grupo se encuentran la clorpropamida, tolazamida, acetohexamida, tolbutamida, gliclazida, glibenclamida, glipizida, gliquidona y glimepirida.

b) Glinidas, también conocidas como secretagogos de acción rápida, son la nateglinida y repaglinida. Esta clase de agentes insulino-trópicos de acción rápida se ha desarrollado para el tratamiento específico de las fluctuaciones glucémicas en relación con la ingesta de alimento

(estado postprandial). Al igual que las sulfonilureas, reducen los valores de glucemia, al estimular la secreción de insulina de las células  $\beta$ -pancreáticas. (Moreno-Pérez et al., 2008). Son recomendadas en el tratamiento de la DMT2 en monoterapia o en asociación con la metformina, cuando la dieta, el ejercicio y la disminución de peso son insuficientes para controlar la hiperglucemia (Ganado et al., 2016).

- **Biguanidas**

Dentro de este grupo se encuentra la metformina, la primera opción en el tratamiento de la DMT2. Su mecanismo de acción consiste en aumentar la captación y el uso de la glucosa en el músculo esquelético, disminuir la gluconeogénesis hepática y aumentar la sensibilidad de la insulina (Reyes-Sanamé et al., 2016).

- **Tiazolidinedionas (glitazonas, TZDs)**

Entre las que se encuentran la pioglitazona y la rosiglitazona. Estas moléculas disminuyen la RI, por lo que se les denomina sensibilizadores a la insulina. También, mejoran los parámetros de dislipidemia e hipertensión, además de tener efectos antioxidantes (Sánchez-Solares, 2019). Cabe destacar que en el año 2011 la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y la Agencia de Medicina Europea (EMA) suspendieron el uso de la rosiglitazona en la Unión Europea, Estados Unidos y Venezuela, debido a que está asociada con un riesgo alto de infarto al miocardio y muerte por enfermedad cardiovascular. Por otro lado, se retiró a la pioglitazona del mercado en Francia y Alemania por su relación con una mayor incidencia de cáncer de vejiga (Salaverría de Sanz et al., 2012).

El mecanismo de acción de las tiazolidinedionas (TZDs) se basa en activar la transcripción de genes asociados al factor nuclear conocido como receptor gamma activado por proliferadores de peroxisoma gamma (PPAR $\gamma$ ), los cuales se expresan principalmente en tejido adiposo y en menor medida en músculo esquelético e hígado. La activación de los PPAR $\gamma$  por TZDs incrementa la sensibilidad de los adipocitos a la insulina, probablemente por un efecto directo sobre los genes que codifican alguno de los componentes de la señalización de esta hormona, incrementando la captación de AGL y disminuyendo su liberación a torrente sanguíneo. Asimismo, por efecto de las TZDs se produce una diferenciación de los adipocitos del

tejido celular subcutáneo, con lo cual se producen adipocitos pequeños y sensibles a la insulina. (Motta et al., 2016).

Además, las TZDs inducen el coactivador PPAR $\gamma$ -1a (PGC-1 $\alpha$ ), que promueve la biogénesis mitocondrial, lo que conduce a un aumento en la oxidación de ácidos grasos que protege aún más contra la hipertrofia de los adipocitos. Aunque las TZDs modulan directamente la captación de glucosa por parte de los adipocitos, esto contribuye modestamente a los efectos hipoglucemiantes de la insulina, pues es evidente que la acción de las TZDs también debe alterar la comunicación entre el tejido adiposo, el músculo y el hígado, los principales órganos sensibles a la insulina (Lehrke & Lazar, 2005).

- **Análogos del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1)**

La GLP-1 es una hormona incretina que estimula la secreción de insulina e inhibe la formación de glucagón de forma glucosa-dependiente. Esta tiene una vida media corta de 1.5-2.1 minutos, debido a la rápida degradación que sufre por la enzima dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4). Esta circunstancia ha impulsado el desarrollo de agonistas del receptor de GLP-1, que reproducen las acciones de esta hormona al tener una afinidad comparable por el receptor de GLP-1 y ser resistentes a la degradación por la enzima DPP-4 (Ampudia-Blasco et al., 2016). Algunos ejemplos son: lixisenatidae, exenatidae, dulaglutida, exenatidae LAR, liraglutida y, semaglutida.

- **Inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 (IDPP-4)**

La GLP-1 y el polipéptido insulínico dependiente de glucosa (GIP), principales péptidos insulínicos de origen intestinal (incretinas), son rápidamente degradados por la DPP-4. La DPP-4 es un miembro de una familia de proteínas de la membrana celular que se expresa en muchos tejidos, incluidas las células inmunes. Por ello, los inhibidores de la DPP-4 constituyen pequeñas moléculas que intensifican los efectos de GLP-1 y GIP debido a que aumentan su vida media, favoreciendo la secreción de insulina dependiente de glucosa (Roldán-Vences et al., 2011). Algunos ejemplos son: alogliptina, linagliptina, saxagliptina, sitagliptina y, vildagliptina.

- **Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (ISGLT-2)**

También conocidos como glifozinas: canagliflozina, dapagliflozina, empagliflozina, ertugliflozina. Son un grupo de hipoglucemiantes que actúan inhibiendo el SGLT-2 en el túbulo proximal renal, aumentando la excreción renal de glucosa y, secundariamente, disminuyendo los niveles plasmáticos de ésta (Ascaso, 2014).

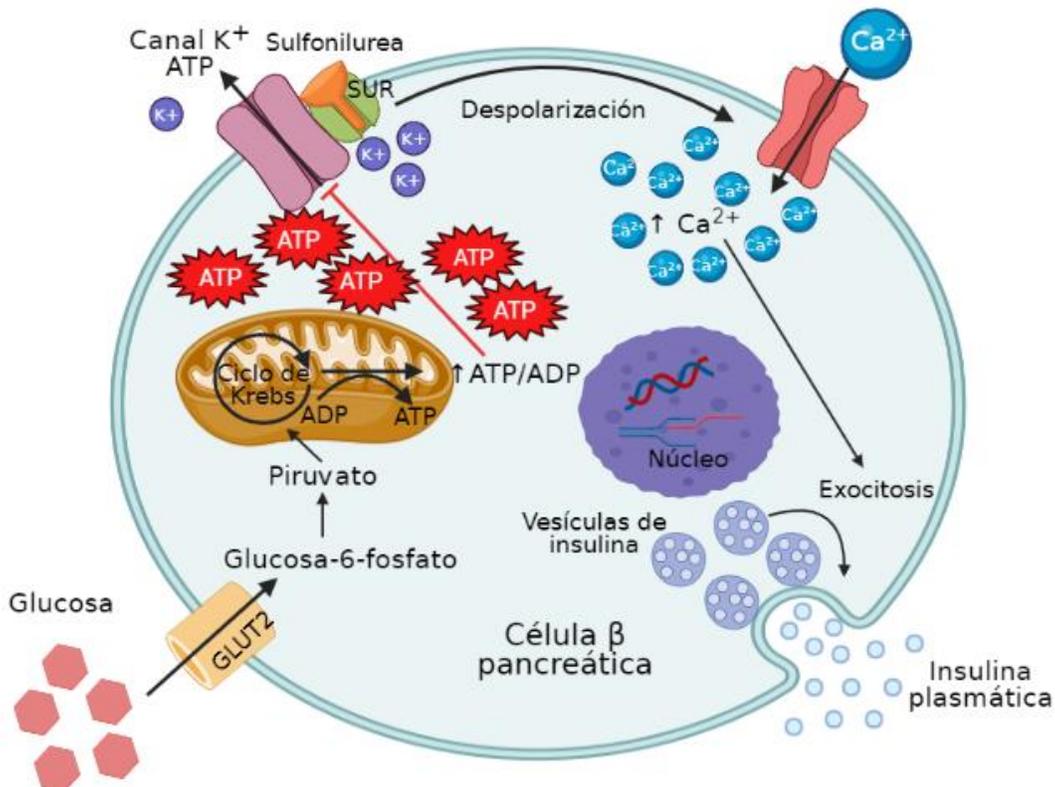
- **Inhibidores de la alfa-glucosidasa intestinal**

Acarbosa y miglitol. Reducen el índice de digestión de los polisacáridos en el intestino delgado proximal, por lo que entre los beneficios de estos fármacos están los de reducir la hiperglucemia postprandial, disminuyen modestamente los niveles de HbA1c y también reducen la concentración de insulina postprandial (Akmal & Wadhwa, 2022).

El tratamiento de la DMT2 implica el uso de una combinación de fármacos, particularmente en la etapa crónica, por lo que el personal de atención médica suele recetar metformina y glibenclamida en conjunto como terapia de primera línea durante el tratamiento de pacientes con DMT2 (Belayneh et al., 2020). La combinación de estos fármacos constituye la asociación con más experiencia de uso y la que es más beneficiosa, ya que incide en los dos principales mecanismos fisiopatológicos de la DMT2: la deficiencia de insulina (glibenclamida) y la resistencia a esta hormona (metformina) (Goday et al., 2001) lo que conlleva a un mejor control glucémico, específicamente en la disminución en los niveles de HbA1c. Por ello, en el presente trabajo se utilizaron la glibenclamida y la metformina como controles positivos y a continuación se describen con más detalle sus mecanismos de acción.

### **e) Mecanismo de acción de la glibenclamida**

La glibenclamida actúa uniéndose a un receptor específico situado en la membrana de la célula  $\beta$  (SUR1), que junto con una unidad interna (Kir6.2), forman parte de los canales de  $K^+$  sensibles a ATP (KATP) (Pallardo-Sánchez, 2008). Esta unión ocasiona el cierre de los canales KATP en las células  $\beta$  de los islotes pancreáticos, lo que conduce a la despolarización de la membrana plasmática y a la apertura de los canales de  $Ca^{2+}$  dependientes de voltaje. La entrada de  $Ca^{2+}$  desencadena la exocitosis de las vesículas de insulina de las células  $\beta$ -pancreáticas (**Figura 5**) (Zhang, et al. 2017).



**Figura 5.** Mecanismo de secreción de la insulina estimulada por la glibenclamida.

El receptor SUR es el sitio de unión para fármacos que actúan como secretagogos de insulina, como la glibenclamida. GLUT2, transportador de glucosa tipo 2. Imagen tomada y modificada de Longo et al. (2012). Imagen creada en BioRender.com

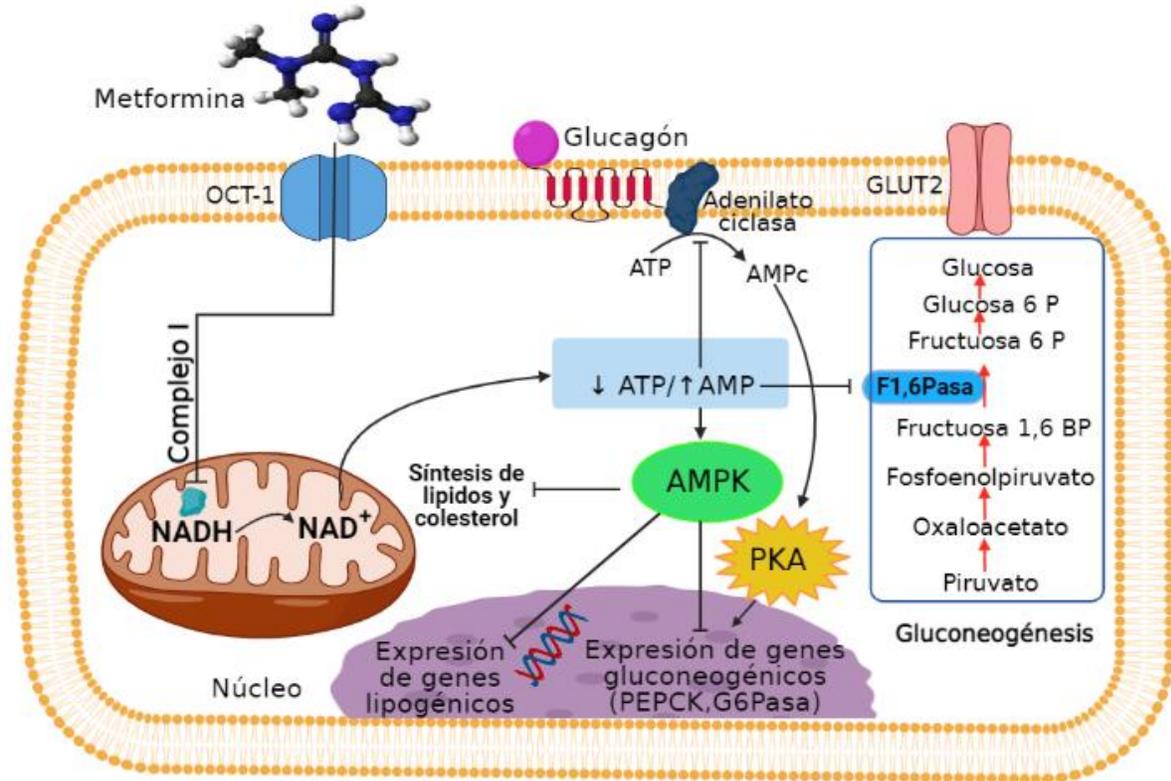
## f) Mecanismo de acción de la metformina

La metformina es una biguanida eficaz en el control de la DMT2 por lo que, en el presente estudio, este fármaco fue utilizado como control positivo en combinación con la glibenclamida. Tiene su origen en la planta *Galega officinalis* L. (Fabaceae), que fue ampliamente usada en Europa desde la edad media como un tratamiento popular para la poliuria en personas diabéticas. Más tarde se descubrió el compuesto responsable del efecto hipoglucemiante de la planta, denominado galegina, derivado de la guanidina (Salazar-Álvarez, 2011).

Durante muchos años el blanco molecular de la metformina había sido elusivo, hasta el año 2001, cuando Zhou y colaboradores reportaron que la activación de la proteína cinasa activada por el adenosín monofosfato (AMPK) estaba asociada estrechamente con los efectos

pleiotrópicos de la metformina. Se conoce que su efecto ocurre por la inhibición en la cadena respiratoria mitocondrial, de manera específica en el complejo I, lo que induce la disminución de la oxidación del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH), la reducción del paso de protones a través de la membrana interna de la mitocondria y del índice de consumo de oxígeno, disminuyendo el gradiente de protones y, por último, promoviendo la regulación a la baja de la síntesis de adenosina trifosfato (ATP). La reducción en los niveles de ATP y el consecuente aumento en los niveles de adenosina monofosfato (AMP) estimula la activación de AMPK, un sensor metabólico celular (Arocha-Rodulfo et al., 2017).

La activación de AMPK inhibe la gluconeogénesis, debido a que promueve la inhibición transcripcional de la fosfoenolpiruvato carboxicinas (PEPCK) y la glucosa 6 fosfatasa (G6Pasa) regulando los factores de transcripción involucrados en su expresión. Asimismo, el incremento en los niveles de AMP promueve la inhibición alostérica de la enzima fructosa-1,6-bisfosfatasa (F1,6Pasa) suprimiendo su actividad, así como la inhibición de la adenilato ciclasa con el consecuente bloqueo de la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA) y por lo tanto la supresión de la expresión génica de PEPCK y G6Pasa (Espinoza-Hernández, 2017). De igual forma, la metformina aumenta la sensibilidad hepática a la insulina y disminuye los sustratos gluconeogénicos en la circulación, como el glicerol y lactato. También, la glucogenólisis hepática disminuye (Krentz, 2012). Asimismo, mejora la sensibilización de los tejidos periféricos a la insulina, como el músculo esquelético, donde promueve la síntesis de glucógeno. Por otro lado, en el tejido adiposo presenta actividad antilipolítica, lo que suprime la liberación de los AGL, evitando así el uso de glicerol disponible para la gluconeogénesis hepática (**Figura 6**) (Morantes-Caballero et al., 2017).



**Figura 6.** Mecanismo de acción de la metformina en el hepatocito.

La metformina se transporta en los hepatocitos principalmente a través del transportador OCT-1, lo que conlleva a la inhibición de la cadena respiratoria mitocondrial (complejo I). El déficit resultante en la producción de energía se equilibra reduciendo el consumo de energía en la célula, particularmente la reducción de la gluconeogénesis hepática. Esto se lleva a cabo a través de dos procesos. En primer lugar, se produce una disminución en los niveles de ATP y un aumento concomitante de AMP, lo que contribuye a la inhibición de la gluconeogénesis. En segundo lugar, los elevados niveles de AMP funcionan como un mediador de señalización clave para inhibir alostéricamente la señalización de la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA-AMPc) mediante la supresión de la adenilato ciclasa. Asimismo, estos niveles elevados de AMP inhiben alostéricamente a la F1,6Pasa, una enzima gluconeogénica clave y activan a la proteína cinasa activada por AMP (AMPK). Todo ello conduce a la inhibición de la gluconeogénesis y la síntesis de lípidos/colesterol, lo que contribuye a las respuestas metabólicas del fármaco. ATP, adenosina trifosfato; AMP, adenosina monofosfato; AMPK, proteína cinasa activada por el adenosín monofosfato; F1,6Pasa, fructosa-1,6-bisfosfatasa; OCT-1, transportador 1 de catión orgánico; PKA, proteína cinasa dependiente de AMPc. Imagen tomada y modificada de Rena et al. (2013). Creada en Biorender.com

### 3. Modelos de diabetes mellitus

Los modelos animales juegan un rol muy importante en el entendimiento de diversas enfermedades que afectan a los seres humanos. A pesar del alto costo y la dificultad que representa el desarrollo de un modelo animal, éstos nos permiten estudiar la fisiopatología de una enfermedad mediante su inducción o generación espontánea, además de analizar el comportamiento animal (Romero-Fernández et al., 2016).

La DMT2 es una enfermedad multifactorial en la que influyen diversos genes y factores ambientales. La presentan varios mamíferos incluyendo animales de compañía, de campo y en cautiverio, sin embargo, a pesar de que la enfermedad en estos animales no es un reflejo exacto de la que padecen los seres humanos, sí proporciona modelos experimentales que permiten investigar los mecanismos metabólicos que conducen a la hiperglucemia y sus consecuencias, además de ofrecer nuevos métodos para la prevención y el tratamiento de la DMT2 (Hugués-Hernandorena et al., 2002).

Los tipos de modelos animales de DM más utilizados son los inducidos, ya que son más fáciles de generar que los modelos espontáneos, y se adaptan adecuadamente a muchos fines de investigación, menos centrados en el proceso autoinmune y más en la hiperglucemia en sí, la obesidad o el síndrome metabólico. Existen dos formas principales de desarrollar diabetes en modelos inducidos: por un lado, los modelos quirúrgicos consisten en la ablación parcial o completa del páncreas, mientras que los modelos no quirúrgicos pueden generarse mediante la administración de sustancias tóxicas para las células  $\beta$ , como el aloxano o la estreptozotocina (STZ), dietas hipercalóricas (altas en grasas o alto contenido de sacarosa), inmunosupresores o incluso infecciones virales (Brito-Casillas et al., 2016).

Por otro lado, los modelos espontáneos son estirpes que se mantienen relativamente inalteradas mediante cruces endogámicos y que proceden de un animal en el que se ha detectado diabetes espontánea debido a una serie de cruces selectivos, favoreciendo un determinado rasgo fenotípico de la DMT2 humana. (**Tabla 2**) (Arias & Balibrea 2007).

**Tabla 2.** Modelos animales experimentales de diabetes mellitus tipo 2.

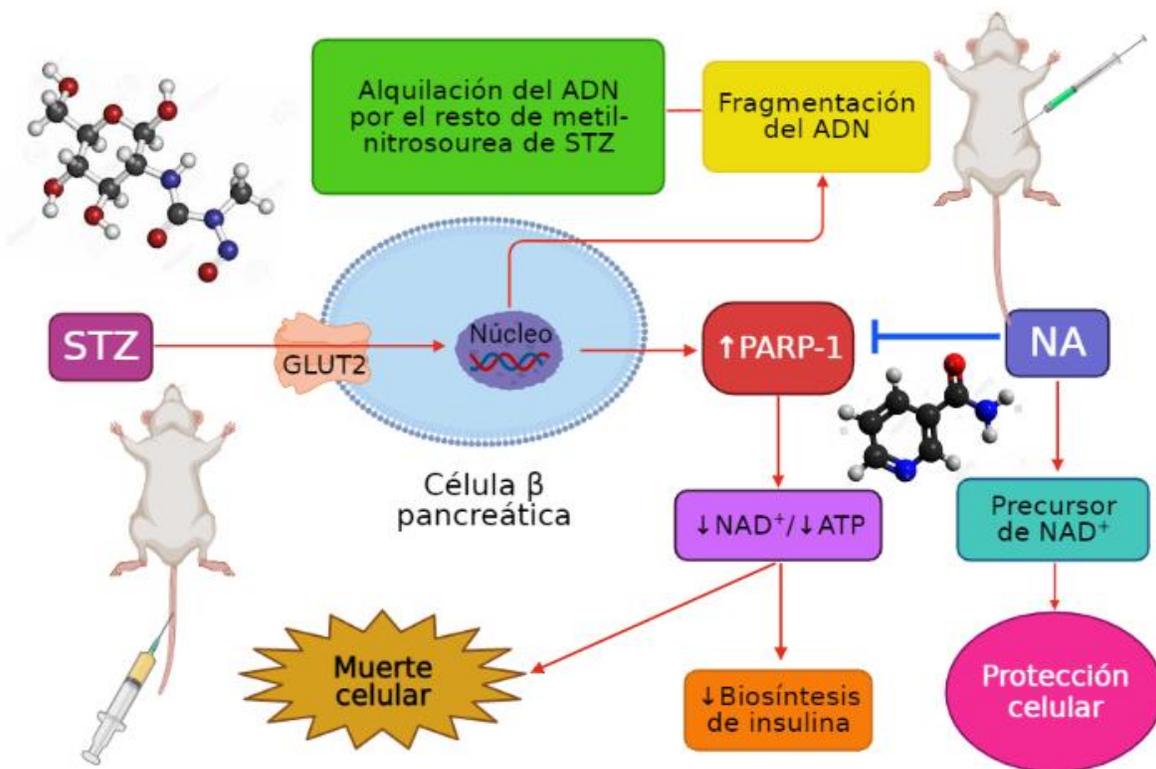
Clasificación de los modelos animales de diabetes mellitus tipo 2	
1.	Modelos espontáneos
1.1	Modelos análogos
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Rata Goto-Kakizaki (GK)</li><li>• Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO)</li><li>• Ratón KK</li><li>• Rata israelí de la arena (<i>Psammomys obesus</i>)</li><li>• Rata OLETF (<i>Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat</i>)</li></ul>
1.2	Modelos intrínsecos
	<ul style="list-style-type: none"><li>• Ratón <i>db/db</i></li><li>• Ratón <i>ob/ob</i></li><li>• Ratón <i>Agouti</i></li><li>• Rata Zucker (<i>fa/fa</i>)</li></ul>
2.	Modelos inducidos
2.1	Inducción hormonal (corticoides)
2.2	Administración de fármacos (STZ o aloxano)
2.3	Manipulación genética

Se muestran las líneas de los modelos animales de DM2, estos modelos pueden ser espontáneos, según las alteraciones genéticas que expresen o se puede inducir de forma experimental. Tomada de Arias & Balibrea (2007).

### a) Modelo STZ-NA

En la actualidad se dispone de modelos experimentales que asemejan algunas de las anormalidades metabólicas propias de la diabetes. Tales modelos se inducen mediante algunas estrategias quirúrgicas actualizadas, dietas especiales, modificaciones genéticas y fármacos con toxicidad específica sobre el páncreas, entre los que encontramos la STZ y la nicotinamida (NA) (Moreno-Cortés et al., 2020).

El modelo STZ-NA, propuesto por Masiello y colaboradores (1998), si bien no es un modelo de DM2, simula algunas características como la presencia de hiperglucemia moderada estable y la sensibilidad a secretagogos de insulina, por lo que es un modelo utilizado en estudios experimentales crónicos. En el modelo STZ-NA se produce una hiperglucemia moderada, debido a la acción de la NA, que protege parcialmente a las células  $\beta$  pancreáticas de la STZ, un agente citotóxico que produce la destrucción este tipo celular; de esta manera habrá una disminución parcial y no total en la secreción de insulina (**Figura 7**).

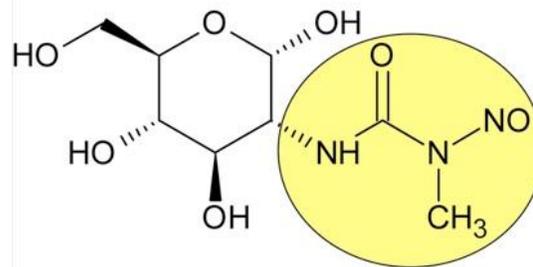


**Figura 7.** Mecanismo de acción de STZ y NA en la célula  $\beta$  pancreática.

La STZ ocasiona la fragmentación del ADN, esto con lleva a la sobreestimulación de PARP-1 y como consecuencia una disminución en los niveles energéticos que conllevan a la muerte celular. Por otra parte, la NA promueve la protección celular de la célula  $\beta$  pancreática al ser un precursor de NAD<sup>+</sup> e inhibir a PARP-1. NA, nicotinamida; NAD<sup>+</sup>, nicotinamida adenina dinucleótido; PARP-1, poli-ADP ribosa polimerasa 1; STZ, estreptozotocina. Imagen tomada y modificada de Al-Awar et al. (2016). Creada en Biorender.com

La STZ se aisló por primera vez de *Streptomyces achromogenes*, la cual mostró una actividad antibiótica de amplio espectro. Se ha utilizado ampliamente en la inducción de la diabetes en animales de experimentación y estudios preclínicos debido a que las alteraciones estructurales, funcionales y bioquímicas observadas son semejantes a la diabetes humana. Por ello, la diabetes inducida únicamente con STZ representa un modelo clínicamente relevante para estudiar la patogenia de la diabetes mellitus tipo I y las complicaciones asociadas en animales de experimentación (Goyal et al., 2016).

Respecto a su estructura química, la STZ es un análogo de nitrosourea, en el que el resto del N-metil-N-nitrosourea está unido al carbono 2 de una hexosa (**Figura 8**) (Bequer et al., 2016). La STZ se acumula selectivamente en la célula  $\beta$  pancreática, a través del glucotransportador de glucosa 2 (GLUT2). Se asume que la toxicidad depende de su actividad alquilante, debido a la transferencia del grupo metilo de la STZ a la molécula de ADN, lo que da como resultado su fragmentación. En el intento de reparar el ADN, se sobreestimula a la poli-ADP ribosa polimerasa 1 (PARP-1), una enzima que participa en procesos celulares que implican la reparación del ADN, lo que trae como consecuencia la disminución de las reservas celulares de nicotinamida adenina dinucleótido ( $\text{NAD}^+$ ) y posteriormente, de ATP. Este agotamiento finalmente da como resultado la apoptosis de la célula  $\beta$  pancreática (Lenzen, 2008), lo que conlleva a la disminución en la secreción de insulina.



**Figura 8.** Estructura química de la estreptozotocina (STZ).

Se asume que la toxicidad depende del resto de metil-nitrosourea. La transferencia del grupo metilo de la STZ a la molécula de ADN ocasiona a lo largo de una cadena definida de eventos la fragmentación del ADN. Imagen tomada de Goyal et al. (2016).

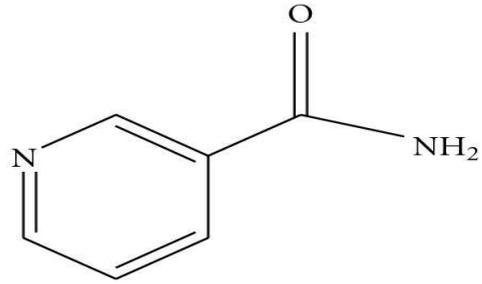
Otro de los efectos de la STZ es sobre la metilación de proteínas que trae como consecuencia la muerte celular. No obstante, también influye en su potencial para actuar como donante intracelular de óxido nítrico (NO) y en el aumento de la actividad de la guanilato ciclasa. De hecho, se ha demostrado que, en las células  $\beta$  pancreáticas expuestas a STZ, se aumenta la actividad de la guanilil ciclasa y la formación de guanosin monofosfato cíclico (GMPc), que son efectos característicos del NO. Por último, se sabe que genera especies reactivas de oxígeno (ROS), debido al aumento de la actividad de la xantina-oxidasa, los cuales contribuyen a la fragmentación del ADN (Szkudelski, 2001).

Por otra parte, la NA (piridina-3-carboxamida), es una forma activa de amida de la vitamina B3 o niacina (**Figura 9**) (Surjana et al., 2010) y sus efectos protectores se han estudiado en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y en modelos murinos. En modelos experimentales con diabetes espontánea o inducida, se ha observado un incremento de la regeneración de las células

$\beta$  pancreáticas; cuando se administra antes de la aparición de la DM, es capaz de retardar la progresión de la destrucción en los islotes pancreáticos, debido a que la NA tiene un efecto protector a diversos niveles.

Básicamente, esta vitamina protege a la célula  $\beta$  pancreática frente a la acción de compuestos citotóxicos, disminuye la inflamación en los islotes  $\beta$  pancreáticos, los protege ante la acción de radicales libres e inhibe la síntesis de NO (Licea & González, 2013). Además, la NA inhibe la actividad de la PARP-

1, lo que se considera un importante contribuyente a los efectos protectores contra el daño de las células  $\beta$  pancreáticas. Asimismo, sirve como precursor de  $\text{NAD}^+$ , el cual se biosintetiza por la vía de la nicotinamida fosforribosil transferasa (NAMPT) (también conocida como factor amplificador de colonias de células pre- $\beta$ ) (Fukaya et al., 2013).



**Figura 9.** Estructura química de la nicotinamida (NA).

Precursora de la síntesis de dinucleótido de nicotinamida y adenina ( $\text{NAD}^+$ ). Imagen tomada de Surjana et al. (2010).

## 4. El papel de la etnofarmacología

México es un país con una gran riqueza biológica, pues cuenta con al menos el 70% de variedad en plantas y animales del mundo, lo cual nos ubica en el quinto lugar entre los 12 países más megadiversos a nivel mundial (SEMARNAT, 2018). Expertos en nuestro país han clasificado 23 424 plantas vasculares, de las cuales, una gran cantidad son de uso medicinal. El estudio de estas plantas medicinales está a cargo de la etnofarmacología. La investigación etnofarmacológica y de los productos naturales como fuente de nuevas terapias humanas se hizo popular en la industria farmacéutica occidental durante la década de 1960, dando lugar a un paisaje farmacéutico fuertemente influenciado por moléculas naturales y sintéticas (Patwardhan & Chaguturu, 2017).

La etnofarmacología es la ciencia que se encarga de rescatar el uso histórico de plantas por las personas, el cual ha sido adquirido a través de la tradición familiar (Mehlhorn, 2011). Uno de sus objetivos es contribuir a la exploración de recursos fitoterapéuticos para su uso en contextos locales y en sus países de origen, lo que a su vez puede proporcionar datos que ayudarán (junto con otros métodos de investigación) a responder preguntas como: “Entre los diferentes tratamientos locales para cierta dolencia determinada, ¿cuál es la más eficaz?” (Graz et al., 2010).

Esta ciencia es multidisciplinaria, debido a que abarca observaciones en campo, descripción del uso y preparación de los remedios, la determinación botánica del material obtenido, así como estudios fitoquímicos para aislar los compuestos presentes en las plantas. También se llevan a cabo los estudios farmacológicos, por lo que representa una alternativa a la globalización para lograr el desarrollo social sostenible, el cultivo y uso de plantas medicinales, demostrando que no ha perdido vigencia y que es una práctica que puede extenderse y pluralizarse (Dorado-Martínez, 2020).

Cabe mencionar que la OMS ha aprobado el uso de plantas medicinales como remedio para tratar la DM, lo cual es de gran relevancia debido que esta enfermedad, en la actualidad, está cobrando la vida de millones de personas, a tal grado que la Organización de las Naciones

Unidas (ONU) estima el diagnóstico de una persona con diabetes cada 5 segundos en algún lugar en el mundo, cada 10 segundos una persona muere a causa de ella y cada 30 segundos se pierde una extremidad a causa de esta enfermedad.

## 5. Plantas hipoglucemiantes

Actualmente, el impacto del uso de plantas medicinales es tal que el 80% de la población mundial (más de cuatro mil millones de personas) utiliza las plantas como principal remedio medicinal, según lo señala la OMS (Escalona-Cruz et al., 2015). Esto se debe a que, dentro de las comunidades, la gente tiene mayor apego a tratarse con remedios herbolarios que con medicamentos convencionales. Los conocimientos y usos de plantas medicinales para preservar la salud se han extendido desde las comunidades rurales hasta las diferentes ciudades; dichas plantas son consumidas tradicionalmente o de forma empírica para tratar diferentes problemas de salud. Con esta tendencia de uso, no puede ser ajena la utilización de productos naturales en el tratamiento de la DM, dada la pandemia de COVID-19 presente y la previsión futura (Cuenca-Villalobos et al., 2020).

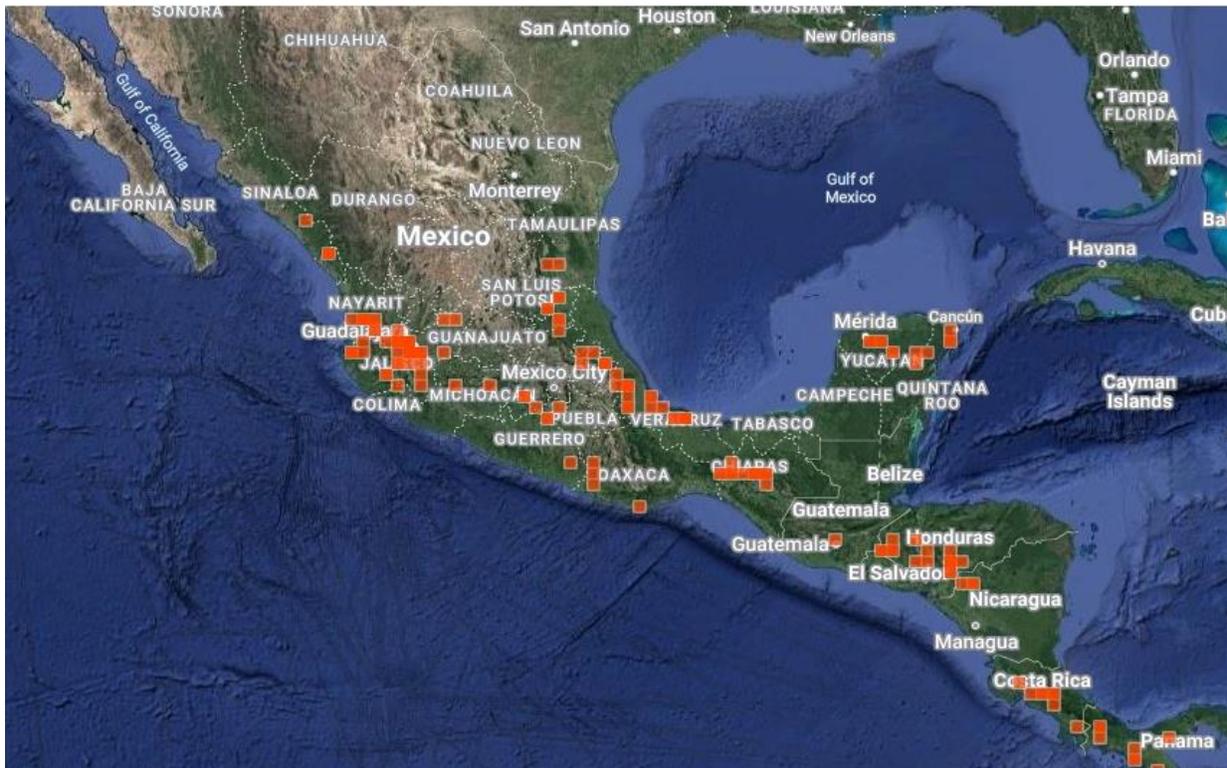
Existen numerosas plantas que se utilizan para el tratamiento de la DM en la medicina tradicional, entre las que se incluyen medicinas tribales y populares practicadas por varios grupos étnicos en aldeas remotas y focos tribales del mundo; sin embargo, se han realizado estudios científicos en menos de la mitad de estas plantas. De las ya estudiadas, la mayoría de ellas exhibieron actividades hipoglucémicas en investigaciones farmacológicas *in vitro* e *in vivo* (Subramoniam, 2016).

En México, en 2005, Andrade-Cetto y Heinrich documentaron 306 especies de plantas hipoglucemiantes que pertenecen a 325 géneros y 93 familias. Dentro de estas familias se encuentran Asteraceae, Fabaceae, Cactaceae, Solanaceae, Euphorbiaceae y Lamiaceae. Específicamente, se tiene el reporte de *Acosmium panamense* (Benth.) Yakovlev, *Agarista mexicana* (Hemsl.) Judd., *Allium cepa* L., *Brickellia veronicaefolia* (Kunth) A. Gray, *Cecropia obtusifolia* Bertol., *Cucurbita ficifolia* Bouché., *Guazuma ulmifolia* Lam., *Ibervillea sonora* (S. Watson) Greene., *Larrea tridentata* (Moç. & Seseé ex DC.) Coville., *Malmea depressa* (Baill.) R.E.Fr., *Parmentiera aculeata* (Kunth) Seem., *Tamarindus indica* L., *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth, *Tournefortia hartwegiana* Steud., *T. hirsutissima* L. (Bravo-Vargas, 2011).

En el estado de Hidalgo, *Calea urticifolia* (Mill.) DC. (*Asteraceae*) es una de las especies utilizadas para tratar la DM, debido a la creencia de que su sabor amargo contrarresta los niveles elevados de “azúcar en la sangre”. A pesar de que ya se cuenta con la evidencia científica del efecto hipoglucemiante agudo de esta planta (Andrade-Cetto et al., 2021), no se conoce el efecto crónico de su uso sobre los niveles de glucosa, por lo que en este trabajo de investigación se probó el efecto del extracto acuoso de *C. urticifolia* a largo plazo en el modelo STZ-NA, que reproduce algunas características de la DMT2.

## 6. *Calea urticifolia* (Mill.) DC.

*C. urticifolia* es un arbusto que pertenece a la familia Asteraceae, el cual se distribuye ampliamente desde México hasta Panamá en climas cálidos y semicálidos. Se encuentra asociado con ecosistemas de selva baja caducifolia, bosque tropical y de encino (Wipfli-Ramírez, 2018). Se puede encontrar en los estados de Aguascalientes, Chiapas, Colima, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Nayarit, Oaxaca, San Luis Potosí, Sinaloa, Tamaulipas, Veracruz y Zacatecas (**Figura 10**) (Guzmán, 2010).



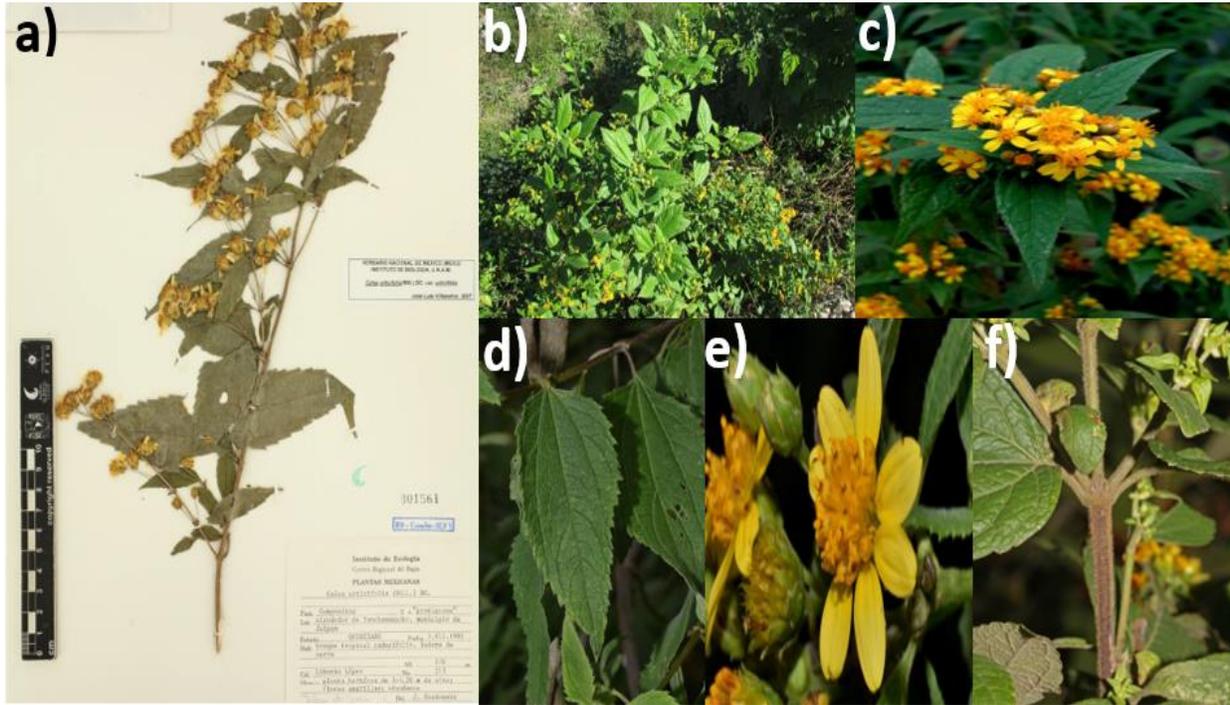
**Figura 10.** Mapa de distribución de *C. urticifolia* (Mill.) DC.

Distribución de *C. urticifolia* a lo largo de la República Mexicana y parte de Panamá. Imagen obtenida de Naturalista, (2023).

### a) Taxonomía

*C. urticifolia* es un arbusto erecto de 1 a 2 metros de alto, tiene ramas esparcidas o densamente pilosas. Sus hojas son pecioladas, láminas, ovada u oblongo-lanceoladas elíptico lanceoladas y frecuentemente miden de 4-12 cm de largo y 1-6 cm de ancho; ápice agudo o acuminado, la base es aguda u obtusa, triplinervadas, márgenes serrados, escabrosas en el haz, frecuentemente rugosas, venas conspicuas, fina o densamente hispidulosas o escabrosas en el envés, a menudo

lustrosas en ambas caras. Presenta una inflorescencia en pequeñas cabezas numerosas, radios en forma de umbela o panícula, y estas son frecuentemente más cortas que las hojas; pedicelos delgados, frecuentemente miden 0.5-2.5 cm de largo; involucros de 6 a 7 cm de largo. Flores de disco, fruto, aquenio de 2.5 mm de largo, cortamente pilosas, presenta vilano de escamas, 3-4 mm de largo (**Figura 11**) (Herrera-León, 2011).



**Figura 11.** *C. urticifolia* (Mill.) DC.

**a)** Ejemplar de *C. urticifolia* del Herbario Nacional de México (MEXU). Instituto de Biología, UNAM. (Imagen tomada del portal de datos abiertos UNAM. Colecciones universitarias) **b) y c)** Arbusto de *C. urticifolia* **d)** Hojas **e)** Flores **f)** Tallo. Fotografías obtenidas de Naturalista.

## **b) Antecedentes etnobotánicos, fitoquímicos y farmacológicos**

- ANTECEDENTES ETNOBOTÁNICOS**

En un estudio realizado por el laboratorio de Etnofarmacología de la UNAM, se encontró que hay un uso tradicional de *C. urticifolia* como hipoglucemiante para tratar la DMT2 en el estado de Hidalgo. Cabe mencionar que las personas beben la infusión hecha por la parte aérea de la planta, aproximadamente 20 g en 500 ml de agua hirviendo. Esta infusión la beben durante todo el día, entre y con las comidas, debido a que asocian que su sabor amargo contrarresta el dulzor en la sangre (Andrade-Cetto et al., 2021).

De igual forma, en un estudio realizado entre los años 2006-2008, en las comunidades de San Bartolo Tutotepec y Tenango de Doria, en el estado de Hidalgo, se encontró que una de las especies que tiene mayor frecuencia de uso en el tratamiento de la diabetes y que no contaba con estudios experimentales que avalan dicho efecto fue *C. urticifolia*, conocida en la zona de estudio como “yolochichi” o “prodigiosa”, y citada en la literatura como “gloriosa”. Según declararon los informantes, debe usarse con cuidado y con cierta restricción, pues se cree que si se consume regularmente ocasiona problemas de la vista y trastornos físicos (Avendaño-Gómez, 2013).

De manera tradicional, *C. urticifolia* se consume en forma de infusión, aunque en el Estado de San Luis Potosí, el grupo étnico Xi’iuy o pame usa tradicionalmente la decocción de las hojas de *C. urticifolia*. Se ha reportado que, para llevar a cabo su preparación, se pone a hervir una taza de agua de aproximadamente 256 ml. Cuando ya está hirviendo, se le agregan dos hojas de la planta (en promedio es 0.49 g de hojas frescas o 0.13 g de hojas secas); posteriormente, se mantiene hirviendo de 3 a 5 minutos y, finalmente, se deja enfriar. Esta infusión se bebe dos veces al día, una por la mañana en ayunas y otra por la tarde. Este tratamiento se utiliza hasta que el paciente sienta mejoría y controle su concentración de glucosa en sangre; sin embargo, también se utiliza como remedio terapéutico para tratar problemas gastrointestinales, diabetes e inflamación (Torres-Rodríguez et al., 2016).

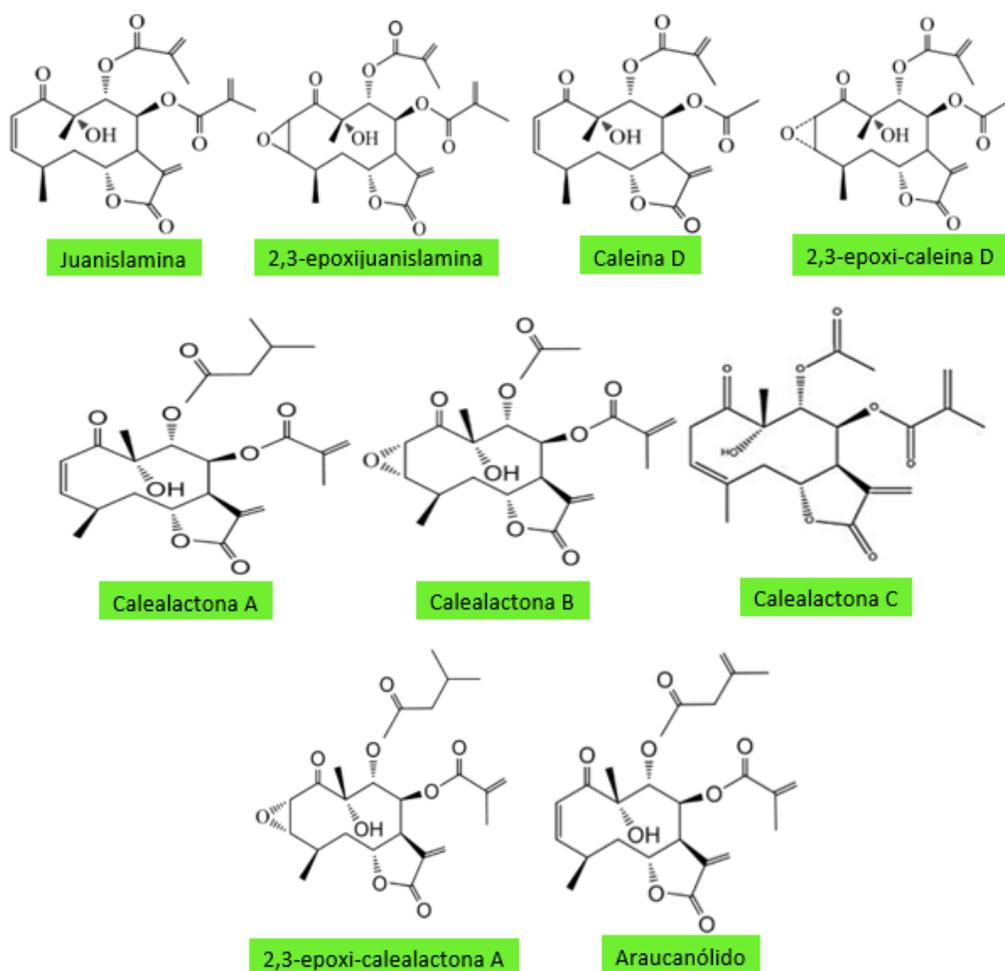
Entre los nombres más comunes con los que se refieren a *C. urticifolia* son: amargo del monte, chichiquizo, hierba amarga, hierba de la palma, hierba de la rabia, hierba del negro, hoja amarga, chilchaca, jaral de castilla, salvia de la sierra, tacote, pashcuane [Ot]. tok’aban, tsikin, xikin [Ma] (Waizel-Bucay & Waisel-Haiat, 2019).

- **ANTECEDENTES FITOQUÍMICOS**

Algunos compuestos aislados de las raíces de *C. urticifolia* son timol, 3-metil-4-isopropilfenol y derivados del ácido dicafeoilquínico. De las hojas, se han aislado germacranólidos; calealactonas A, B y C; 2, 3 epoxicalcalactona A; y el flavonoide acacetina. Se han informado compuestos fenólicos, como derivados del ácido cafeoilquínico y glucósidos flavonoides, en extractos acuosos de las hojas (Andrade-Cetto et al., 2021). De igual forma, en las partes aéreas de *C. urticifolia* se han identificado alcaloides, taninos, flavonoides, monoterpénos (2-isopropil-4-

metil-fenol, timol, timol isobutirato, 4,6-dimetoxi-2-isobutiroxifenol), compuestos alquénicos, los cuales han sido identificados de igual manera en la raíz, además de derivados bencénicos y lactonas sesquiterpénicas (Leticia-Sánchez, 2014).

En otros estudios fitoquímicos de *C. urticifolia* se han reportado que contiene abundantes lactonas sesquiterpénicas con esqueleto germacranólido, además de heiangólidos derivados de isoeugenol y un derivado de fluoroglucina (Soto-Perulero, 2017). De las lactonas sesquiterpénicas, destacan nueve de la serie del germacranólido: juanislamina, 2,3-epoxijuanislamina, caleina D, 2,3-epoxi-caleina D, calealactona A-C, 2,3-epoxi-caleolactona A y araucanólido (**Figura 12**) (Villacorta, et al. 2017), las cuales representan los componentes activos de muchas plantas de la familia Asteraceae.



**Figura 12.** Estructuras de lactonas sesquiterpénicas de *C. urticifolia* (Mill.) DC. Imagen tomada y modificada de Guillén & Hernández (2016).

Algunos ensayos demuestran que los extractos de estas plantas, así como también las lactonas sesquiterpénicas purificadas, poseen propiedades antiinflamatorias (Dupuy et al., 2008). Estos compuestos son sustancias amargas que se encuentran en concentraciones que varían entre 0.01 y 8% del peso seco, con una mayor concentración en las hojas (Herrera-León, 2011).

En un experimento *in vitro* donde se utilizó un extracto de acetona de las hojas de *C. urticifolia* se indicó la posibilidad de que los germacranólidos obtenidos de esta especie tienen efectos que inhiben la diferenciación de preadipocitos en la línea celular 3T3-L1. La inhibición en la diferenciación de células 3T3-L1 a adipocitos resulta beneficioso en la prevención de la obesidad, la cual es un factor de riesgo para desarrollar DM (Amaral et al., 2017).

En otro estudio fitoquímico realizado con extractos orgánicos y acuosos de las hojas de *C. urticifolia* se encontró la presencia de lípidos, carbohidratos, heterósidos cardiotónicos, taninos, alcaloides, triterpenos, flavonoides, saponinas y lactonas sesquiterpénicas. En los extractos acuosos, los metabolitos presentes fueron carbohidratos, flavonoides, taninos y catequinas. Cabe destacar que los taninos poseen una acción antiinflamatoria al inhibir la acción de las citocinas pro-inflamatorias, como TNF- $\alpha$  y la interleucina-1 beta (IL-1 $\beta$ ). En conclusión, *C. urticifolia* posee una gran variedad de metabolitos que pueden ser los responsables de su actividad antiinflamatoria, por lo que es una especie potencial de estudio (Zermeño-Macias, 2013).

- **ANTECEDENTES FARMACOLÓGICOS**

En nuestro país contamos con una gran cantidad de especies con actividad hipoglucemiante que pertenecen al género *Calea*, una de ellas es *C. zacatechichi* de la cual se han reportado que extractos acuosos y etanólicos presentan efectos biológicos como: efecto antinociceptivo, antidiarreico, antimicrobiano, y antiinflamatorio. En un estudio previo, el extracto metanólico de *C. Zacatechichi*, mostró un efecto hipoglucemiante agudo en ratas Wistar inducidas con el modelo STZ-NA, las cuales fueron administradas con el extracto a una dosis de 100 mg/kg p.c., posteriormente se corroboró dicho efecto mediante pruebas de tolerancia a la glucosa oral. Asimismo, en un ensayo *in vitro*, el extracto, a una concentración de 1 mg/ml, mostró el 55.6%

de inhibición sobre la actividad de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas, por lo que se determinó que dicha acción está asociada a su efecto hipoglucemiante (Giles-Rivas, 2020).

Por otro lado, Escandón-Rivera y colaboradores (2017) encontraron que compuestos como los cromenos y las caleínas A y C presentes en una infusión de *C. ternifolia* redujeron la hiperglucemia postprandial en una prueba de tolerancia oral a la sacarosa en ratones hiperglucémicos inducidos con STZ-NA. Este efecto hipoglucémico se asoció a la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas en una prueba *in vitro* realizada.

Respecto a *C. urticifolia*, en un estudio realizado por Guzmán (2010), se demostró la capacidad de su extracto etanólico para inhibir la secreción de citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$  e IL-6) inducidas por la ingesta de una dieta rica en grasas en ratas Wistar. Los resultados indicaron que el extracto de *C. urticifolia* disminuye significativamente los niveles de glucosa plasmática, colesterol, triglicéridos, secreción de IL-6 y TNF- $\alpha$ , así como el incremento en la concentración de adiponectina. En relación a dichos resultados, tanto el efecto antiinflamatorio y la secreción de adiponectina se asoció a la inhibición de la expresión de NF- $\kappa$ B, un factor de transcripción de citocinas proinflamatorias. Asimismo, no se descarta el papel del receptor de moléculas quimioatrayentes de monocitos (CCR2), el cual está involucrado en la disminución del proceso inflamatorio, pues su inhibición reduce el número de macrófagos en tejido adiposo, incrementa la expresión de adiponectina y mejora en la sensibilidad a la insulina (Guzmán-Guzmán, 2010).

El estudio anterior dio lugar a que Ortiz-Segura (2011) evaluara el efecto del extracto etanólico de *C. urticifolia* sobre la concentración de insulina, adipocinas (leptina y adiponectina) y citocinas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-1 $\beta$ ) en ratas Wistar alimentadas con una dieta rica en grasas. En este estudio se corroboró el efecto hipoglucemiante, hipolipemiante y antiinflamatorio en el proceso inflamatorio derivado del tejido adiposo, a través de la inhibición de la secreción de TNF- $\alpha$ , leptina e IL-6. Cabe destacar que el extracto incrementó los niveles de insulina circulante, lo cual indica que el extracto funciona como secretagogo, es decir, que presenta la capacidad de inducir la secreción de esta hormona por la célula  $\beta$  pancreática.

De igual manera, en un reciente estudio farmacológico reciente de Andrade-Cetto y colaboradores (2021), se evaluó el efecto hipoglucemiante del extracto de *C. urticifolia* a dosis tradicional sobre la inhibición en la absorción de glucosa intestinal y sobre la inhibición de la gluconeogénesis hepática, mediante pruebas *in vivo* e *in vitro*. Los resultados demostraron que el extracto acuoso de *C. urticifolia*, a una dosis de 41 mg/kg, tiene la capacidad de inhibir la producción de glucosa hepática, específicamente inhibiendo en un 90% la actividad de la enzima G6Pasa; por otro lado, en menor medida, se encontró que el extracto tiene la capacidad de inhibir la absorción de glucosa al disminuir la actividad de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas en un 20%. Finalmente, se concluye que estos mecanismos, atribuidos a la actividad hipoglucemiante del extracto, están dados por la acción del ácido clorogénico y la rutina, metabolitos encontrados a través de cromatografía en capa fina.

## Justificación

La DMT2 es una enfermedad de gran relevancia a nivel mundial que genera grandes costos y complicaciones graves en las personas que la padecen. Es por ello, que la búsqueda de nuevos fármacos es de suma importancia. Nuestro país cuenta con una gran riqueza de plantas asociadas con efectos hipoglucémicos, sin embargo, en su mayoría no cuentan con respaldo científico.

*C. urticifolia* es una planta medicinal utilizada para tratar la DMT2 en diferentes estados de la República Mexicana; sin embargo, en relación con su actividad hipoglucemiante, se requieren más estudios para describir los posibles mecanismos asociados a dicha actividad, así como la mejoría en el perfil glucémico y lipídico, y los posibles efectos adversos que se presenten a largo plazo.

En el laboratorio de Etnofarmacología, el extracto acuoso de *C. urticifolia* a dosis tradicional mostró tener un efecto hipoglucemiante agudo; sin embargo, no se tiene evidencia de su actividad hipoglucemiante a largo plazo, es decir de forma crónica, sobre los principales parámetros metabólicos (glucosa plasmática, triglicéridos y HbA1c) afectados por la hiperglucemia crónica en la DMT2. De corroborar su efecto terapéutico y su seguridad a largo plazo, *C. urticifolia* podría considerarse en un futuro para la elaboración de algún fitomedicamento que coadyuve en el tratamiento para personas que padecen DMT2.

## Objetivos

### a) Objetivos general

- Evaluar el efecto hipoglucemiante crónico del extracto acuoso de *C. urticifolia*.

### a) Objetivos particulares

- Evaluar el efecto del extracto acuoso de *C. Urticifolia* a lo largo de 42 días en ratas STZ-NA sobre los niveles de glucosa plasmática, el porcentaje de HbA1c y los niveles de triglicéridos plasmáticos.

## Hipótesis

- El extracto acuoso de *C. urticifolia* tendrá un efecto crónico reductor sobre la hiperglucemia, la hipertrigliceridemia y el porcentaje HbA1c en ratas STZ-NA a lo largo de 42 días.

## Metodología

### 1. Colecta de *C. urticifolia*

La colecta de *C. urticifolia* se llevó a cabo en el mes de junio de 2019, a orillas de la carretera Hidalgo Otongo-Santa Ana de Allende cerca de la comunidad de Tamala (**Figura 13**). Las coordenadas del lugar donde se llevó a la cabo la colecta fueron:

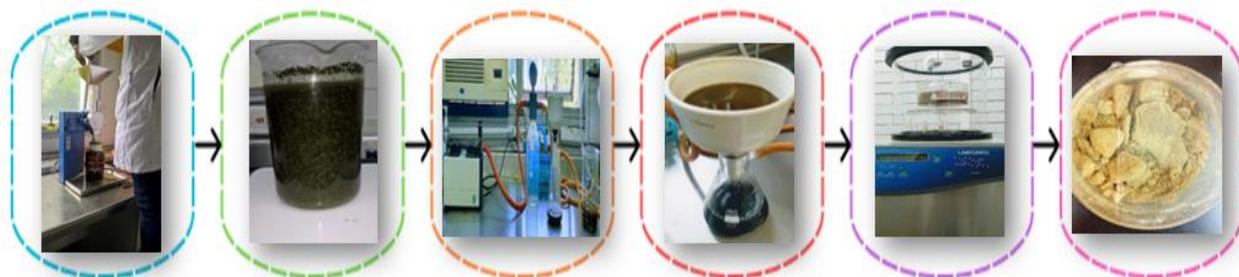
**Latitud:**21° 0' 34" N **Longitud:** 98° 47' 57" O



**Figura 13.** Sitio de colecta de *C. urticifolia* en la comunidad de Tamala, Hidalgo. Fotografías tomadas por Espinoza-Hernández, F. A.

## 2. Preparación y cálculo de dosis del extracto acuoso de *C. urticifolia*

Para la elaboración del extracto se procedió a moler la parte aérea de la planta seca en un molino eléctrico. Posteriormente, se pesaron 20 g de la planta (lo que equivale a un puño de planta utilizada para preparar la infusión por los pacientes diabéticos) y se agregaron a 500 ml de agua destilada en estado de ebullición. Esta mezcla se mantuvo sobre una plancha de agitación durante 15 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se dejó enfriar. A continuación, el extracto se filtró en un embudo Büchner, con ayuda de un papel filtro y polvo de diatomeas, y una bomba de vacío. Inmediatamente después, el filtrado se congeló y se liofilizó, obteniéndose 2.551 g de extracto seco (**Figura 14**). Para realizar el presente estudio, se utilizó la dosis calculada por Andrade-Cetto y colaboradores (2021) de 41 mg/kg de peso corporal, la cual considera el rendimiento de extracto vegetal de 20 g de planta que es aproximadamente consumido por una persona de 70 kg en forma de té como agua de uso durante el día.



**Figura 14.** Proceso de elaboración del extracto de *C. urticifolia*. Fotografías tomadas por González-Díaz, A.E.

### 3. Animales experimentales

Se utilizaron 24 ratas macho y hembra de la cepa Wistar de dos meses de edad, las cuales fueron proporcionadas por el bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM. Los animales se mantuvieron en condiciones de 12h/12h de luz/oscuridad, a una temperatura de 25 °C y agua/alimento *ad libitum*.

El protocolo de investigación de este proyecto fue evaluado y aceptado por la Comisión de Ética Académica y Responsabilidad Científica (CEARC) de la Facultad de Ciencias, UNAM con el número de folio T\_2019\_09\_006. Asimismo, se trabajó conforme a la NOM-062-ZOO-1999, que señala las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio en México.

#### a) Inducción del modelo STZ–NA

La inducción de hiperglucemia se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo propuesto por Masiello y colaboradores (1998). Las ratas se dejaron en ayuno de 12 horas previo a la inducción. Una vez transcurrido este lapso, se les inyectó vía intraperitoneal (i.p.) NA a una dosis de 150 mg/kg p.c., quince minutos después se les inyectó STZ a una dosis de 65 mg/kg p.c. vía intravenosa (i.v.). Previamente, la STZ se disolvió en buffer de acetatos 0.1M con un pH de 4.5 y la NA en solución fisiológica. Finalmente, se monitorearon los niveles de glucosa por dos semanas y se seleccionaron las ratas que mantuvieron niveles de glucosa  $\geq 300$  mg/dl.

## b) Administración de los tratamientos a los grupos experimentales

Los animales se dividieron en 4 grupos experimentales con una n=6 cada uno, a los cuales se les administraron diariamente por vía oral los tratamientos indicados en la **Tabla 3** durante 42 días.

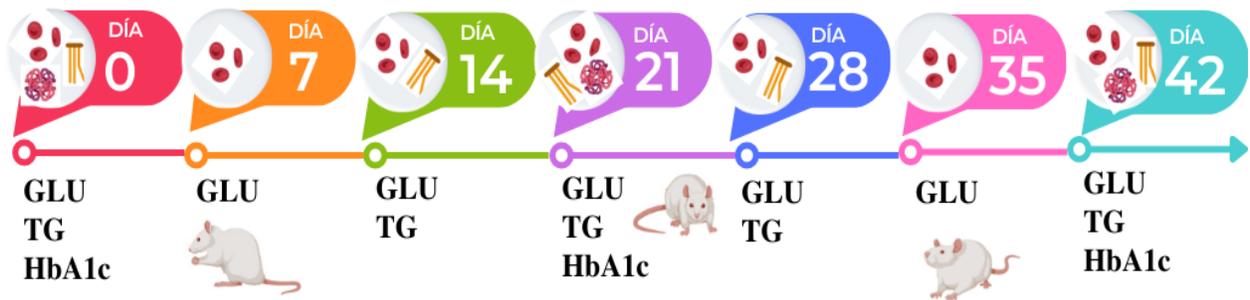
**Tabla 3.** Grupos experimentales y dosis diarias de administración de tratamientos.

Grupos experimentales	Tratamiento	Dosis
Control normoglucémico ( <b>N</b> )	Solución fisiológica	—
Control hiperglucémico ( <b>H</b> )	Solución fisiológica	—
Control hiperglucémico + Fármaco ( <b>HF</b> )	Metformina/Glibenclamida	500 mg/kg / 5 mg/kg
Control hiperglucémico + Extracto de <i>C. urticifolia</i> ( <b>HE</b> )	Extracto acuoso de <i>C. urticifolia</i>	41 mg/kg

N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HF, control hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, Control hiperglucémico + Extracto de *C. urticifolia*. Los animales de los grupos N y el H fueron administrados con 1.5 ml de solución fisiológica. Los del grupo HF fue administrado con el fármaco combinado metformina/glibenclamida de la marca Aurax®.

## c) Evaluación de niveles de glucosa, triglicéridos y porcentaje de HbA1c

Para la medición de los parámetros, se realizó un pequeño corte en la punta de la cola de la rata para extraer sangre de la vena caudal. La glucosa plasmática se midió utilizando glucómetros y tiras reactivas de la marca Accu Chek® Active. Por otro lado, para la medición de triglicéridos, se utilizaron tiras y un glucómetro de la marca Accutrend® Plus, mientras que, para la HbA1c, se utilizaron cartuchos de la marca DCA™ Systems. En la **Figura 15** se muestra el diseño experimental para la medición de los parámetros.



**Figura 15.** Cronograma de evaluación de parámetros durante los 42 días del experimento. GLU: glucosa; TG, triglicéridos; HbA1c: hemoglobina glicada.

#### d) Análisis estadístico

Los datos fueron presentados como medias  $\pm$  error estándar de la media (EEM). Para realizar la comparación entre grupos se realizaron pruebas de ANOVA de un factor, seguidas de pruebas *post-hoc* de Tukey, tomando un valor de significancia de  $p < 0.05$ , mientras que para la comparación de valores a los diferentes tiempos vs. el tiempo basal se realizaron pruebas de ANOVA de un factor, seguidas de pruebas *post-hoc* de Dunnett, con un valor de significancia de  $p < 0.05$ . De igual forma, se realizaron análisis del área bajo la curva (AUC) de la glucosa plasmática y de los triglicéridos. Para realizar las pruebas estadísticas y las gráficas se utilizó el programa GraphPad Prism 9.0.2.

## Resultados

### 1. Glucosa plasmática

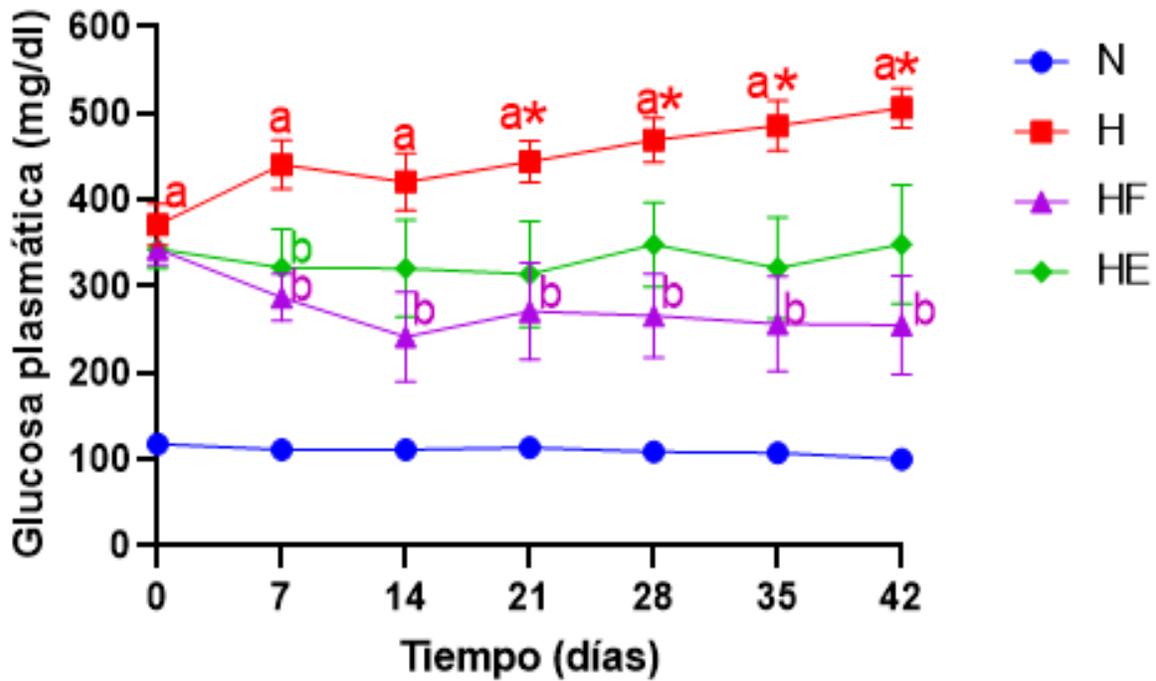
En la **Tabla 4** se observa el comportamiento de los niveles de glucosa en los cuatro grupos de experimentación a lo largo de los 42 días del estudio. Al comparar el día 0 con los otros valores dentro de cada grupo, no se encontraron diferencias significativas en los grupos N, HF y HE. Únicamente el H presentó diferencias significativas con su día 0 a partir del día 21 hasta el 42. Por otro lado, el H presentó diferencias significativas vs N en todos los tiempos, representando el mayor aumento en los niveles de glucosa de los cuatro grupos. Este comportamiento en el aumento de glucosa plasmática se observa de mejor manera en la **Gráfica 1**, el cual puede atribuirse a la glucotoxicidad promovida por la destrucción parcial de las células  $\beta$  pancreáticas a causa de la STZ, y que va empeorando en el transcurso del tiempo.

**Tabla 4.** Valores promedio de glucosa plasmática.

Grupos (n=6)	Días de tratamiento						
	0	7	14	21	28	35	42
N	117 $\pm$ 3	111 $\pm$ 5	111 $\pm$ 3	113 $\pm$ 4	108 $\pm$ 3	107 $\pm$ 2	100 $\pm$ 5
H	371 $\pm$ 24 <sup>a</sup>	440 $\pm$ 28 <sup>a</sup>	420 $\pm$ 33 <sup>a</sup>	444 $\pm$ 23 <sup>*a</sup>	469 $\pm$ 25 <sup>*a</sup>	485 $\pm$ 29 <sup>*a</sup>	506 $\pm$ 23 <sup>*a</sup>
HF	343 $\pm$ 18	287 $\pm$ 27 <sup>b</sup>	241 $\pm$ 51 <sup>b</sup>	271 $\pm$ 56 <sup>b</sup>	266 $\pm$ 48 <sup>b</sup>	256 $\pm$ 55 <sup>b</sup>	255 $\pm$ 57 <sup>b</sup>
HE	343 $\pm$ 22	321 $\pm$ 44 <sup>b</sup>	320 $\pm$ 56	314 $\pm$ 60	348 $\pm$ 43	321 $\pm$ 58	348 $\pm$ 68

Medias (mg/dl  $\pm$  EEM). \* indica diferencia significativa respecto a su T0  $p < 0.05$ ; **a** diferencia significativa vs N  $p < 0.05$ ; **b** diferencia significativa respecto H  $p < 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

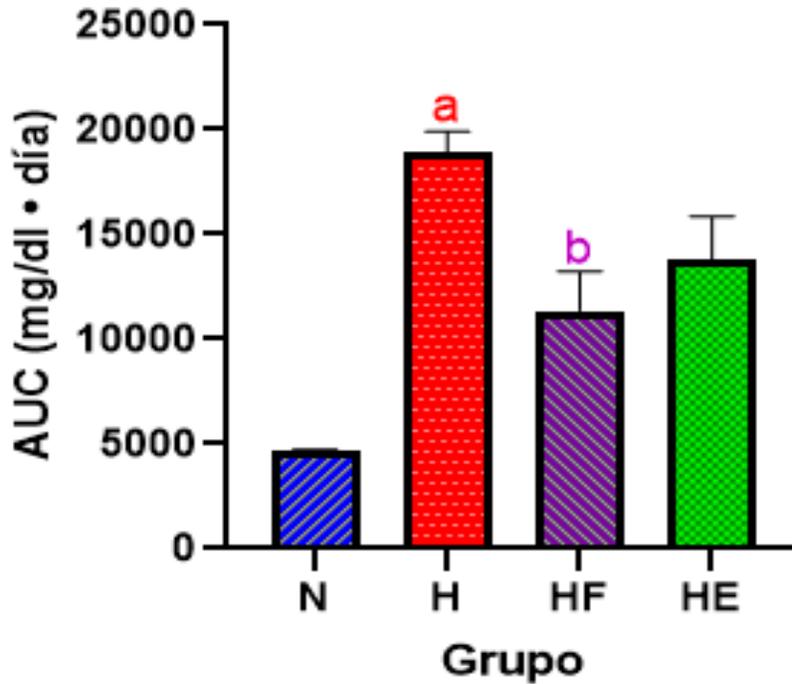
El grupo HF presentó diferencias significativas vs H desde el día 7 hasta el 42. La disminución de los niveles de glucosa plasmática en este grupo experimental respecto al H se puede observar de forma más clara en la **Gráfica 1**, y se asocia a la acción hipoglucemiante de los fármacos metformina y glibenclamida. Por otro lado, aunque el grupo HE sólo presentó diferencias significativas vs H en el día 7, se pudo observar una reducción de alrededor de 158 mg/dl en la glucemia respecto a H para el día 42, lo que se traduce en una disminución del 31%.



**Gráfica 1.** Valores promedio de glucosa plasmática.

Medias (mg/dl  $\pm$  EEM). \* indica diferencia significativa respecto a su T0  $p < 0.05$ ; **a** diferencia significativa vs N  $p < 0.05$ ; **b** diferencia significativa respecto H  $p < 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

Por otra parte, al integrar las áreas de la glucosa plasmática a lo largo de los 42 días, se observó que el extracto de *C. urticifolia* fue capaz de disminuir los niveles de glucosa total en un 27% respecto al grupo H, aunque no de manera significativa (**Gráfica 2**).



**Gráfica 2.** AUC de glucosa plasmática.

Se muestra el AUC de los valores promedio de glucosa plasmática (mg/dl  $\pm$  EEM). **a** indica diferencia significativa vs N  $p < 0.05$  y **b** indica diferencia significativa respecto H  $p < 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

## 2. Hemoglobina glicada (HbA1c)

En la **Tabla 5** se muestra, por un lado, que el grupo N mantuvo sus valores de HbA1c sin cambios y por debajo de los grupos hiperglucémicos a lo largo de todo el experimento, mientras que en el grupo H, este parámetro se incrementó desde el día 21, presentando diferencias significativas respecto al día 0 en el día 21 y en el 42.

**Tabla 5.** Valores promedio de HbA1c.

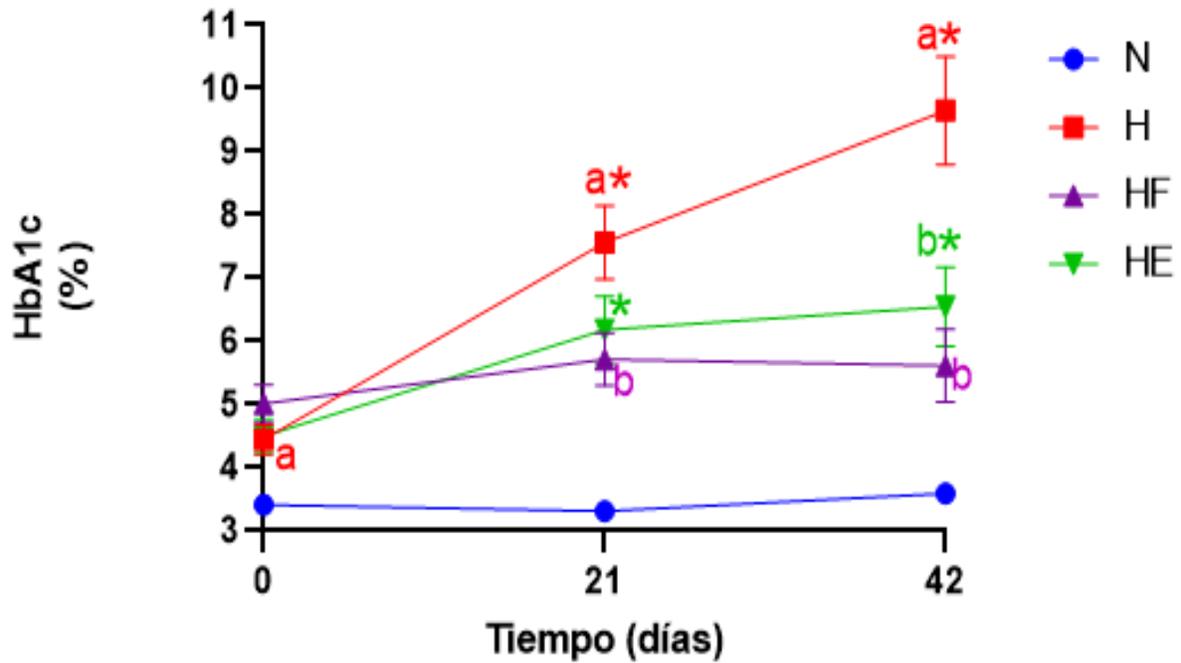
Grupos (n=6)	Días de tratamiento		
	0	21	42
N	3.4±0.05	3.3±0.1	3.6±0.08
H	4.4±0.2 <sup>a</sup>	7.5±0.5 <sup>*a</sup>	9.6±0.8 <sup>*a</sup>
HF	5±0.2	5.7±0.4 <sup>b</sup>	5.6±0.5 <sup>b</sup>
HE	4.5±0.3	6.1±0.5 <sup>*</sup>	6.5±0.6 <sup>*b</sup>

Medias (% ± EEM). \* indica diferencia significativa respecto a su T0  $p \leq 0.05$ ; **a** diferencia significativa vs N  $p \leq 0.05$ ; **b** diferencia significativa respecto H  $p \leq 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

Los niveles de HbA1c del grupo H fueron los más elevados de los tres grupos hiperglucémicos y este comportamiento, que se puede observar mejor en la **Gráfica 3**, se le puede atribuir a la falla en la secreción de insulina por parte de la célula  $\beta$  pancreática a causa de la acción citotóxica de la STZ. En el caso del HF, se presentaron diferencias significativas vs el H en los días 21 y 42, por lo que la combinación de fármacos evitó el incremento de este parámetro.

En relación al tratamiento con extracto, aunque el grupo HE tendió a evitar el aumento de HbA1c a lo largo del experimento, se obtuvieron diferencias significativas contra el día 0 en día 21 y 42. No obstante, al finalizar el estudio los niveles de HbA1c en HE fueron más bajos respecto al H al presentar diferencias significativas vs H en el día 42. Al finalizar los 42 días de

tratamiento, el extracto de *C. urticifolia* fue capaz de evitar el aumento de HbA1c en aproximadamente un 3% respecto al grupo H.



**Gráfica 3.** Valores promedio de HbA1c.

Medias (%  $\pm$  EEM). \* indica diferencia significativa respecto a su T0  $p \leq 0.05$ ; **a** diferencia significativa vs N  $p \leq 0.05$ ; **b** diferencia significativa respecto H  $p \leq 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

### 3. Triglicéridos

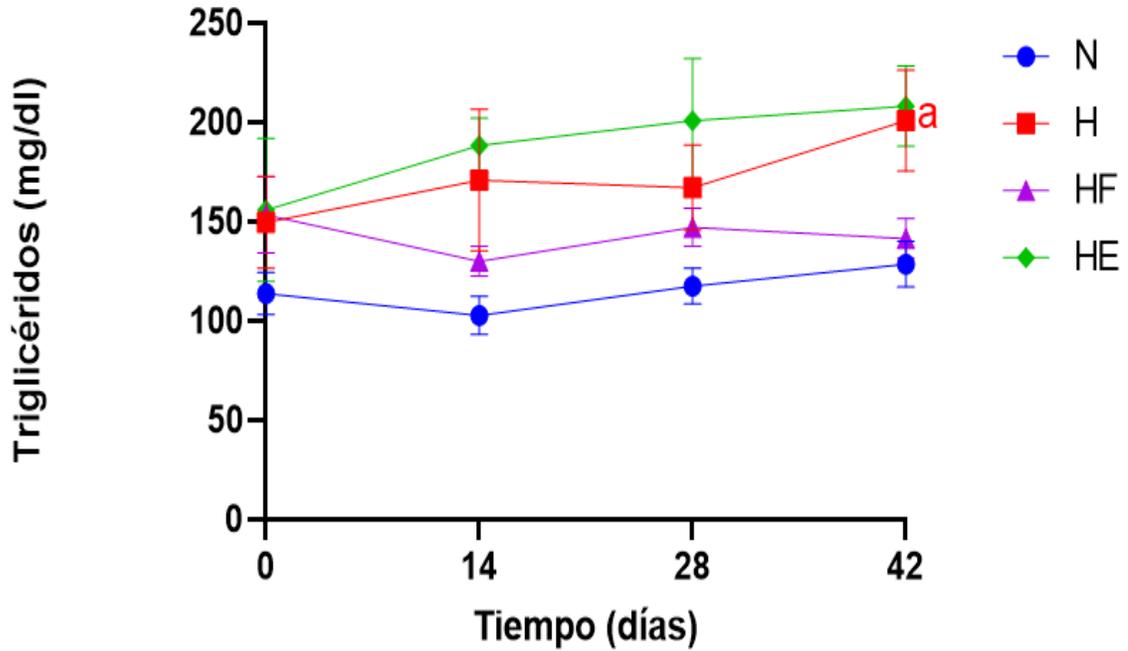
En relación a los análisis estadísticos con los valores promedio de triglicéridos, únicamente se encontraron diferencias significativas entre el N vs el H en el día 42. En la **Tabla 6** se aprecia que el grupo N presentó un ligero aumento hacia el día 42. En el caso del grupo H se observa que la inducción de STZ-NA incrementó los niveles de triglicéridos, los cuales se mantuvieron elevados a lo largo de todo el experimento.

**Tabla 6.** Valores promedio de triglicéridos.

Grupo (n=6)	Días de tratamiento			
	0	14	28	42
N	113±10	102±9	117±9	128±11
	100%	92%	106%	121%
H	149±23	170±35	167±21	200±25 <sup>a</sup>
	100%	115%	108%	140%
HF	153±19	130±7	147±9	141±9
	100%	94%	107%	99%
HE	155±36	188±13	200±31	208±20
	100%	151%	168%	177%

Medias (mg/dl ± EEM). **a** indica diferencia significativa vs N  $p \leq 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

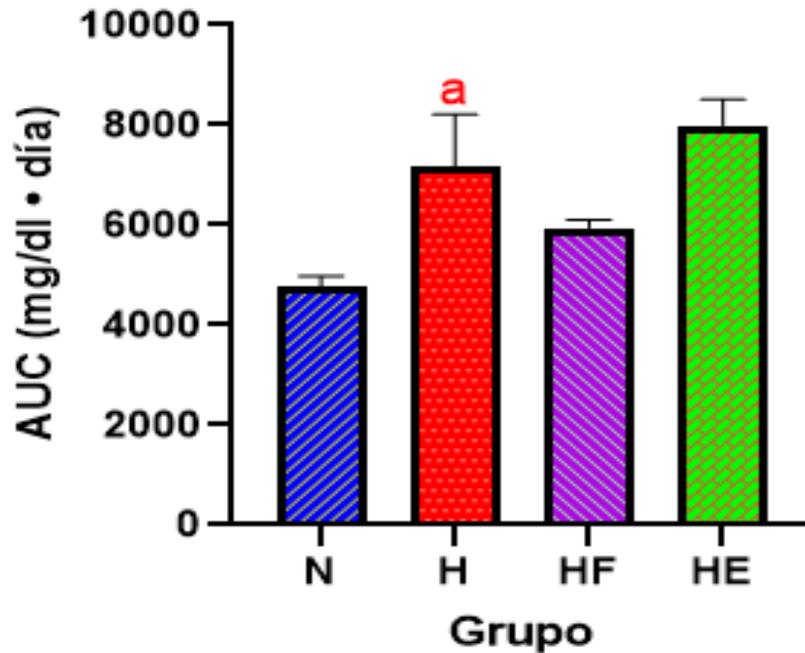
En la **gráfica 4** se observa que la administración de los fármacos en el grupo HF tendió a mantener estos niveles por debajo de los presentados por el grupo H, mientras que el extracto de *C. urticifolia* no afectó el comportamiento de este parámetro.



**Gráfica 4.** Valores promedio de triglicéridos

Medias (mg/dl  $\pm$  EEM). **a** indica diferencia significativa vs N ( $p \leq 0.05$ ). N, control normoglucémico; H, control hiperglucémico; HF, control hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, control hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

En la **gráfica 5** se puede observar que debido a la gran dispersión de los datos, al integrar las áreas de los niveles de triglicéridos, solo el grupo H presentó un aumento en los niveles de triglicéridos vs el N, respecto a los demás grupos ningún tratamiento tuvo un efecto evidente sobre este parámetro lipídico.



**Gráfica 5.** AUC de triglicéridos.

Se muestra el AUC de los valores promedio de triglicéridos (mg/dl  $\pm$  EEM). **a** indica diferencia significativa vs N  $p \leq 0.05$ . N, normoglucémico; H, hiperglucémico; HF, hiperglucémico+metformina/glibenclamida; HE, hiperglucémico+extracto de *C. urticifolia*.

## Discusión

Desde tiempos remotos, un gran número de especies de plantas medicinales han mostrado un grado variable de actividades hipoglucémicas y antihiperoglucémicas (Colimba-Almeida, 2017). Por lo que, desde hace años, científicos investigan la fitoquímica de estas plantas para descubrir sus principios activos, así como los posibles procesos metabólicos en los que están involucrados (Maldonado et al., 2020). En México, los reportes indican la existencia de literatura científica que avala el uso de plantas hipoglucémicas, extractos o compuestos activos en contra de la DM (Esquivel-Gutiérrez et al., 2012). A la fecha, de las más de 300 plantas con acción hipoglucemiante, se han aislado alrededor de 150 compuestos con dicha actividad, de los estudios realizados con estas plantas a nivel experimental, el 90% están enfocados únicamente a efectos agudos, mientras que en menos del 10% se han realizado estudios dirigidos a la determinación de su actividad biológica a largo plazo (crónica). Asimismo, estudios a nivel toxicológico y clínico solo se ha evaluado en un 10% (Rivero-Sánchez, 2011). En este contexto, se requieren de estudios científicos en modelos animales de DM que evalúen la eficacia y seguridad crónica de los principios activos de extractos hipoglucemiantes, dado que de esta manera nos brindarán una idea acerca del comportamiento metabólico a largo plazo de las personas diabéticas que se tratan con extractos herbolarios.

La DM es una enfermedad crónica en la que, además de la hiperglucemia, coexisten alteraciones en el metabolismo de lípidos y proteínas (Rojas de P. et al., 2012). Por ello, en un paciente diabético llevar el seguimiento de su control metabólico es de vital importancia. Esto se realiza mediante la valoración de distintos parámetros: el control glucémico, mediante la determinación de la HbA1c, el control del perfil lipídico, así como revisiones a nivel renal y hepático. Hoy en día, la evaluación de la HbA1c constituye el mejor parámetro de control glucémico ya que se correlaciona con la aparición de complicaciones microvasculares y macrovasculares a largo plazo asociadas a la DM (López-Simarro et al., 2010). Asimismo, se considera el criterio estándar para la valoración del control metabólico en los pacientes con DM (Gómez-Riveros et al., 2021).

La AAD propone un valor de HbA1c menor al 6.5% para el control de los pacientes diabéticos. Asimismo, mantiene como la meta en el tratamiento del paciente diabético un nivel de HbA1c  $\leq 7\%$ , con lo cual se logra reducir significativamente las complicaciones microvasculares y neuropáticas relacionadas con la DM (Campuzano & Latorre, 2010). No obstante, el objetivo de mantener hasta un 7% de HbA1c puede ser menos estricto en pacientes con complicaciones vasculares muy evolucionadas (Barquilla-García et al., 2010).

Con base a los resultados de **glucosa plasmática** obtenidos en la presente investigación, el control N presentó diferencias significativas en los valores de glucosa sanguínea vs el grupo H a lo largo de los 42 días. La elevada hiperglucemia crónica nos indica que la inducción del modelo STZ-NA en el grupo H se logró de manera efectiva debido al déficit de insulina ocasionado por la acción citotóxica de la STZ sobre las células  $\beta$  pancreáticas. Asimismo, se observó un incremento significativo en la hiperglucemia respecto a su tiempo basal a partir del día 21 hasta el 42, lo que indicaría una progresión en el empeoramiento del estado hiperglucémico. A consecuencia de la hiperglucemia sostenida en el grupo H, se produjo un estado de glucotoxicidad, por lo que los niveles altos de glucosa plasmática mantenidos durante todo el experimento inhibieron la producción y acción periférica de la insulina, lo que favorece la apoptosis de las células  $\beta$  pancreáticas (NOM-015, 2010).

La toxicidad de la glucosa es una entidad bien establecida que se ha demostrado en modelos animales de diabetes que contribuye al desarrollo de RI y al deterioro de la secreción de insulina. Varios autores han estudiado de forma experimental el efecto deletéreo de la hiperglucemia crónica sobre la función de la célula  $\beta$  pancreática. En un estudio en ratas de seis semanas tratadas con STZ, se observó una destrucción parcial de los islotes pancreáticos, déficit de la secreción de insulina e hiperglucemias persistentes en ayunas y postprandiales, por lo que se concluyó que la reducción de la capacidad secretora por parte de las células  $\beta$  es sustancialmente mayor que la que se podría atribuir exclusivamente a la destrucción de la masa  $\beta$  celular por parte de la STZ. Estos resultados sugieren que los niveles crónicamente elevados de glucosa por sí mismos pueden inducir un defecto funcional en la liberación de insulina (Durruty & García, 2001). Cabe mencionar que, en pacientes con DMT2, la glucotoxicidad intensifica los daños estructurales y funcionales de las células  $\beta$  pancreáticas y el resto de órganos sensibles a la insulina (Torrades, 2005).

En modelos experimentales de DMT2, los valores promedio de glucosa plasmática reportados por diversos autores van de 118.91 mg/dl a los 349.51 mg/dl, lo cual depende del manejo nutricional y del estado fisiológico de los animales (Figuroa et al., 2013). Es preciso señalar que en la presente investigación los niveles glucosa plasmática en los grupos hiperglucémicos (H, HF e HE) se asemejan a los de un paciente diabético no controlado (300 mg/dl) y, según indica la AAD, a estos niveles de glucemia se recomienda la introducción temprana de insulina. Dichos niveles de glucosa son muy frecuentes en poblaciones rurales, en las que desconocen que tienen DMT2, lo que ocasiona que la hiperglucemia empeore a tal grado de ocasionar complicaciones graves. En comunidades rurales, la población manifiesta que la primera alternativa que tiene para atender sus problemas de salud es el tratamiento con plantas medicinales, aunque si el problema persiste, recurren a atención médica (Gallegos-Zurita, 2016).

El apego a la medicina tradicional va más allá de que las plantas medicinales sean recursos abundantes, accesibles y conocidos, ya que se enfoca en la dimensión biológica del proceso salud-enfermedad que atiende los pensamientos, sentimientos y comportamientos relacionados con la salud, así como la forma en que éstos influyen o, en algunos casos, son determinados por la sociedad y la cultura (Herrera-Tapia et al., 2017). La medicina tradicional se ha encargado de mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas. De igual manera, para tratar sus padecimientos dentro de las comunidades podemos encontrar una amplia gama de “especialistas” considerados terapeutas tradicionales, todos ellos, además de utilizar la herbolaria, realizan ceremonias o rituales con un alto contenido de simbolismos curativos. En general, los médicos tradicionales han sido un factor de identidad cultural y un recurso curativo de amplio reconocimiento social (Jiménez-Silva, 2017).

No obstante, en nuestro país los saberes de la medicina tradicional van más allá del arraigo socio-cultural, puesto que forman parte de una estrategia de sobrevivencia, sobre todo entre los sectores que habitan en zonas rurales y/o que migran a las periferias urbanas, es decir, en conjuntos de baja escolaridad, que han sido marginados en mayor o menor medida de la modernidad y del proceso de globalización del mundo (González-Chávez, 2017). Es evidente que las condiciones de marginalidad y pobreza exponen a estos grupos a un espectro muy amplio de riesgos para su salud, que no son identificados ni atendidos debido a su falta de acceso a los servicios de salud (Reyes-Morales et al., 2009). En México, para las zonas rurales e indígenas,

las plantas son el único recurso al alcance de las personas, a falta de instituciones médicas y recursos monetarios para la adquisición de medicamentos (Sánchez-Aguirre et al., 2021).

En zonas urbanizadas, cuando la DM empieza a manifestarse, alrededor del 30 al 50% de las personas desconocían su problema de salud. En contraste, en las zonas rurales esto ocurre casi en un 100% de los casos. Ante tal panorama, en el escenario de la DM, la identificación temprana de factores de riesgo para desarrollarla, así como su oportuna detección en aquellas personas que ignoran su estado, permitirá implementar nuevas estrategias preventivas para disminuir la tasa de la enfermedad (Ávila-Sansores et al., 2020).

Debido a las razones descritas anteriormente, las plantas medicinales son empleadas de manera no regulada por muchas poblaciones, ya que consideran que, al ser productos naturales, no producen efectos tóxicos adversos en comparación con los productos de síntesis, como son los fármacos o medicamentos (Sánchez-Insfrán et al., 2019). Más aún, el uso tradicional fundamental de plantas es en forma de cocción de sus partes o enteras (mezcla de compuestos) y no de sus principales componentes aislados y purificados (García-Luján et al., 2009).

En nuestro país, una gran cantidad de plantas hipoglucemiantes no cuentan con datos concluyentes acerca de su perfil de eficacia y seguridad a diferencia de los principios activos utilizados actualmente en el tratamiento de pacientes con DMT2 (Gallego & Ferreira, 2015). Por tal razón, los estudios que se desarrollan en modelos animales con un tratamiento herbolario, destinados a conocer el potencial terapéutico de los principios activos presentes en los extractos de las plantas, así como determinar las posibles consecuencias tóxicas, son de vital importancia (Victoria & Morón, 2010). En el caso de *C. urticifolia* en un estudio en donde se evaluó la toxicidad aguda del extracto acuoso se encontró una dosis letal media ( $DL_{50}$ )  $> 5,000$  mg/kg en ratas Wistar, por lo que se concluyó una alta seguridad terapéutica para esta especie. Pese a ello, se recomienda no descartar estudios futuros de toxicidad crónica y citotoxicidad para sustentar las futuras investigaciones clínicas de esta especie (Torres-Rodríguez et al., 2016).

Por otro lado, respecto al grupo HF, no se presentaron diferencias significativas en los valores de glucosa plasmática de cada tiempo contra el día 0. Sin embargo, sí presentó una significancia desde el día 7 hasta el día 42 vs H, lo que indica que los fármacos controlaron los niveles de glucosa plasmática. Si bien la combinación de fármacos hipoglucemiantes no fue

capaz de disminuir las altas concentraciones de glucosa, ésta sí logró que los niveles de glucemia se mantuvieran dentro de un rango a lo largo del experimento. Esto se debió al efecto en conjunto de ambos fármacos: por un lado, la metformina actúa sobre el hígado reduciendo la producción de glucosa por medio de la disminución de la gluconeogénesis y, por el otro, mejora la función de la insulina secretada por la acción de la glibenclamida, promoviendo la captación periférica de glucosa y la inhibición de la lipólisis, por ejemplo. De igual forma, la metformina aumenta la producción de GLP-1, un factor que incrementa la secreción de insulina y potencia la actividad de esta hormona al mejorar la sensibilización en tejidos periféricos como músculo esquelético, tejido adiposo e hígado (Rena et al., 2017).

En relación a los niveles de glucosa del grupo HE, se observó que éstos se encontraron por debajo de los presentados por el grupo H, mostrando una tendencia a parecerse a los valores del grupo HF (**Gráfica 1**). Al finalizar el estudio, la glucemia en el grupo H aumentó en 135 mg/dl respecto a su tiempo inicial, mientras que HE, al no presentar diferencias significativas respecto a su día 0, indicaría que la administración crónica del extracto evitó el incremento de la hiperglucemia. Asimismo, a pesar de que los datos en los niveles de glucosa del grupo HE presentaron fluctuaciones y una alta dispersión a lo largo del tiempo, hubo diferencias significativas en el día 7 vs el H, y se pudo observar una reducción aproximada de 158 mg/dl en la glucemia del HE respecto al grupo H para el día 42 (**Tabla 4**), es decir, el grupo HE presentó una disminución del 31% de glucosa, sugiriendo que incrementar el número de individuos podría haber evidenciado mejor el efecto que presentó la administración repetitiva del extracto a dosis tradicional.

Al llevar a cabo el análisis del AUC de los niveles de glucosa plasmática, únicamente se encontraron diferencias significativas entre los grupos H y N, y el HF respecto al H. En el caso del HE, a pesar de que no hubo significancia, el AUC de este grupo se asemeja al HF y se encuentra por debajo del H, mostrando una tendencia a controlar la hiperglucemia a lo largo de los 42 días de experimentación. Estos resultados obtenidos pueden ser asociados a dos aspectos: el insuficiente tamaño de la muestra y el gran daño citotóxico ocasionado por la STZ que generó una hiperglucemia difícil de controlar tanto para los fármacos como para el extracto.

En la presente investigación, la evaluación de **HbA1c** se llevó a cabo debido a que una de las consecuencias de la hiperglucemia crónica es la glicación de proteínas. Este parámetro nos indica el tiempo que llevan estas proteínas expuestas a altas concentraciones de glucosa o al estado glucémico del paciente (Aparicio & Durán, 2015). En diabéticos, la medición de la HbA1c es una de las pruebas que se sugieren para el monitoreo del correcto control de los niveles de glucosa a través del tiempo, ya que es una reacción que se da de forma espontánea en un cierto porcentaje del total de esta proteína y es proporcional al tiempo de exposición y concentración de glucosa sanguínea (Figueroa, et al., 2013).

En humanos, la HbA1c se forma continuamente durante los 120 días del eritrocito, por lo que su medición refleja el promedio de glucosa durante los últimos 3 meses. Además, mide el cociente de las glucemias en ayunas y posprandial; cada cambio de 1% de HbA1c corresponde a una variación de 35 mg/dl de glucemia media (Pereira-Despaigne et al., 2015). Por su parte, en ratas, la vida media del eritrocito va de los 45 a 50 días (Bequer et al., 2016), por lo que, en este estudio, se pudo observar el promedio de la HbA1c que presentaron los individuos a lo largo de los 42 días.

Los análisis estadísticos en relación a la HbA1c corroboran que los niveles de glucosa plasmática en el grupo H se elevaron a lo largo del experimento. Al finalizar el estudio, los animales de este grupo presentaron niveles cercanos al 9% de HbA1c. Aunado a esto, en estudios epidemiológicos, se ha observado que a partir de valores superiores al 8% aumentan las complicaciones microvasculares y macrovasculares asociadas a la DMT2 (Maestre et al., 2011). Cabe señalar que las complicaciones macrovasculares constituyen la causa principal de morbilidad y mortalidad en los pacientes con DM en todo el mundo (Isea et al., 2012) y esto se debe a que aproximadamente el 68% de los casos de DM se diagnostican como consecuencia de la manifestación clínica de alguna de sus complicaciones crónicas (Delgado-Rospigliosi et al., 2006). Por ello, la HbA1c es un instrumento efectivo y preciso para el diagnóstico precoz de la DMT2 y en consecuencia, iniciar estrategias de salud para disminuir la carga en salud asociada con las complicaciones de esta enfermedad (Velázquez-Maldonado, 2010).

Dichas estrategias deben enfocarse principalmente en la detección de los casos no diagnosticados y la HbA1c es una buena herramienta para lograrlo, ya que es menos influenciada

por el estrés agudo de la enfermedad. Asimismo, en la detección de casos nuevos de DM, es de gran utilidad en pacientes gravemente enfermos con hiperglucemia (Osuna et al., 2014). Sin embargo, la importancia de la HbA1c como indicador del control metabólico de glucosa no solo radica en que se ha demostrado que su disminución se relaciona con una reducción del riesgo de complicaciones microvasculares sino que, además, es un buen predictor de complicaciones a largo plazo, pues su cuantificación es un indicador confiable que mide el estado de hiperglucemia crónica en forma más eficaz que la glucosa plasmática.

En un estudio realizado en una zona urbana y en una zona rural en Costa Rica, se observó una pobre correlación de la glucemia en ayunas y el porcentaje de HbA1c. En cifras inferiores a 126 mg/dl de glucemia en ayunas, el tratamiento no había sido modificado debido a que se asumió un buen control glucémico. Sin embargo, el 49% de los pacientes de la zona urbana y el 47.9% de la zona rural, que obtuvieron glucemias en ayunas <126 mg/dl, manejaron cifras de HbA1c >8%, por lo que, si hubieran sido valorados sólo a la luz de la glucemia, no se hubiera realizado un cambio e intensificación de su tratamiento farmacológico posterior, persistiendo el consecuente daño de órganos blancos por las hiperglucemias no documentadas en los tres meses anteriores a su intervención farmacológica.

Adicionalmente, mientras que solo el 21.1% de la zona urbana y el 24.1% de la rural estaban en rangos normales <6.5% de HbA1c, el 12.5% de los pacientes urbanos y el 19.1% de los rurales con glucemias en ayunas en rangos ideales (<110 mg/dl), tenían HbA1c en rangos considerados "críticos" (>9.5%). Dicho control glucémico, analizado según el porcentaje de HbA1c, no fue satisfactorio en ninguna de las zonas y no es aceptable para los criterios de la AAD (HbA1c > 6.5%) (Laculé & Jiménez, 2004). Los resultados de este estudio demuestran la importancia de cuantificar la HbA1c además de los valores de glucosa.

Respecto a nuestro país, en un estudio realizado en zonas rurales y urbanas de siete estados de la República Mexicana (Guerrero, Jalisco, Estado de México, Morelos, Oaxaca, San Luis Potosí y Sonora) se encontró que el valor promedio de pacientes diabéticos observado para HbA1c fue de 9.02%. Además, el porcentaje de HbA1c de acuerdo al tiempo del diagnóstico se incrementó de 8.4%, en el grupo de menos de un año de diagnóstico, a 9.2%, en el grupo de 10 años o más. En contraste, el valor de HbA1c varió de forma invertida con respecto a la edad: se

observaron valores de 8.6% en personas menores de 40 años, de 9.8% en personas de 51-55 años, y de 8.4% en adultos mayores de 70 años. Asimismo, al momento de la encuesta, solo el 30% de los participantes tenía concentraciones de HbA1c  $\leq 7\%$ , mientras que el 50% tenía niveles por encima del 9.5%.

Cabe destacar, que pese a que el 85% de la población estudiada contaba con tratamiento farmacológico, esta variable no se asoció a un mejor control glucémico. Esto se debe a que el uso de medicamentos sólo está justificado cuando el paciente no se controla con dieta y ejercicio y a que los pacientes no acuden al médico sino hasta que empiezan a presentar las complicaciones que resultan de un descontrol metabólico. Más aún, los pacientes que requieren de medicamentos tienen un tiempo de evolución de la enfermedad más largo que aquellos que no los toman. Lo anterior resulta alarmante e indica que es urgente revisar a detalle el modelo de atención del sector salud y la calidad del mismo (Hernández-Romieu et al., 2011), no solo en nuestro país, sino también en otras regiones de Latinoamérica.

En otro estudio se comprobó que la HbA1c disminuyó 2.2% en pacientes diabéticos tratados con metformina/glibenclamida, obteniéndose valores de HbA1c  $< 7\%$  (Godoy-Arno et al., 2001). En concordancia con estos resultados, en la presente investigación, el grupo HF no presentó diferencias significativas respecto al día 0, sin embargo sí presentó significancia respecto al H, por lo que se puede afirmar que el fármaco evitó que los niveles de HbA1c se incrementaran a lo largo del experimento.

En cuanto al grupo tratado con el extracto de *C. urticifolia*, los resultados indicaron que hubo un aumento significativo en el porcentaje de HbA1c vs día 0 a partir del día 21; sin embargo, se observó que la administración crónica de esta planta disminuyó significativamente la HbA1c respecto al grupo H en el día 42, pues, por un lado el grupo HE presentó niveles de HbA1c de 6.5%, mientras que el grupo H niveles de 9.6 %, lo que significa que el grupo H aumentó 3% más respecto al HE (**Tabla 5**). Esto fue de gran beneficio, ya que sólo la administración de *C. urticifolia*, a dosis tradicional, mantuvo la hiperglucemia por debajo de niveles que pueden llevar a un riesgo muy elevado para desarrollar alguna posible complicación asociada a la DMT2 (González-Pedraza et al., 2015).

En la **gráfica 3**, se observó que los niveles de HbA1c del grupo HE se encontraron por debajo del H. El control ejercido por el extracto acuoso se podría relacionar a los efectos positivos que se han reportado de los compuestos que se han identificado en él. Se ha demostrado que los agentes con poder antioxidante o captador de radicales libres como son el **ácido clorogénico** y la **rutina**, un glucósido flavonoide, son capaces de inhibir las reacciones oxidativas asociadas con la glicación (Elgawish et al., 1996). Por lo cual, estos compuestos presentes en este tipo de extracto, podrían ser los responsables de evitar una mayor glicación de esta proteína al estar involucrados en diversos mecanismos que repercuten en el metabolismo de la glucosa.

Diversos estudios describen los posibles mecanismos involucrados del **ácido clorogénico** sobre el metabolismo de la glucosa. Rodríguez de Sotillo & Hadley (2002) estudiaron el efecto de este compuesto en ratas Zucker y observaron una notoria disminución de la glucosa plasmática, así como un aumento en la insulina plasmática. Zheng et al. (2007) informó que este compuesto inhibe las actividades de la  $\alpha$ -amilasa y la  $\alpha$ -glucosidasa, enzimas involucradas en la digestión de los carbohidratos, reduciendo la concentración de glucosa en sangre postprandial. Tunnicliffe et al. (2011) investigó la respuesta de GIP en ratas Sprague-Dawley y demostró que el tratamiento con ácido clorogénico resultó en efectos beneficiosos sobre los niveles de glucosa plasmática debido a alteraciones observadas en las concentraciones de GIP. Prabhakar & Doble (2009) revelaron que estimuló el transporte de glucosa a través del aumento expresión de GLUT4 y transcrito de PPAR- $\alpha$ . Ong et al. (2012) encontraron que el ácido clorogénico estimula el transporte de glucosa en el músculo esquelético a través de la activación de AMPK. Posteriormente, comprobaron que la administración crónica de este compuesto inhibió la expresión y la actividad de la G6Pasa hepática, atenuó la esteatosis hepática, mejoró los perfiles de lípidos, así como la captación de glucosa por el músculo esquelético, lo que a su vez mejoró el nivel de glucosa en ayunas, la tolerancia a la glucosa, la sensibilidad a la insulina y dislipidemia en ratones *Lepr db/db*, los cuales se caracterizan por la ausencia del receptor de leptina y por lo tanto desarrollan obesidad y secundariamente DMT2, por lo que concluyeron que el ácido clorogénico puede mejorar el metabolismo de la glucosa y los lípidos a través de la activación de AMPK.

Por otra parte, Arion et al. (1997) revelaron que el ácido clorogénico puede inhibir selectivamente la G6Pasa hepática, una enzima involucrada en la gluconeogénesis. Aragão et al. (2010) identificó que este compuesto actúa como un inhibidor específico del componente translocasa de glucosa-6-fosfato (translocasa G1-6-P) en microsomas de hígado de rata. Wang et al. (2012) investigaron los efectos del ácido clorogénico en la G6Pasa hepática, la expresión de GLUT4 en músculo esquelético, la glucosa en sangre y los niveles de lípidos en ratas inducidas por STZ y encontraron que este compuesto disminuyó la glucosa en sangre, triglicéridos, el colesterol total, la expresión de G6Pasa y mejoró la sensibilidad a la insulina, así como la regulación a la alza de los niveles de ARNm de GLUT 4.

En un estudio crónico en ratas STZ-NA, donde se evaluó la actividad del ácido clorogénico por 45 días, se observó una mejoría en la arquitectura de los islotes pancreáticos en las ratas, esto se asoció a la gran capacidad de este compuesto para aliviar el estrés oxidativo inducido por la STZ. Además, hubo una disminución en la glucosa plasmática y los niveles de HbA1c, un aumento en los niveles de insulina y de compuestos antioxidantes, así como una disminución en la peroxidación lipídica. Con base en estos resultados, se propuso que el ácido clorogénico actuó como un sensibilizador de insulina sobre las células pancreáticas. De igual forma, la disminución en el nivel de glucosa plasmática se asoció a su capacidad para inhibir la gluconeogénesis hepática, específicamente al inhibir a la enzima G6Pasa (Krishnamoorthy et al., 2010).

Por otra parte, en relación a la **rutina**, se ha demostrado que, al igual que el ácido clorogénico, reduce la absorción de glucosa en el intestino delgado de ratas mediante la inhibición de las  $\alpha$ -glucosidasas y la  $\alpha$ -amilasa (S. Jo et al., 2009). En islotes pancreáticos de ratas inducidas STZ-NA, se demostró que la rutina aumentó significativamente la secreción de insulina (Esmaeili et al., 2009). También, estimuló el transporte de glucosa al músculo mediante la activación de la síntesis y translocación del transportador GLUT4. Concluyendo que la vía de la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K)/AKT y la vía de las cinasas activadas por mitógenos (MAP cinasas) están involucradas en la transducción intracelular de la rutina, lo que lleva a un efecto estimulante sobre la captación de glucosa en los tejidos periféricos (Kappel et al., 2013). De igual forma, en otro estudio, la rutina controló la glucemia a través de la mejora de la actividad del receptor de insulina, lo que ayudó a promover la vía de señalización de esta hormona, la

PI3K, que provocó una mayor translocación de GLUT4 y una mayor captación de glucosa (Hsu et al., 2014). En ratas diabéticas, se demostró que el tratamiento con rutina disminuyó la actividad de la G6Pasa en hígado y riñón además de reducir la actividad de la F1,6Pasa, otra enzima gluconeogénica principal, en hígado, riñón y músculo. De igual manera, en todos estos tejidos, la rutina aumentó la actividad de la hexocinasa, una enzima que participa en la vía de la glucólisis (Stanley & Kamalakkannan, 2006).

En un estudio crónico en ratas STZ-NA, la administración de rutina por 30 días aumentó la tolerancia a la glucosa, la cantidad de insulina sérica y el glucógeno hepático, disminuyó la glucosa plasmática en ayuno y los niveles de HbA1c, así como los niveles de triglicéridos y el daño pancreático. Con base en estos resultados, se concluyó que la rutina actúa a través de varios mecanismos antihiper glucemiantes. Al ser un compuesto capaz de eliminar los radicales libres e inhibir la peroxidación de lípidos, evitó el estrés oxidativo inducido por la STZ sobre las células  $\beta$ , promoviendo la regeneración de los islotes pancreáticos y, consecuentemente, una mayor secreción de insulina. A nivel hepático hubo una disminución en la gluconeogénesis al demostrar que la rutina redujo las actividades de la G6Pasa, una enzima que cataliza la reacción final de este proceso y, por lo tanto, un factor clave en la regulación de la glucemia (Motta et al., 2002).

En tejido adiposo y muscular se observó un incremento en la captación de glucosa periférica, debido a una mayor expresión de GLUT4, por lo que se concluyó que la rutina puede mejorar alguna parte de la vía de señalización de la insulina. De igual manera, en tejido adiposo, se observó una mejor expresión de PPAR $\gamma$  y una disminución en la expresión de resistina, una hormona que promueve la RI y disminuye el transporte de glucosa en este tejido. Estudios recientes han informado que tanto la expresión de resistina como sus concentraciones séricas se encuentran aumentadas en individuos obesos y con DMT2 (Sánchez-Muñoz et al., 2005), por lo que la administración de rutina promovió el aumento de los receptores PPAR $\gamma$ , la captación y oxidación de AGL, mejorando la sensibilidad a la insulina al regular hormonas, citocinas y proteínas de los adipocitos que están involucradas en la RI. Por otra parte, logró reducir la absorción de glucosa intestinal, lo que puede estar asociado a la inhibición de las  $\alpha$ -glucosidasas (Ahmed et al., 2010).

Igualmente, en otro estudio donde se evaluó la actividad de la rutina en un modelo STZ-NA, se observó que las ratas administradas con rutina por 14 días presentaron una disminución

de glucosa plasmática en ayunas, triglicéridos y colesterol total, así como un aumento en la tolerancia a la glucosa. Se concluyó que la rutina promueve el aumento en la captación de glucosa, sugiriendo que el posible mecanismo de acción podría ser mejorar la utilización de glucosa periférica, ya sea mediante la estimulación directa de la captación de glucosa o la secreción de insulina (Jadhav & Puchchakayala, 2012).

Con base en los estudios mencionados anteriormente, podemos concluir que el efecto hipoglucemiante crónico de *C. urticifolia* en la presente investigación puede implicar alguno de los siguientes mecanismos: secreción de insulina, captación de glucosa en tejido muscular e inhibición de la gluconeogénesis hepática. En relación al mecanismo de secreción de insulina, a pesar de que diversos autores reportan que esta especie lo promueve, en un estudio reciente realizado por el laboratorio de Etnofarmacología en donde se evaluó el efecto del extracto acuoso de *C. urticifolia* sobre la concentración plasmática de insulina en ratas normoglucémicas a una dosis de 710 mg/kg, se observó una disminución significativa de los niveles de glucosa e insulina plasmática a lo largo del tiempo, por lo que se concluyó que el efecto hipoglucemiante observado, pudo deberse a que el ácido clorogénico, compuesto presente en este tipo de extracto, actuó como un posible sensibilizador de la insulina en los tejidos periféricos (datos no publicados).

No obstante, no hay que descartar estudios futuros para identificar, de manera más precisa, los mecanismos por los que actúan en conjunto los principios activos presentes en esta especie.

Es importante mencionar que el efecto de un extracto sobre cualquier parámetro metabólico evaluado no logrará niveles similares a los del fármaco puesto que éste contiene el principio activo puro a una dosis estandarizada con el fin de tratar algún aspecto fisiopatológico específico de la enfermedad. Por su parte, un extracto herbario contiene un amplio abanico de principios activos que actúan sinérgicamente en diversos procesos metabólicos (Pallardo-Fernández, 2016). Asimismo, durante su elaboración, se utilizan medios físicos como calentamientos que pueden alterar la actividad farmacológica de los constituyentes orgánicos y pueden verse afectados en su concentración dependiendo de factores ambientales de cultivo o

localización, características del suelo, humedad, temperatura ambiente, altitud, etc. así como de la parte utilizada (hojas, tallos, flores, raíces, semillas) (Tres, 2006).

Otro punto importante a discutir es que la DM afecta el metabolismo de los lípidos, un evento fisiopatológico denominado como dislipidemia diabética, siendo el aumento de **triglicéridos**, una de sus principales anomalías en las lipoproteínas (Athyros, et al., 2018), entre otras. El incremento de los niveles de triglicéridos es consecuencia del aumento de la lipogénesis hepática y del metabolismo de los ácidos grasos en el tejido adiposo en respuesta a los niveles elevados de glucosa en sangre y la RI en la DM2 (Eid et al., 2019). Por estas razones, se evaluaron los niveles de triglicéridos en la presente investigación.

Al llevar a cabo los análisis estadísticos correspondientes a este parámetro, únicamente se encontraron diferencias significativas al comparar el N vs el H en el T42 (**Tabla 6**) lo que nos indica que el modelo STZ-NA incrementó los triglicéridos al finalizar el estudio. En los demás grupos experimentales no se observaron diferencias significativas, debido a la gran variación de los datos que aquí se presentan. A pesar de ello, se pudo observar que en el caso del grupo HE los triglicéridos aumentaron (**Gráfica 4**). Específicamente, en el grupo tratado con el extracto de *C. urticifolia* los niveles se mantuvieron elevados a lo largo del experimento, con un notable aumento hacia el T42. Se considera que el criterio más reciente para el incremento de triglicéridos es que existe un fallo en la supresión de la lipólisis que fisiológicamente se debería producir por actividad de la insulina (Costa & Spinedi, 2017).

En un estudio, donde se evaluó la disfunción adipocítica en ratas STZ-NA, se demostró que la acción inhibitoria de la insulina sobre la lipólisis estuvo deteriorada, por lo que se observó una disminución en la lipogénesis y un aumento en la lipólisis, así como bajos niveles de adiponectina, una hormona secretada por los adipocitos que regula el metabolismo energético, ya que estimula la oxidación de AGL, reduce los triglicéridos plasmáticos y mejora el metabolismo de la glucosa mediante un aumento de la sensibilidad a la insulina (Palomer et al., 2005).

En dicho estudio, también se observaron niveles bajos de leptina, una hormona que promueve la reducción de la ingesta energética por medio de la señal de saciedad en el cerebro (Rosado et al., 2006) A nivel fisiológico, la leptina, al igual que la adiponectina, induce un efecto sensibilizador de insulina, al promover la oxidación de AGL (Sánchez-Muñoz et al. 2005). Con

base en esos resultados, en dicho estudio se concluyó que la disminución de estas hormonas está asociada a la reducción del transporte y metabolismo de la glucosa, debido a que previamente se había demostrado que el metabolismo de la glucosa que proporciona ATP en los adipocitos es un requisito previo para la secreción de adiponectina y leptina (Szkudelska et al., 2014).

Por lo mencionado anteriormente se puede concluir que, en la presente investigación, el aumento de los triglicéridos en las ratas inducidas con STZ-NA, fue debido a que los adipocitos fueron más resistentes a la acción antilipolítica de la insulina, por lo tanto hubo una disminución en la captación y utilización de los AGL provenientes tanto de la dieta como del hígado y, como consecuencia, promovió la liberación constante de AGL (lipólisis) a la circulación sistémica (Mendivil & Sierra, 2005). Estos AGL inducen una mayor síntesis hepática de triglicéridos, los cuales derivan de los AGL provenientes de la lipólisis a nivel de tejido adiposo, de la captación hepática de remanentes de las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de los quilomicrones (Carvajal, 2014).

Es preciso señalar que los AGL en circulación sistémica llegan a otros órganos como hígado, páncreas y riñón, ocasionando su acumulación intracelular. Este exceso de lípidos contribuye al daño de estos órganos mediante un proceso denominado lipotoxicidad. En modelos animales de diabetes (ratas STZ, ratones *db/db*, ratas ZDF), se ha observado que existe una acumulación de lípidos a nivel renal, acompañado de una sobreexpresión del factor de transcripción SREBP (Izquierdo & Medina, 2012), el cual está involucrado en la homeostasis lipídica. Cabe mencionar que, en el páncreas, el aumento de los niveles de triglicéridos puede causar disfunción de las células  $\beta$  y acelerar su apoptosis a través de la lipotoxicidad (Contreras & Santiago, 2011).

En el grupo HF, los niveles de triglicéridos se mantuvieron, gracias a que la metformina/glibenclamida promovieron la secreción y sensibilización de insulina, lo que, a nivel de tejido adiposo, mejora la señalización de esta hormona llevando a cabo la adecuada regulación en el metabolismo lipídico de AGL a triglicéridos (lipogénesis), para su posterior utilización durante periodos de ayuno o estrés. Asimismo, esta hormona pudo estar involucrada en la inhibición de la lipólisis, por lo que, de esta manera, se mantuvieron los niveles de triglicéridos en plasma dentro de este grupo experimental. En el caso de la metformina, se sabe

que en tejido adiposo regula la adipogénesis, la lipólisis y la oxidación de AGL, lo cual reduce la liberación de AGL por parte de este tejido. Mientras que en hígado afecta la síntesis y el catabolismo lipídico, disminuyendo la producción de AG y de triglicéridos, aumentando al mismo tiempo la oxidación de los AGL (Perel & Grosembacher, 2021). También inhibe la lipogénesis, lo cual es atribuible a AMPK, proteína que induce la fosforilación e inactivación de la acetil-coenzima-A-carboxilasa (ACC). Esta enzima interviene en la biosíntesis y oxidación de los AG. De esta forma, la metformina incrementa la fosforilación de la ACC, induce la reducción de triglicéridos y aumenta la oxidación de AG (Ayala-Yáñez et al., 2020).

En relación al comportamiento general de los niveles de triglicéridos mediante el análisis de AUC, se corroboró que el modelo STZ-NA incrementa los triglicéridos de manera significativa, al presentar diferencias significativas el grupo N vs el H. De igual forma, se puede observar que el grupo HE presentó una mayor área bajo la curva respecto a los otros grupos experimentales, concluyéndose que *C. urticifolia* no tuvo efectos sobre el metabolismo de estas biomoléculas (**Gráfica 5**).

Finalmente, *C. urticifolia* ejerció un efecto hipoglucemiante que se tradujo en una disminución de la HbA1c en alrededor de un 3%. Este resultado contribuye a que, en pacientes con DMT2 no controlada, *C. urticifolia* evitaría el empeoramiento de la glucemia con el tiempo. Por lo que la administración crónica de este extracto ayudaría a retrasar la aparición o el desarrollo de las complicaciones asociadas a la DMT2. Se esperaría que con una intervención más temprana, en pacientes con hiperglucemia menos severa, se observase un efecto hipoglucemiante más marcado. Por esta razón, se propone que en futuros estudios crónicos, en modelos experimentales de diabetes, se evalúe el efecto crónico de *C. urticifolia* en ratas con hiperglucemia menos severa y bajo la administración vía oral de una mayor dosis del extracto.

## Conclusiones y perspectivas

Con base en los resultados obtenidos, se concluye que el extracto acuoso de *C. urticifolia* tiene un efecto hipoglucemiante en ratas STZ-NA con hiperglucemia severa que se traduce en una reducción significativa de la HbA1c.

Se sugiere que para estudios crónicos futuros en modelos de DMT2 se considere la utilización de una dosis estandarizada del extracto, así como niveles de hiperglucemia no tan elevados, simulando la intervención terapéutica temprana de *C. urticifolia*, debido a que en el presente estudio, la hiperglucemia severa fue el factor que intervino para que no se visualizara un efecto hipoglucemiante marcado para esta especie.

De igual forma, aunque en este estudio no se observaron efectos tóxicos utilizando la dosis tradicional, no se debe descartar la realización de estudios toxicológicos crónicos, debido a que no existen antecedentes previos de este tipo para esta especie.

## Bibliografía

- Ahmed, O.M., Moneim, A.A., Yazid, I. A. & Mahmoud, A. M. (2010). Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects and the probable mechanisms of action of *Ruta graveolens* infusion and rutin in nicotinamide-streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetologia Croatica* 39-1(1):15
- Akmal, M., & Wadhwa, R. (2022). Alpha Glucosidase Inhibitors. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32496728/>
- Al-awar, A., Kupai, K., Weszelka, M., Szécs, G., Attieth, Z., Murlasits, Z., Tárk, S., Pósa, A. & Varga, X. (2016). Experimental Diabetes Mellitus in Different Animal Models. *Journal of diabetes research*. <https://doi.org/10.1155/2016/9051426>
- Amaral, P. de A., Costa, F. V., Antunes, A. R., Kautz, J., Citadini-Zanette, V., Lohézic-Le Dévéhat, F., Barlow, J., & DalBó, S. (2017). The genus *Calea* L.: A review of isolated compounds and biological activities. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(33), 518-537. <https://doi.org/10.5897/JMPR2017.6412>
- American Diabetes Association (ADA) (2022). Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 43(1), 51-5212.
- Ampudia-Blasco, F. & Perelló-Camacho, E. (2016). Tratamiento de la diabetes mellitus (II). Hipoglucemiantes no insulínicos. *Medicina*. 12(18). <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.09.011>
- Andrade-Cetto, A., Espinoza-Hernández, F. & Mata-Torres, G. (2021). Hypoglycemic effect of *Calea urticifolia* (Mill.) DC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. <https://doi.org/10.1155/2021/6625009>
- Aparicio-Marenco, D. & Durán-Lengua, M. (2015). Más allá de la diabetes mellitus: glicación de proteínas. *Biociencias* 11(1), 105-111. <https://revistas.unilibre.edu.co/index.php/biociencias/article/view/2875/2289>.
- Aragão-Danielle, M.O., Guarize, L., Lanini, J. da Costa, J. C., Garcia, Raúl M.G & Scio, E. (2010). Hypoglycemic effects of *Cecropia pachystachya* in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 128(3), 629-633. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874110000243?via%3Dihub>
- Arias-Díaz, J. & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria* 22(2), 160-168 [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112007000200005&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112007000200005&lng=es&tlng=es)
- Arion, W. J., Canfield, W. K., Ramos, F. C. (1997). “Chlorogenic acid and hydroxynitrobenzaldehyde: new inhibitors of hepatic glucose 6-phosphatase,”. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 339 (2), 315–322. <https://doi.org/10.1006/abbi.1996.9874>
- Arocha-Rodulfo, J.I., Navas-Blanco, T., Aure, G. & Palacios, A. (2017). Metformina, el fármaco paradigma del XXI. *Medicina Interna*. 33(1), 4-18. <https://www.svmi.web.ve/ojs/index.php/medint/article/view/409/402>
- Ascaso, J. F. (2014). Diabetes mellitus tipo 2: nuevos tratamientos. *Medicina clínica*. 143(3), 117-123. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2013.05.041>

- Athyros, V. G., Doumas, M., Imprialos, K.P., Stavropoulos, K., Georgianou, E., Katsimardou, A. & Karagiannis, A. (2018). Diabetes and lipid metabolism. *Hormones* 17, 61–67. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0014-8>
- Atlas de Diabetes de la Federación Internacional de Diabetes (2021). [www.diabetesatlas.org](http://www.diabetesatlas.org)
- Avendaño-Gómez, A. (2013). La Diabetes Mellitus su identificación, tratamiento y control a través de la medicina tradicional en algunas comunidades del estado de Hidalgo. En Gómez-Aiza A. (Ed.), *Saberes y prácticas en torno a la salud y el bienestar: manejo de recursos bióticos en la Sierra Otomí-Tepehua, Hidalgo*. (369-389). Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Ávila-Sansores, G. M., Vega-Argote, Ma. G, Ruvalcaba-Palacios G., Barreto-Arias, Ma. E., Gómez-Aguilar, P. I. del S. & Yam-Sosa, A. V. (2020). Riesgo de diabetes de una comunidad rural en México: un estudio observacional. *Revista Cuidarte*, 11(3). <https://doi.org/10.15649/cuidarte.797>
- Ayala-Yáñez, R., Martínez-Ruiz, M., Alonso-de Mendieta, M., Cassis-Bendeck, D. M. & Frade-Flores, R. (2020). Metformina: interacciones moleculares, celulares y su repercusión en la Obstetricia. Revisión bibliográfica. *Ginecología y obstetricia de México*, 88(3), 161-175. <https://doi.org/10.24245/gom.v88i3.3598>
- Bansal, N. (2015). Diagnóstico y tratamiento de la prediabetes: una revisión. *Revista mundial de diabetes*, 6(2), 296-303. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i2.296>
- Barquilla-García, A., Mediavilla-Bravo, J.J., Comas-Samper, J.M., Seguí-Díaz, M., Carramiñana-Barrera, F. & Zaballos-Sánchez, F. J. (2010). Recomendaciones de la Sociedad Americana de Diabetes para el manejo de la diabetes mellitus. *SEMERGEN*. 36(7): 386-391.
- Barthel, A. & Schmolli, D. (2003). Novel concepts in insulin regulation of hepatic gluconeogenesis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 285(4), 685-692. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00253.2003>
- Belayneh, A., Molla, F., & Kahsay, G. (2020). Formulation and Optimization of Monolithic Fixed-Dose Combination of Metformin HCl and Glibenclamide Orodispersible Tablets. *Advances in pharmacological and pharmaceutical sciences*, 2020, 3546597. <https://doi.org/10.1155/2020/3546597>
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, L. J., Artiles, D., Bermúdez, R. & Clapés, S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*. 36(2). [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572016000200009&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572016000200009&lng=en&tlng=en)
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, L. J., Artiles, D., Bermúdez, R. & Clapés, S. (2016). Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*. 36(2). [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-41572016000200009&lng=en&tlng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-41572016000200009&lng=en&tlng=en)
- Bravo-Mediavilla, J. J. (2002). La diabetes mellitus tipo 2. *Medicina integral*. 39(1), 25-35. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-resumen-la-diabetes-mellitus-tipo-2-13025480>
- Bravo-Vargas, B. (2011). *Uso de plantas con efecto hipoglucemiante. [Tesis de Licenciatura]*. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Brito-Casillas, Y., Melián, C. & Wagner, A.M. (2016). Study of the pathogenesis and treatment of diabetes mellitus through animal models. *Endocrinología y nutrición*. 63 (7), 345-353. <https://doi.org/10.1016/j.endoen.2016.09.002>
- Campuzano-Maya, G. & Latorre-Sierra, G. (2010). La HbA1c en el diagnóstico y en el manejo de la diabetes. *Medicina & Laboratorio*, 16 (5,6), 211-241.
- Cardoso-Lima, T., De Jesús Souza, R., Amaral Da Silva, F. & Weber Biavatti, M. (2018). The genus *Calea* L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities. *Phytotherapy Research* 32(5):769-795. <https://doi.org/10.1002/ptr.6010>
- Carvajal, C. (2014). Lipoproteínas: metabolismo y lipoproteínas aterogénicas. *Medicina Legal de Costa Rica*, 31(2), 88-94. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152014000200010&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152014000200010&lng=en&tlng=es).
- Carvajal-Carvajal, C. (2015). Tejido adiposo, obesidad e insulino resistencia. *Medicina Legal de Costa Rica*, 32(2), 138-144. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1409-00152015000200015&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1409-00152015000200015&lng=en&tlng=es).
- Cipriani-Thorne, E. & Quintanilla, A. (2010). Diabetes mellitus tipo 2 y resistencia a la insulina. *Revista Médica Herediana*, 21(3), 160-171 [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2010000300008&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2010000300008&lng=es&tlng=es).
- Colimba-Almeida, J. V. (2017). *Conocimientos y uso de plantas medicinales como parte del tratamiento de los pacientes del club de diabéticos del hospital San Vicente de Paul año 2016. [Tesis de Licenciatura]*. Universidad Técnica Del Norte Facultad Ciencias De La Salud.
- CONABIO. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. Diversidad natural y cultural. Plantas Medicinales. (2020). <https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal/plantas>
- Contreras-Leal, E. A. & Santiago-García, J. (2011). Obesidad, síndrome metabólico y su impacto en las enfermedades cardiovasculares. *Revista Biomédica* 22(3). <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v22i3.98>
- Costa-Gil, J.E & Spinedi, E. (2017). La tormentosa relación entre las grasas y el desarrollo de la diabetes mellitus de tipo 2: actualizado. *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo* 54(3), 109-123 <https://doi.org/10.1016/j.raem.2017.06.001>
- Costo-Muriel, C., Martín-Carmona, J. & Pérez-Belmonte, L.M. (2020). Complicaciones macrovasculares de la diabetes. *Medicine* 13(16), 891-899. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.011>
- Couselo-Fernández, I. & Rumbo-Prieto, J. (2018). Riesgo de pie diabético y déficit de autocuidados en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 2. *Enfermería Universitaria*, 15 (1), 17-29. <https://doi.org/10.22201/eneo.23958421e.2>
- Cuenca-Villalobos, L.P., Uriarte-Sandoval, M. A., Rodríguez-Díaz, J.L. & Parcon-Bitanga, M. (2020). Uso de la medicina no convencional para pacientes diabéticos. *Revista Archivo Médico de Camaguey*, 24(1). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552020000100008&lang=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552020000100008&lang=es)

- Dagogo-Jack, S. (2017). Diabetes Mellitus in Developing Countries and Underserved Communities. *Springer*.
- DeFronzo, R., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R.R., Herman, W.H., Holst, J.J., Bu, F.B., Khan, R.C., Raz, I., Shulman, G.I., Simonson, D.C., Testa, M.A. & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, (1):1-22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- Delgado-Rospigliosi, J. L., Seclen-Santisteban, Segundo N. & Gotuzzo-Herencia, E. (2006). Tuberculosis en pacientes con diabetes mellitus: Un estudio epidemiológico y clínico en el Hospital Nacional Cayetano Heredia. *Revista Médica Herediana*, 17(3), 132-140. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2006000300003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2006000300003&lng=es&tlng=es).
- Díaz-Casasola, L. & Luna-Pichardo, D. (2016). Advanced glycation end products in cardiovascular disease as a complication of diabetes. *Medicina e investigación*, 4(1), 52-57. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mei.2016.02.002>
- Díaz-Flores, M., Baiza-Gutman, L. A., Ibáñez-Hernández, M. A., Pascoe-Lira, D., Guzmán-Greenfel, A. M., & Kumate-Rodríguez, J. (2004). Aspectos moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. *Gaceta médica de México*, 140(4), 437-447. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-38132004000400014&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132004000400014&lng=es&tlng=es)
- Dorado-Martínez, C. (2020). Etnofarmacología, riqueza terapéutica de México para el desarrollo social sostenible. *Ecociencia International Journal*, 2(3), 54-56. <https://doi.org/10.35766/je20236>
- Dupuy, A. O., Murillo, R. & Bonilla, V. J. A. (2008). Lactonas sesquiterpénicas de las plantas *Viguiera sylvatica* y *Decachaeta thieleana* (Asteraceae) modulan la producción de óxido nítrico y la fagocitosis de macrófagos RAW. *Revista de Biología Tropical* 56(3), 1063-1073. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-77442008000300008&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442008000300008&lng=en&tlng=es)
- Durruty, A. P. & García de los Ríos, A. M. (2001). Glucotoxicidad y lipotoxicidad: factores en la patogénesis y evolución de la diabetes tipo 2. *Revista médica de Chile*, 129(6), 671-679. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872001000600013>
- Eid, S., Sas, K. M., Abcouwer, S. F., Feldman, E. L., Gardner, T. W., Pennathur, S., & Fort, P. E. (2019). New insights into the mechanisms of diabetic complications: role of lipids and lipid metabolism. *Diabetologia*, 62(9), 1539–1549. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4959-1>
- Elgawish, A., Glomb, M., Friedlander, M., & Monnier, V. M. (1996). Involvement of hydrogen peroxide in collagen cross-linking by high glucose in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 271, 12964–12971.
- Escalona-Cruz, L. J., Tase-Aguilar, A., Estrada-Martínez, A. & Almaguer-Mojena, M. L. (2015). Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(4). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962015000400007&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000400007&lng=es&tlng=es)

- Escandón-Rivera, S., Pérez-Vásquez, A., Navarrete, A., Hernández, M., Linares, E., Bye, R., & Mata, R. (2017). Anti-Hyperglycemic Activity of Major Compounds from *Calea ternifolia*. *Molecules (Basilea, Suiza)*, 22(2), 289. <https://doi.org/10.3390/molecules22020289>
- Esmaili, M.A., Zohari, F. & Sadeghi, H. (2009). Antioxidant and protective effects of major flavonoids from *Teucrium polium* on  $\beta$ -cell destruction in a model of streptozotocin-induced diabetes. *Planta Med.* 75 (13), 1418-1420. <https://doi.org/10.1055/s-0029-1185704>
- Espinoza-Hernández, F. A. (2017). *Efecto de los extractos de la raíz de Smilax moranensis M. Martens & Galeotti y de la parte aérea de Ageratina petiolaris (Moc. & Sessé ex DC.) R.M. King & H. Rob. Sobre la gluconeogénesis hepática en ratas STZ-NA. [Tesis de maestría]*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Esquivel-Gutiérrez, E. R., Noriega-Cisneros, R., Bello-González, M. A., Saavedra-Molina, A. & Salgado-Garciglia, R. (2012). Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas*, 14(1): 45–52.
- Figueroa, G. M. C., Pérez, H, I. H. & Mejía, Z, R. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista MVZ Córdoba*, 18(Supl), 3699-3707. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69329148014>
- Fukaya, M., Tamura, Y., Chiba, Y., Tanioka, T., Mao, J., Inoue, Y., Yamada, M., Waeber, C., Ido-Kitamura, Y., Kitamura, T. & Kaneki, M. (2013). Protective effects of a nicotinamide derivative, isonicotinamide, against streptozotocin-induced  $\beta$ -cell damage and diabetes in mice. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 442(1-2), 92-98. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.11.024>
- Gallardo-Jiménez, P., Martín-Carmona, J. & Lorenzo-Hernández, F. (2020). Diabetes Mellitus. *Medicine* 13(16), 883-890. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.010>
- Gallego-Muñoz, C. & Ferreira-Alfaya, F. J. (2015). Plantas medicinales en el tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2: una revisión. *Farmacéuticos Comunitarios* 7(4), 27-34. <https://www.farmacéuticoscomunitarios.org/es/journal-article/plantas-medicinales-tratamiento-diabetes-mellitus-tipo-2-una-revision>
- Gallegos-Zurita, M. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es).
- Ganado, E., Garay, I. & Vega, L. (2016). Curso básico sobre diabetes. Tema 4. Antidiabéticos orales. *Farmacia Profesional*, 30(4), 23-30. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-resumen-curso-basico-sobre-diabetes-tema-X0213932416571348>
- García-Luján, C., Pérez-Hernández, B. P., Martínez-Romero, A. & Castro-Barraza, F. (2009). Uso de plantas medicinales y suplementos dietéticos para el control glucémico de la diabetes. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 8:229-239.
- García-Ocaña P., Cobos-Palacios L. & Caballero-Martínez L.F. (2020). Complicaciones microvasculares de la diabetes. *Medicine*, 13(16), 900-910. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.012>
- Gastaldelli, A., Baldi, S., Pettiti, M., Toschi, E., Camastra, S., Natali, A., Landau, B. R. & Ferrannini, E. (2000). Influence of obesity and type 2 diabetes on gluconeogenesis and

- glucose output in humans: a quantitative study. *Diabetes*, 49(8), 1367-1373. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.8.1367>
- Giles-Rivas, D.E. (2020). *Obtención de los compuestos responsables de la actividad antidiabética a partir de Cordia morelosana y Calea zacatechichi*. [Tesis de doctorado]. Universidad Autónoma del Estado de Morelos.
- Gil-Velázquez, L. E., Sil-Acosta, M. J., Domínguez-Sánchez, E. R., Torres-Arreola, L. D. P., & Medina-Chávez, J. H. (2013). Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 51(1), 1-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=457745487015>
- Goday-Arno, A., Franch-Nadal, J., Mata-Cases, M., Álvarez-Guisasola, F., Díez-Espino, J., Fernández-Fernandez, I., Tórtola-Graner, D., Acosta-Delgado, D., Aguilar-Diosdado, M., Herrera-Pombo, J.L. & Felipe-Pallardo, L. (2001). La terapia combinada en la diabetes mellitus tipo 2. Criterios y pautas. *Medicina Integral* 38(6), 270-289. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-la-terapia-combinada-diabetes-mellitus-13020964>
- Gómez-Peralta, F., Abreu, C., Cos, X. & Gómez-Huelgas, R. (2020). When does diabetes start? Early detection and intervention in type 2 diabetes mellitus. *Revista Clínica Española*, 220(5), 305-314. <https://doi.org/10.1016/j.rce.2019.12.003>
- Gómez-Riveros, M. L., Ramírez-Gómez, T. & Escobar-Salinas, J. S. (2021). Cumplimiento de los objetivos del tratamiento en pacientes diabéticos del Hospital Nacional de Itauguá. *Rev. cient. cienc. salud*, 3(2):03-10 <https://doi.org/10.53732/rccsalud/03.02.2021.03>
- González-Chávez, L. (2017). El proceso terapéutico en la medicina tradicional mexicana. Algunas claves para su interpretación. *Nueva antropología*, 30(86), 9-34. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0185-06362017000100009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-06362017000100009&lng=es&tlng=es).
- González-Pedraza, A. A., Valdez-Gaona, J., Acevedo-Giles, O., Ramírez-Martínez, M. E., & Ponce-Rosas, E. R. (2015). Utilidad de la hemoglobina glucosilada como indicador de la función renal en adultos mayores diabéticos y no diabéticos. *Revista Médica La Paz*, 21(2), 18-24. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-89582015000200003&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-89582015000200003&lng=es&tlng=es).
- Goyal R. & Jialal L. (2018). Diabetes Mellitus type 2. In: *StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)*. [https://europepmc.org/article/NBK/NBK513253#\\_article-36052\\_s6\\_](https://europepmc.org/article/NBK/NBK513253#_article-36052_s6_)
- Goyal, N. S., Reddy, M. N., Patil, R. K., Nakhate, T. K., Ojha, S., Patil, R. C. & Agrawal, O. Y. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes. A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 49-63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>
- Goyal, N. S., Reddy, M. N., Patil, R. K., Nakhate, T. K., Ojha, S., Patil, R. C. & Agrawal, O. Y. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes. A clinically relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological Interactions*, 244, 49-63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>
- Graz, B., Falquet, J. & Elisabetsky, E. (2010). Etnofarmacología, desarrollo sostenible y cooperación: La importancia de recopilar datos clínicos durante las encuestas en campo. *Revista de Etnofarmacología*, 130(3), 635-638. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.04.044>

- Guillén-Luna, G.M. & Hernández-Guzmán, E.D. (2016). *Determinación de la toxicidad subcrónica del extracto n-hexánico de las hojas de Calea urticifolia (Juanislama) en ratones NIH. [Tesis de licenciatura]*. Facultad de Química y Farmacia. Universidad del Salvador.
- Guzmán-Guzmán, P. (2010). *Exploración, aprovechamiento y validación experimental de plantas con efecto antiinflamatorio de la sierra madre oriental de San Luis Potosí. [Tesis de Maestría]*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Hernández-García, F., Robaina Castillo, J. I., & Vázquez Almoguera, E. (2017). Estrés oxidativo y diabetes mellitus, un acercamiento al tema. *Universidad Médica Pinareña*, 13(2), 169-185. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=638266975008>
- Hernández-Romieu, A. C., Elnecavé-Olaiz, A., Huerta-Uribe, N. & Reynoso-Noverón, N. (2011). Análisis de una encuesta poblacional para determinar los factores asociados al control de la diabetes mellitus en México. *Salud Pública de México*, 53(1), 34-39. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0036-36342011000100006&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342011000100006&lng=es&tlng=es).
- Herrera-León, B. B. (2011). *Evaluación de la actividad antimicrobiana y la caracterización de los extractos orgánicos y aceites esenciales de las hojas de Calea urticifolia (Mill.) DC. [Tesis de Licenciatura]*. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Herrera-Tapia, F., White-Olascoaga, L., Chávez-Mejía, M. C. & Moctezuma-Pérez, S. (2017). Prácticas curativas y plantas medicinales: un acercamiento a la etnomedicina de San Nicolás, México. *Cuadernos Geográficos*, 56(2), 26-47. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=17152020002>
- Hsu, C.-Y., Shih, H.-Y., Chia, Y.-C., Lee, C.-H., Ashida, H., Lai, Y.-K. and Weng, C.-F. (2014). Rutin potentiates insulin receptor kinase to enhance insulin-dependent glucose transporter 4 translocation. *Mol. Nutr. Food Res.*, 58: 1168-1176. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300691>
- Hugués-Hernandorena, B., Rodríguez García, J. C., Rodríguez González, J. C., & Marrero Rodríguez, M. T. (2002). Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología*, 13(2). [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1561-29532002000200009&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-29532002000200009&lng=es&tlng=es).
- Isea, J., Vilorio, J. L., Ponte, N. C. I. & Gómez, M. J. R. (2012). Complicaciones macrovasculares de la diabetes mellitus: cardíacas, vasculocerebrales y enfermedad arterial periférica. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(Supl. 1), 96-110. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102012000400013&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102012000400013&lng=es&tlng=es)
- Izquierdo, A. & Medina-Gómez, G. (2012). Papel de la lipotoxicidad en el desarrollo de la lesión renal en el síndrome metabólico y el envejecimiento. *Diálisis y trasplante*, 33(3), 89-96. <https://www.elsevier.es/es-revista-dialisis-trasplante-275-articulo-papel-lipotoxicidad-el-desarrollo-lesion-S1886284511003079>
- Jadhav, R. & Puchchakayala, G. (2012). Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2

- diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4 (2), 251-256.
- Jiménez-Silva, A.A. (2017). Medicina tradicional. *Órgano de difusión del Centro Colaborador en materia y calidad del Paciente*. CONADEM-OPS.
- Juárez-López, A. (2015). *Modificación del porcentaje de hemoglobina glucosilada en los pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 al año de tratamiento según su terapéutica hipoglucemiante (oral vs insulina vs ambos)*. [Tesis de especialidad]. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Kappel, V.D., Cazarolli, L.H., Pereira, D.F., Postal, B.G., Zamoner, A., Reginatto, F.H., Silva, F.R.M.B. (2013). Involvement of GLUT4 in the stimulatory effect of rutin on glucose uptake in rat soleus muscle. *J. Pharm. Pharmacol*, 65 (8), 1179-1186. <https://doi.org/10.1111/jphp.12066>
- Krents, J. A. (2012). Drug Therapy for type 2 diabetes. Edit. *Adis*.
- Krishnamoorthy, K., Leelavinothan, P. & Venugopal, P.M. (2010). Protective effect of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid against streptozotocin–nicotinamide generated oxidative stress induced diabetes. *Journal of Functional Foods*, 2(2), 134-142. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2010.04.001>
- Lacé-Murray, A. & Jiménez-Navarrete, M. F. (2004). Calidad del control glicémico según la hemoglobina glicosilada vs la glicemia en ayunas: análisis en una población urbana y otra rural de diabéticos costarricenses. *Acta Médica Costarricense*, 46(3), 139-144. [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-60022004000300007&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022004000300007&lng=en&tlng=es).
- Lehrke, M., & Lazar, M. A. (2005). The many faces of PPARgamma. *Cell*, 123(6), 993–999. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.11.026>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetología* 51:216-226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Leticia-Sánchez, S. (2014). *Investigación de la adulteración y falsificación en cápsulas de *Calea urticifolia* (Juanislama), comercializadas en 7 mercados del área metropolitana de San Salvador*. [Tesis de Maestría]. Universidad del Salvador.
- Licea-Piug, M.E & González-Calero, T.M (2013). Estrategias para la prevención de la diabetes mellitus tipo 1. *Revista Cubana de Salud Pública* 39(4), 733-751 [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-34662013000400010&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662013000400010&lng=es&tlng=es).
- Lima-Martínez, M. M., Betancourt, L. & Bermúdez, A. (2011). Glucagón: ¿un simple espectador o un jugador clave en la fisiopatología de la diabetes. *Avances de Diabetología*, 27(5), 160-167. <https://www.elsevier.es/es-revista-avances-diabetologia-326-articulo-glucagon-un-simple-espectador-o-S1134323011000032>
- Longo, D.L., Kasper, D.L, Jameson, J., Fauci, A. S., Hauser, S. L., Loscalzo, J. & Harrison. (2012). Principios de Medicina Interna. *McGraw Hill Medical*.
- López-Simarro, F., Miravet-Jimenez, S., Cols-Sagarra, C. & Castellote-Petit, A. (2010). Determinaciones analíticas en el paciente diabético. *SEMERGEN*, 36 (9), 513-519. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-familia-semergen-40-articulo-determinaciones-analiticas-el-paciente-diabetico-S1138359310002662>

- Lorenzo-Hernández, E., Gallardo-Jiménez, P. & Mancebo-Sevilla, J.J. (2020). Estrategia terapéutica en el paciente diabético (II). Hipoglucemiantes Orales. Consejos al paciente. *Medicine*, 13 (17), 949-956. <https://doi.org/10.1016/j.med.2020.09.020>
- Maestre, C.A., Tiso D'Orazio, G., Tiso-Rossi, A. & Contreras, F. (2011). Relación entre hemoglobina glicosilada y descompensación en pacientes diabéticos tipo 2. *Diabetes internacional*, 3 (1): 17-25. <https://biblat.unam.mx/es/revista/diabetes-internacional/articulo/relacion-entre-hemoglobina-glicosilada-y-descompensacion-en-pacientes-diabeticos-tipo-2>
- Maldonado, C., Paniagua-Zambrana, N., Bussmann, Rainer W., Zenteno-Ruiz, F. S. & Fuentes, A. F. (2020). La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, 55(1), 1-5. [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1605-25282020000100001&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1605-25282020000100001&lng=es&tlng=es).
- Medina-Pérez, E.A., Sánchez-Reyes, A., Hernández-Peredo, A. R., Martínez-López, M. A., Jiménez-Flores, C. N., Serrano-Ortiz, I., Maqueda-Pineda, A. V., Islas-Cruz, D.N. & Cruz-González, M. (2017). Diabetes gestacional. Diagnóstico y tratamiento en el primer nivel de atención. *Medicina interna de México*, 33(1), 91-98. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0186-48662017000100091&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662017000100091&lng=es&tlng=es).
- Mehlhorn H. (2011). Nature helps how plants and other organisms contribute to solve health problems. *Springer*.
- Mendivil-Anaya, C. O. & Sierra-Ariza, I. D. (2005). Acción insulínica y resistencia a la insulina: aspectos moleculares. *Revista de la Facultad de Medicina*, 53(4), 235-243. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-00112005000400005&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-00112005000400005&lng=en&tlng=es).
- Molina-Escribano, F., Monedero la Orden, J. & División-Garrote, J.A (2012). Complicaciones del paciente diabético. *Medicine* 11(17), 1011-1020. [https://doi.org/10.1016/S0304-5412\(12\)70420-1](https://doi.org/10.1016/S0304-5412(12)70420-1)
- Monterrubio-Angulo, E., Vallejo-Gonzalez, M. N., & Guzmán-Saldaña, R. M. E. (2018). El costo de la Diabetes en México. *Educación Y Salud Boletín Científico Instituto De Ciencias De La Salud Universidad Autónoma Del Estado De Hidalgo*, 7(13), 26-27. <https://doi.org/10.29057/icsa.v7i13.3458>
- Morantes-Caballero, J. A., Londoño-Zapata, G.A., Rubio-Rivera, M. & Pinilla-Roa, A. E. (2017). Metformina: más allá del control glucémico. *Endocrinología*, 30(1). <http://dx.doi.org/10.18273/revmed.v30n1-2017005>
- Moreno-Barrio, F., Castillo-Flores C. & Peña-Esparragoza, J. K. (2019). Afectación renal en la diabetes mellitus. *Medicine*, 12(80), 4735-4743. <https://www.medicineonline.es/es-afectacion-renal-diabetes-mellitus-articulo-S0304541219301453>
- Moreno-Cortés, M. L., Gutiérrez-García A. G. & Contreras, M. C. ¿Los protocolos experimentales son un símil real de la diabetes humana? (2020). *Medicina y ciencias de la salud*, 14(2):51-61. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v14i2.1289>

- Moreno-Pérez, O., Picó-Alfonso, A., Revert-Marrahí, P. & Martínez-Fuster, S. (2008). Glinidas. Revisión de su uso terapéutico en la diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y Nutrición*, 55(2), 26-33. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(08\)76260-0](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(08)76260-0)
- Motta, N., González-Mujica, F., Perdomo, E., Méndez, J. & Hasegawa, M. (2002). Inhibición de la Neoglucogénesis y de la Glucosa 6-Fosfatasa Hepática por Flavonas purificadas a partir de hojas de *Bauhinia Megalandra*. *Revista de la Facultad de Medicina*, 25(1), 37-40. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-04692002000100008&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692002000100008&lng=es&tlng=es).
- NaturalistaCO. (2023). Hierba Amarga (*Calea urticifolia*). Recuperado el 27 de marzo de 2023, de <https://colombia.inaturalist.org/taxa/274076-Calea-urticifolia>
- Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. <http://www.dof.gob.mx/normasOficiales/4215/salud/salud.htm>
- Ong, K. W., Hsu, A. & Tan, B. K. H. (2012). "Chlorogenic acid stimulates glucose transport in skeletal muscle via AMPK activation: a contributor to the beneficial effects of coffee on diabetes," *Plos One*, 7(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032718>
- Ortiz-Segura, M. del C. (2011). *Evaluación del extracto etanólico de Calea urticifolia (Mill.) DC. sobre la regulación de la secreción de adipocinas asociadas a la resistencia a la insulina. [Tesis de maestría]*. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.
- Osuna, M., Rivera, M. C., Bocanegra, C. de J., Lancheros, A., Tovar, H., Hernández, J. I. & Alba, M. (2014). Caracterización de la diabetes mellitus tipo 2 y el control metabólico en el paciente hospitalizado. *Acta Medica Colombiana*, 39(4), 344-351. [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-24482014000400007&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-24482014000400007&lng=en&tlng=es)
- Pallardo-Fernández, I. (2016). El espino blanco, en el corazón de la salud. *Revista de Medicina e Investigación*, 4(1), 35-41. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214310616000054>
- Palomer, X., Perez, A. & Blanco-Vaca, F. (2005). Adiponectina: un nuevo nexo entre obesidad, resistencia a la insulina y enfermedad cardiovascular. *Medicina Clínica*, 124(10), 388-395. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-articulo-adiponectina-un-nuevo-nexo-entre-13072576>
- Paschou, S. A., Papadopoulou-Marketou, N., Chrousos, G.P. & Kanaka-Gantenbein, C. (2018). On type 1 diabetes mellitus pathogenesis. *Endocrine connections*, 7(1), 38-36. <https://doi.org/10.1530/EC-17-0347>
- Patwardhan, B. & Chaguturu, R. (2017). Innovative approaches in drug discovery: ethnopharmacology, systems biology and holistic targeting.
- Pereira-Despaigne, O. L., Palay-Despaigne, M. S., Rodríguez-Cascaret, A., Neyra Barros, R. M., & Chia-Mena, M. de los Á. (2015). Hemoglobina glucosilada en pacientes con diabetes mellitus. *MEDISAN*, 19(4), 555-561. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1029-30192015000400012&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192015000400012&lng=es&tlng=es).
- Perel, C. & Grosebacher, L. (2021). Metformina y sus efectos cardiovasculares. *Insuficiencia cardíaca*, 16(2), 60-70. [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1852-38622021000200004&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1852-38622021000200004&lng=es&tlng=es).

- Pérez-López, G., González-Albarrán, O., & Cano-Megías, M. (2010). Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2): de la glucosuria renal familiar al tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Nefrología (Madrid)*, 30(6), 618-625. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0211-69952010000600004&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952010000600004&lng=es&tlng=es).
- Pollack, R. M., Donath, M. Y., LeRoith, D. & Leibowitz, G. (2016). Anti-inflammatory Agents in the Treatment of Diabetes and Its Vascular Complications. *Diabetes care*, 39(2), 244-252. <https://doi.org/10.2337/dcS15-3015>
- Prabhakar, K. & Doble, M. (2009). “Synergistic effect of phytochemicals in combination with hypoglycemic drugs on glucose uptake in myotubes” *Phytomedicine*, 16 (12), 1119– 1126. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.05.021>
- Rena, G., Hardie, D.G. & Pearson, E.R. (2017). The mechanisms of action of metformin. *Diabetología* 60, 1577–1585. <https://doi.org/10.1007/s00125-017-4342-z>
- Rena, G., Pearson, E. R., & Sakamoto, K. (2013). Molecular mechanism of action of metformin: old or new insights? *Diabetología*, 56(9), 1898–1906. <https://doi.org/10.1007/s00125-013-2991-0>
- Reyes-Morales, H., Gómez-Dantés, H., Torres-Arreola, L.P., Tomé-Sandoval, P., Galván-Flores, G., González-Unzaga, M.A. & Gutiérrez-Trujillo, G. (2009). Necesidades de salud en áreas urbanas marginadas de México. *Rev. Panam. Salud Publica*, 25(4), 328–336.
- Reyes-Sanamé, F. A., Pérez-Álvarez, M.A., Alfonso-Figueroa, E., Ramírez-Estupiñán, M. & Jiménez-Rizo, Y. (2016). Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *Correo Científico Médico*, 20(1), 98-121. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1560-43812016000100009&lng=es&tlng=pt](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812016000100009&lng=es&tlng=pt)
- Rivero-Sánchez, I. O. (2011). *Actividad Hipoglucemiante y Caracterización Química de Fracciones del Extracto Metanólico de Psacalium decompositum*. [Tesis de Maestría]. Universidad de Sonora.
- Rodríguez de Sotillo, D. V & Hadley, M. (2002) “Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats,” *Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(12), 717–726. [https://doi.org/10.1016/s0955-2863\(02\)00231-0](https://doi.org/10.1016/s0955-2863(02)00231-0)
- Rojas de P, E., Molina, R. & Rodríguez, C. (2012). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(Supl. 1), 7-12. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102012000400003&lng=es&tlng=e](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102012000400003&lng=es&tlng=e)
- Roldán-Vences, A., Ojeda-Cruz, G. & Roldán-Vences, E. A. (2011). Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*, 54(1), 28-40. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0026-17422011000100004&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0026-17422011000100004&lng=es&tlng=es).
- Romero-Fernández, W., Batista-Castro, Z., De Lucca, M., Ruano, A., García-Barceló, M., Rivera-Cervantes, M., García-Rodríguez, J. & Sánchez-Mateos, S. (2016). El 1,2,3 de la experimentación con animales de laboratorio. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 33(2). <https://dx.doi.org/10.17843/rpmpesp.2016.332.2169>

- Rosado, E. L., Monteiro, J. B., Chaia, V., & Lago, M. F. do. (2006). Efecto de la leptina en el tratamiento de la obesidad e influencia de la dieta en la secreción y acción de la hormona. *Nutrición Hospitalaria*, 21(6), 686-693. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0212-16112006000900009&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112006000900009&lng=es&tlng=es).
- S. Jo, E. Ka, H. Lee, E. Apostolidis, H. Jang, Y. Kwon. (2009). Comparison of antioxidant potential and rat intestinal  $\alpha$ -glucosidases inhibitory activities of quercetin, rutin, and isoquercetin. *Int. J. Appl. Res. Nat. Prod.*, 2(4), pp. 52-60.
- Salaverría de Sanz, N., Palmucci-Gavis, Suniaga de Daza, M. & Velásquez, E. (2012). Tratamiento con antihiperoglucemiantes orales: clasificación, propiedades, combinaciones, indicaciones, contraindicaciones y eventos adversos. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(Supl. 1), 58-64. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102012000400009&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102012000400009&lng=es&tlng=es).
- Salazar-Álvarez, Y. (2011). Uso de la metformina en la diabetes mellitus tipo II. *Revista Cubana de Farmacia*, 45(1), 157-166. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152011000100015&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152011000100015&lng=es&tlng=es)
- Sánchez-Aguirre, O. A, Linares-Márquez, P., Sánchez-Medina, A, & Cano-Asseleih, L. M. (2021). Consideraciones bioéticas para la investigación científica de plantas medicinales contra el cáncer en México. *Revista Latinoamericana de Bioética*, 21(1), 45-60. <https://doi.org/10.18359/rlbi.5010>
- Sánchez-Insfrán, J. M., Villalba-Samaniego, A. R., Acuña A., Penner L., Penner D., Giménez M., Villagra R., Vega N., & Sanabria, M. (2019). Intoxicaciones por plantas en el Centro Nacional de Toxicología durante el periodo 2011 - 2017. Asunción, Paraguay. *Revista Virtual de la Sociedad Paraguaya de Medicina Interna*, 6(2), 11-20. Epub. <https://dx.doi.org/10.18004/rvspmi/2312-3893/2019.06.02.11-020>
- Sánchez-Muñoz, F., García-Macedo, R., Alarcón-Aguilar, F. & Cruz, M. (2005). Adipocinas, tejido adiposo y su relación con células del sistema inmune. *Gaceta médica de México*, 141(6), 505-512. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0016-38132005000600009&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132005000600009&lng=es&tlng=es).
- Sánchez-Solares, A. (2019). *Desarrollo, optimización y validación de un método bioanalítico para la determinación de Pioglitazona en plasma. [Tesis de maestría]*. Instituto Politécnico Nacional.
- Segura, J. (2016). Abordaje de la diabetes mellitus tipo 2 a través del cotransportador sodio-glucosa tipo 2: ¿tiene sentido? *Medicina clínica*, 147(1), 22-25. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025775317306218>
- SEMARNAT (2018). México, biodiversidad que asombra. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/mexico-biodiversidad-que-asombra>
- Sen, S., Raja-Chakraborty, R. & Biplab, D. (2016). *Diabetes Mellitus in 21st Century*. Springer.
- Soto-Perulero, C. R. (2017). *Estudio biodirigido de la actividad gastroprotectora de Calea urticifolia. [Tesis de licenciatura]*. Instituto Politécnico Nacional.

- Stanley-Mainzen, Prince, P. & Kamalakkannan, N. (2006). Rutin improves glucose homeostasis in streptozotocin diabetic tissues by altering glycolytic and gluconeogenic enzymes. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 20(2), pp. 96-102. <https://doi.org/10.1002/jbt.20117>
- Storino, M. A., Contreras, M. A., Rojano, J., Serrano, R. & Nouel, A. (2014). Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial. *Revista Colombiana de Cardiología*, 21(6), 392-398. <https://doi.org/10.1016/j.rccar.2014.09.004>
- Subramoniam, A. (2016). Plants with Anti-diabetes Mellitus Properties. *CRC Press*.
- Surjana, D., Halliday, M. G. & Damian, L. D. (2010). Role of nicotinamide in DNA damage, mutagenesis, and DNA repair. *Journal of Nucleic Acids*. <https://doi.org/10.4061/2010/157591>
- Szkudelska, K., Nogowski, L., & Szkudelski, T. (2014). Adipocyte dysfunction in rats with streptozotocin-nicotinamide-induced diabetes. *International journal of experimental pathology*, 95(2), 86–94. <https://doi.org/10.1111/iep.12073>
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50: 536-546. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11829314/>
- Tabák G. A., Herder C., Rathmann W., Brunner E.J., Kivimäki M. (2012). Prediabetes: a high-risk state for diabetes development. *The Lancet*, 379(9833), 2279-2290 [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60283-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60283-9)
- Tangvarasittichai, S. (2015). Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia, and type 2 diabetes mellitus. *World Journal of diabetes*. 6(3).456-480. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4398902/>
- Thrasher-Maryland. J. (2017). Pharmacologic Management of type 2 Diabetes Mellitus: Available Therapies. *The American Journal of Medicine*, 130(6), 4-17 <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2017.04.004>
- Torrades, S. (2005). Diabetes tipo 2. *OFFARM*, 24(4), 118-122. <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-diabetes-tipo-2-13073449>
- Torrades, S. (2006). Diabetes mellitus tipo 2. Una nueva epidemia. *OFFARM*, 25 (5):96-101. <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-diabetes-mellitus-tipo-2-13088620>
- Torres-Rodríguez, M. L., García-Chávez, E., Soto-Peña, G. A., Aradillas-García, C. & Cubillas-Tejeda, A.C. (2016). Evaluación de la toxicidad aguda *in vivo* del extracto etanólico y acuoso de *Calea urticifolia*. *Botanical Sciences*, 94(1), 133-140. <https://doi.org/10.17129/botsci.191>
- Tres, J.C. (2006). Interacción entre fármacos y plantas medicinales. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*, 29(2), 233-252. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1137-66272006000300007&lng=es&tlng=es](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1137-66272006000300007&lng=es&tlng=es).
- Tunncliffe, J. M., Eller, L. K., Reimer, R. A., Hittel, D. S., & Shearer, J. (2011). “Chlorogenic acid differentially affects postprandial glucose and glucose-dependent insulinotropic polypeptide response in rats,” *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism*, 36 (5), 650–659. <https://doi.org/10.1139/h11-072>

- Ullah, A., Khan, A. & Khan, I. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5):547-553. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.03.013>
- Vázquez-Jiménez, J.G., Roura-Guiberna, A., Jiménez-Mena L.R. & Olivares-Reyes, J.A. (2017). El papel de los ácidos grasos libres en la resistencia a la insulina. *Gaceta Médica de México*, 153(7), 852-863. <https://doi.org/10.24875/GMM.17002714>
- Velázquez-Maldonado, E. M. (2010). Hemoglobina A1c para el diagnóstico de diabetes. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 8(2), 35-36. [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1690-31102010000200001&lng=es&tlng=](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102010000200001&lng=es&tlng=)
- Victoria-Amador, M. del C. & Morón-Rodríguez, F. J. (2010). Bioética en experimentación animal para validar usos de plantas medicinales en el Laboratorio Central de Farmacología. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(3), 157-168. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962010000300008&lng=es&tlng=es](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000300008&lng=es&tlng=es)
- Vidal-Puig, A., Figuerola-Pino, D., Reynals de Blais, E., Ruíz, M. & Ruiz-Morosini, L. (2014). Diabetes mellitus. *Medicina Interna*.
- Villacorta, R. J., Mirian-Rivas, R., Núñez, J.M., Sánchez-Pérez, J.P. & Martínez, L. M. (2017). Cuantificación de lactonas sesquiterpenolactonas procedentes de las hojas de *Calea urticifolia* (Asteraceae) durante en el año 2012. *Revista Minerva*. Año 1. N° 1.
- Waizel-Bucay, J. & Waizel-Haiat, S. (2019). Las plantas con principios amargos y su uso medicinal. ¿Un futuro dulce?. *An Orl Mex.*, 64(4), 202-228.
- Wang, Y., Huang L., Zhong Y. L. (2012). “Effects of three kinds of dietary polyphenols on glucose and lipid metabolism in chemical-induced diabetic rats,” *Acta Nutrimenta Sinica*, 34(6), 572–575.
- Wipfli-Ramírez, M. (2018). *Toxicidad subcrónica a dosis repetidas del extracto de hojas de Juanilama Calea urticifolia (Miller) (Asteraceae) en ratones de laboratorio cepa NIH. [Tesis de licenciatura]*. Universidad de El Salvador.
- Zermeño-Macías, M. de los A. (2013). *Caracterización química de extractos orgánicos de Calea urticifolia (Mill.) DC. y bioensayo dirigido para determinar su actividad antiinflamatoria in vitro. [Tesis de Maestría]*. Universidad Nacional Autónoma de San Luis Potosí.
- Zhang, G., Lin, X., Zhang, S., Xiu, H., Pan, C., & Cui, W. (2017). A Protective Role of Glibenclamide in Inflammation-Associated Injury. *Mediators of inflammation*. <https://doi.org/10.1155/2017/3578702>
- Zheng, Y. N., Liu, K. & Jia, G. Y. (2007). “Effect of hot-water extract of coffee seeds on postprandial blood glucose concentration in rats,” *Chinese Pharmaceutical Journal*, 42(1), 32–35.