



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DEL EFECTO DE CUATRO PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES
SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE INSULINA PLASMÁTICA DE RATAS
WISTAR EN ESTADO POSTABSORTIVO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SAMANTHA MARTÍNEZ MEDINA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

JUNIO, 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**ESTUDIO DEL EFECTO DE CUATRO PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES
SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE INSULINA PLASMÁTICA DE RATAS
WISTAR EN ESTADO POSTABSORTIVO**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SAMANTHA MARTÍNEZ MEDINA

TUTOR(A) PRINCIPAL DE TESIS: DR. ADOLFO ANDRADE CETTO

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

COMITÉ TUTOR: DRA. RACHEL MATA ESSAYAG

FACULTAD DE QUÍMICA, UNAM

DR. RENÉ DE JESÚS CÁRDENAS VÁZQUEZ

FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

JUNIO, 2023

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
OFICIO FCIE/DAIP/260/2023

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **30 de enero de 2023** se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** en el campo de conocimiento de **Biología Experimental** de la estudiante **MARTÍNEZ MEDINA SAMANTHA** con número de cuenta **309240930** con la tesis titulada **“Estudio del efecto de cuatro plantas hipoglucemiantes sobre la concentración de insulina plasmática de ratas Wistar en estado postabsortivo”**, realizada bajo la dirección del **DR. ADOLFO ANDRADE CETTO**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: **DRA. NADIA JUDITH JACOBO HERRERA**
Vocal: **DRA. EVA AGUIRRE HERNÁNDEZ**
Vocal: **DRA. MYRIAN VELASCO TORRES**
Vocal: **DR. MANUEL MIRANDA ANAYA**
Secretario: **DRA. RACHEL MATA ESSAYAG**

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

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 04 de mayo de 2023

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



Agradecimientos institucionales

Agradezco al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme la oportunidad de continuar con mis estudios.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por la beca otorgada para la realización de mis estudios de posgrado.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) por el financiamiento del presente proyecto de investigación, con clave IN213222.

A mi tutor, el Dr. Adolfo Andrade Cetto por el apoyo y la confianza que me brindó a lo largo del proyecto, por proporcionarme siempre el espacio y las herramientas necesarias para su realización y su asesoramiento.

A mi comité tutor, la Dra. Rache Mata Essayag y el Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez por sus comentarios y asesoramiento a lo largo del proyecto.

Agradecimientos a título personal

A mi familia, ese árbol de largas y bifurcadas ramas, de follaje cambiante conforme a la estacionalidad, pero de profundas y obstinadas raíces. Que siempre me ha y sigue demostrando su amor a través de sus muchas personalidades y durante sus muchas facetas.

A mis compañer@s de laboratorio la Dra. Artemisa, el M. en C. Gerardo, la M. en C. Daniela y la Dra. Sonia por su apoyo, capacitación y asesoramiento a lo largo del desarrollo de este proyecto, así como su valiosa amistad.

A mis amigas, por compartir su tiempo, el más valioso regalo que tenemos.

A mi mamá, por compartir la vida, crecer juntas, conocernos y amarme.

A mi Grard, mi compañero y mi cómplice.

Índice

| | |
|--|----|
| 1. Resumen | 1 |
| 2. Introducción | 3 |
| 3. Justificación..... | 4 |
| 4. Objetivos | 5 |
| 5. Hipótesis..... | 6 |
| 6. Antecedentes..... | 7 |
| 6.1. Diabetes mellitus..... | 7 |
| 6.1.1. Clasificación | 7 |
| 6.1.2. Factores de riesgo..... | 7 |
| 6.1.3. Sintomatología..... | 8 |
| 6.1.4. Criterios diagnósticos..... | 8 |
| 6.1.5. Prevalencia en México | 10 |
| 6.1.6. Complicaciones | 10 |
| 6.1.7. Tratamiento | 10 |
| 6.2. Metabolismo postabsortivo..... | 11 |
| 6.3. Insulina | 12 |
| 6.3.1. Regulación de la glucemia por insulina | 15 |
| 6.3.2. Secreción de insulina..... | 17 |
| 6.3.3. Hipoglucemiantes orales..... | 18 |
| 6.3.4. Secretagogos de insulina..... | 19 |
| 6.3.5. Cascada de señalización de la insulina | 19 |
| 6.4. Historia natural de la diabetes mellitus tipo 2 | 21 |
| 6.5. Etnofarmacología | 23 |
| 6.5.1. Antecedentes fitoquímicos y farmacológicos | 24 |
| 6.5.1.1. <i>Calea urticifolia</i> (Miller) DC..... | 24 |
| 6.5.1.2. <i>Ageratina petiolaris</i> (Moc. & Sessé ex DC)..... | 26 |
| 6.5.1.3. <i>Rhizophora mangle</i> L | 27 |
| 6.5.1.4. <i>Eysenhardtia polystachya</i> (Ortega) Sarg | 29 |
| 7. Metodología..... | 32 |
| 7.1. Recolección del material biológico | 32 |
| 7.2. Elaboración del extracto | 32 |
| 7.2.1. Extracto acuoso | 32 |
| 7.2.2. Extracto etanol-agua..... | 32 |
| 7.3. Dosis y rendimiento | 33 |
| 7.4. Animales experimentales | 33 |
| 7.5. Grupos experimentales y tratamientos | 33 |
| 7.6. Experimento agudo | 33 |
| 7.7. Cuantificación de insulina | 34 |
| 7.8. Técnica ELISA..... | 34 |
| 7.8.1. Pasos generales de un ELISA | 35 |
| 7.9. Prueba estadística | 35 |
| 7.10. Índice de control cuantitativo de sensibilidad a la insulina | 35 |
| 8. Resultados | 36 |

| | |
|--|----|
| 8.1. Curva temporal de glucosa | 36 |
| 8.2. Curva temporal de insulina..... | 37 |
| 8.3. Índice de control cuantitativo de sensibilidad a la insulina QUICKI | 38 |
| 9. Discusión | 39 |
| 10. Conclusiones | 42 |
| 11. Perspectivas | 42 |
| Referencias bibliográficas | 43 |

Lista de figuras, gráficas y tablas

- Figura 1. Sintomatología de la DM2.
- Figura 2. Prueba de tolerancia oral a la glucosa.
- Figura 3. Pruebas de detección diagnósticas para DM2.
- Figura 4. Regulación del estado postprandial y postabsortivo.
- Figura 5. Organización anatómica del páncreas.
- Figura 6. Respuesta bifásica de la insulina a un estímulo por glucosa.
- Figura 7. Regulación de la glucemia por insulina y glucagón.
- Figura 8. Secretagogos de insulina.
- Figura 9. Receptor de insulina.
- Figura 10. Cascada de señalización de la insulina.
- Figura 11. Fisiopatología de la DM2.
- Figura 12. *Calea urticifolia*.
- Figura 13. Perfil cromatográfico de *C. urticifolia* a 320 nm.
- Figura 14. *Ageratina petiolaris*.
- Figura 15. Perfil cromatográfico de *A. petiolaris* a 320 nm, 254 nm, 365 nm, 380 nm, 280 nm, 230 nm, 210 nm, 200 nm.
- Figura 16. *Rhizophora mangle*.
- Figura 17. Perfil cromatográfico de *R. mangle* a 320nm.
- Figura 18. *Eysenhardtia polystachya*
- Figura 19. Perfil cromatográfico de *E. polystachya* a 400 nm, 250 nm, 365 nm, 320 nm, 280 nm.
- Figura 20. Experimento agudo.
- Figura 21. Principio de la técnica ELISA tipo sándwich.
- Figura 22. Concentración de glucosa plasmática.
- Figura 23. Concentración de insulina plasmática.
- Figura 24. Cálculo del índice QUICKI.

Tabla 1. Hipoglucemiantes orales.

Tabla 2. Parte utilizada y tipo de extracto de las plantas empleadas.

Tabla 3. Grupos experimentales y su tratamiento.

Índice de abreviaturas

| | |
|---------------|--|
| ABC | Área bajo la curva |
| ADA | Asociación Americana de Diabetes |
| AMPc | Adenosina monofosfato cíclico |
| AMPK | Proteína cinasa activada por AMP |
| ATGL | Triglicérido adiposo lipasa |
| CAT | Ciclo de los ácidos tricarbónicos |
| ChREBP | Proteína de unión al elemento de respuesta a carbohidratos |
| DG | Diabetes gestacional |
| DM2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| DPP4 | Dipeptidil peptidasa-4 |
| EASD | Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes |
| ELISA | Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas |
| ENSANUT | Encuesta Nacional de Salud y Nutrición |
| GIP | Péptido insulínico dependiente de glucosa |
| GLP-1 | Péptido similar al glucagón-1 |
| GLUT | Transportador de glucosa |
| G6P | Glucosa-6-fosfatasa |
| HbA1c | Hemoglobina glicada |
| HPLC | Cromatografía líquida de alta resolución |
| HSL | Lipasa sensible a hormonas |
| IDF | Federación Internacional de Diabetes |
| IRS | Sustrato del receptor de insulina |
| MAO | Monoaminoxidasa |
| MGL | Lipasa de monoglicéridos |
| mTOR | Diana de la rapamicina en los mamíferos |
| OMS | Organización Mundial de la Salud |
| PC | Piruvato carboxilasa |
| PEPCK1 | Fosfoenolpiruvato carboxicinasa 1 |
| PDH | Piruvato deshidrogenasa |
| PDK1 | Piruvato deshidrogenasa cinasa 1 |
| PIP2 | Fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato |
| PI3K | Fosfatidilinositol-3-cinasa |
| PKC | Proteína cinasa C |
| PPAR γ | Receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas |
| PTOG | Prueba de tolerancia oral a la glucosa |
| SGLT2 | Contransportador 2 de sodio-glucosa |
| SREBP1c | Proteína de unión a elementos reguladores de esteroides 1c |
| STZ-NA | Estreptozotocina- nicotinamida |
| SU | Sulfonilureas |
| SUR1 | Receptor de sulfonilurea 1 |
| TLC | Cromatografía líquida de alta resolución |
| VLDL | Lipoproteína de muy baja densidad |

1. Resumen

La alteración en la secreción de insulina y la resistencia a la insulina (o disminución de la sensibilidad) son las anomalías centrales de la patogenia de diabetes mellitus tipo 2. Actualmente, se conoce una gran diversidad de plantas utilizadas medicinalmente para tratar esta afección, algunas de ellas como *Calea urticifolia*, *Ageratina petiolaris*, *Rhizophora mangle* y *Eysenhardtia polystachya* cuentan con estudios farmacológicos en donde se ha probado su efecto hipoglucemiante, sin embargo, es importante continuar con su investigación para determinar los mecanismos de acción involucrados.

Debido a que la insulina desempeña un papel central en la homeostasis metabólica al regular la utilización eficiente de la glucosa, el presente trabajo considera importante determinar si el efecto hipoglucemiante de los extractos está dado por el aumento en la concentración de insulina plasmática. Para ello, se realizó una curva temporal de glucosa e insulina, en la cual se cuantificaron estos parámetros cada 30 min.

Se utilizaron ratas Wistar sanas con un ayuno previo de 12 horas (estado postabsortivo, la dosis empleada para los tratamientos se basaron en estudios farmacológicos previos realizados por el laboratorio de etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, en los cuales se determinó la dosis que presentó un mayor efecto hipoglucemiante para cada una de las cuatro plantas empleadas, la administración de los tratamientos se realizó vía oral con las siguientes dosis: *C. urticifolia* (710 mg/kg), *E. polystachya* (8 mg/kg), *A. petiolaris* (160 mg/kg) y *R. mangle* (90 mg/kg); como control positivo se empleó el fármaco glibenclamida (5 mg/kg).

Los extractos *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* mostraron una disminución máxima de los niveles de glucosa plasmática del 12%, mientras que *R. mangle* fue del 7%. Contrario a lo esperado, se observó que los extractos *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* presentan una tendencia general a disminuir la concentración de insulina plasmática mientras ejercen un efecto hipoglucemiante. A diferencia de estos últimos, *R. mangle* presenta un aumento de la insulina plasmática mientras se observa un efecto hipoglucemiante.

Los resultados obtenidos sugieren que el comportamiento de los extractos *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* responden a un mecanismo favorecedor de la sensibilidad a la insulina, mientras que *R. mangle* actúa como posible secretagogo de insulina.

1. Abstract

Altered insulin secretion and insulin resistance (or decreased sensitivity) are the central anomalies in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Currently, a wide variety of plants are known to be used medicinally to treat this condition. Some of them, such as *Calea urticifolia*, *Ageratina petiolaris*, *Rhizophora mangle* and *Eysenhardtia polystachya*, have been pharmacologically studied and their hypoglycemic effect has been proven; however, it is important to continue with the research to determine the mechanisms of action involved.

Because insulin plays a central role in metabolic homeostasis by regulating the efficient use of glucose, this paper considers important to determine if the hypoglycemic effect of the extracts is due to the increase in plasma insulin concentration. For this, a time curve of glucose and insulin was made, in which these parameters were quantified every 30 min.

Healthy Wistar rats were used with a previous fasting of 12 hours (postabsorptive state). The dose used for the treatments were based on previous pharmacological studies carried out by the ethnopharmacology laboratory of the Faculty of Sciences, UNAM, in which the dose that presented a greater hypoglycemic effect for each of the four plants used in this study was determined. The administration of the treatments was carried out orally with the following doses: *C. urticifolia* (710 mg/kg), *E. polystachya* (8 mg/kg), *A. petiolaris* (160 mg/kg) and *R. mangle* (90 mg/kg), the drug glibenclamide (5 mg/kg) was used as a positive control.

The extracts *C. urticifolia*, *A. petiolaris* and *E. polystachya* showed a maximum decrease in plasma glucose levels of 12%, while *R. mangle* was 7%. Contrary to expectations, it was observed that the extracts *C. urticifolia*, *A. petiolaris* and *E. polystachya* have a general tendency to decrease plasmatic insulin concentration while exerting a hypoglycemic effect. Unlike the latter, *R. mangle* presents an increase in plasmatic insulin while a hypoglycemic effect is observed.

The results obtained suggest that the behavior of the extracts *C. urticifolia*, *A. petiolaris* and *E. polystachya* respond to a mechanism favoring insulin sensitivity, while *R. mangle* acts as a possible insulin secretagogue.

2. Introducción

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico de prevalencia mundial, que afecta actualmente cerca de 537 millones de personas, siendo la diabetes mellitus de tipo 2 (DM2) la que representa más del 90% de los casos (*IDF, 2021*). La DM2 presenta como anomalías fisiopatológicas centrales la disfunción de las células β pancreáticas y la resistencia a la insulina, las cuales, en conjunto contribuyen al desarrollo de hiperglucemia crónica y a la desregulación progresiva del metabolismo de la glucosa, lo que puede desencadenar complicaciones micro y macrovasculares (*DeFronzo et al., 2015*).

Aunque la predisposición genética podría determinar parcialmente la respuesta de un individuo a los cambios ambientales, los principales factores impulsores de la epidemia mundial de DM2 incluyen el sobrepeso, la obesidad, el estilo de vida sedentario y un mayor consumo de dietas poco saludables, calóricamente densas e inadecuadamente saciantes que contienen altos niveles de bebidas azucaradas (*Zheng et al., 2018*). En consecuencia, se ha observado la creciente incidencia de obesidad ligada al desarrollo de DM2 en la mayoría de los países desarrollados, así como en países en desarrollo (*Zheng et al., 2018*). Aunque solo un subgrupo de personas obesas desarrolla DM2, la obesidad es un factor de riesgo importante en la pérdida progresiva de sensibilidad a la insulina, el aumento en la severidad de resistencia a la insulina y la pérdida progresiva de secreción de insulina (*Petersen & Shulman, 2018*). Por tanto, la obesidad y la DM2 son trastornos metabólicos que representan un riesgo significativo para la salud, en particular, se encuentran relacionados con enfermedades cardiovasculares y la patogénesis de complicaciones cardiometabólicas (*Barazzoni et al., 2018*).

Dentro del tratamiento actual, se busca la promoción de un estilo de vida que incluya una dieta sana, actividad física regular y la utilización de fármacos para controlar la glucemia. Conjuntamente, una práctica común y extendida en México y el mundo es el uso de medicina tradicional para tratar esta afección.

Diversos estudios con enfoque etnomedicinal establecen a los productos naturales como una de las principales fuentes de descubrimiento de potenciales agentes terapéuticos (*Jugran et al., 2021*). De acuerdo con la OMS, se estima que el 80% de la población mundial hace uso de plantas medicinales para la atención primaria de la salud, sin embargo, sólo en 5.2% de las especies utilizadas cuenta con datos etnofarmacológicos (*Villarreal-Ibarra et al., 2015*). De ahí la importancia de su estudio, ya que además de la posibilidad de desarrollar estrategias terapéuticas efectivas como tratamiento de la DM2, se promueve el conocimiento de la medicina tradicional de calidad, basada en la seguridad y eficacia.

3. Justificación

Las especies *Calea urticifolia*, *Ageratina petiolaris*, *Eysenhardtia polystachya* y *Rhizophora mangle* son ejemplares ampliamente utilizados como plantas medicinales en el tratamiento de la DM2 (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). Debido al alto valor cultural que representan estas especies en las comunidades donde se consumen, y la prevalencia de su uso para tratar los síntomas de DM2, se han realizado diversos estudios en donde queda demostrado su efecto hipoglucemiante en ratas con hiperglucemia inducida, sin embargo los mecanismos de acción involucrados aún continúan en estudio (Andrade-Cetto et al., 2017, 2021; Bustos-Brito et al., 2016; Garcia-Campoy et al., 2020; Martínez Medina, 2019).

La caracterización y comprensión de los mecanismos de acción implicados es necesaria para el continuo desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas en el tratamiento de la DM2. Debido al papel central que desempeña la insulina dentro de las anomalías de la patogenia de la DM2, y la importancia medular de sus acciones metabólicas en la correcta homeostasis de la glucosa, el presente trabajo consideró importante determinar si el efecto hipoglucemiante de los extractos de estas plantas está dado por el aumento en la concentración de insulina plasmática. Proponiendo como posible mecanismo de acción la secreción de insulina.

4. Objetivos

General

- Evaluar el efecto de los extractos de cuatro plantas hipoglucemiantes sobre la concentración de glucosa e insulina plasmática de ratas Wistar normoglucémicas en estado postabsortivo.

Particulares

- Evaluar el efecto agudo del extracto acuoso de *Calea urticifolia* (Mill.) DC. sobre la concentración de glucosa e insulina plasmática en ratas Wistar normoglucémicas en estado postabsortivo.
- Evaluar el efecto agudo del extracto etanol-agua de *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg. sobre la concentración de glucosa e insulina plasmática en ratas Wistar normoglucémicas en estado postabsortivo.
- Evaluar el efecto agudo del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* (Moc. & Sessé ex DC.) RMKing & H.Rob. sobre la concentración de glucosa e insulina plasmática en ratas Wistar normoglucémicas en estado postabsortivo.
- Evaluar el efecto agudo del extracto etanol-agua de *Rhizophora mangle* L. sobre los niveles de glucosa e insulina plasmática en ratas Wistar normoglucémicas en estado postabsortivo.

5. Hipótesis

- La administración oral en estado postabsortivo de los extractos disminuirá la concentración de glucosa plasmática, ejerciendo un efecto hipoglucemiante en ratas normoglucémicas.
- La administración oral en estado postabsortivo de los extractos aumentará la concentración de insulina plasmática, al estimular su secreción.

6. Antecedentes

6.1. Diabetes mellitus

Las cifras reflejadas en la décima edición del Atlas de la Federación Internacional de Diabetes (IDF) confirman que la diabetes mellitus es una de las emergencias sanitarias mundiales del siglo XXI, afectando actualmente cerca de 537 millones de personas (IDF, 2021). Este padecimiento es una enfermedad metabólica de etiología múltiple que se caracteriza por presentar hiperglucemia crónica resultante de defectos en la secreción y/o acción de la insulina, dando lugar a la alteración en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas (IDF, 2021).

6.1.1. Clasificación

De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA, 2022), la diabetes mellitus puede clasificarse en cuatro categorías clínicas de acuerdo con su origen, las cuales son:

Diabetes mellitus tipo 1 (DM1): originada debido a la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas, que conduce a una deficiencia absoluta de insulina, incluida la diabetes autoinmune latente de la edad adulta.

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2): se caracteriza por un déficit progresivo de secreción de insulina con base en una condición patológica conocida como resistencia a la insulina, en la cual las células del cuerpo no responden eficazmente ante su estímulo.

Diabetes gestacional (DG): se define como cualquier caso de intolerancia a la glucosa diagnosticado por primera vez durante el embarazo. Esta clasificación se aplica tanto en los casos en que dicho estado se revierte después del parto, como en aquellos en los que continúa aún después del mismo. Puede presentarse en alrededor del 7% de los embarazos.

Tipos específicos de diabetes: debido a otras causas, p. ej., síndromes de diabetes monogénica (como la diabetes neonatal y la diabetes de inicio en la madurez de los jóvenes), enfermedades del páncreas exocrino (como la fibrosis quística y la pancreatitis) y la diabetes inducida por fármacos o sustancias químicas (como con el uso de glucocorticoides, en el tratamiento del VIH/SIDA o después de un trasplante de órganos).

6.1.2. Factores de riesgo

Existen diversos factores de riesgo asociados con el desarrollo de DM, de los cuales los no modificables incluyen la edad, etnicidad, el sexo o la predisposición genética de la enfermedad, sin embargo existen otros relacionados con el estilo de vida, tales como el sedentarismo o el tabaquismo (Artasensi et al., 2020), del mismo modo, las condiciones clínicas, como la obesidad, la hipertensión, hipertrigliceridemia, síndrome de ovario poliquístico o hipertensión gestacional, aumentan el riesgo (ADA, 2022).

6.1.3. Sintomatología

Dado que la DM puede ser asintomática durante un largo período de tiempo, su diagnóstico suele coincidir con el desarrollo de alguna enfermedad concomitante. Cuando los síntomas se manifiestan incluyen sed y hambre excesivas, micción frecuente, pérdida de peso, heridas que cicatrizan lentamente, hormigueo, fatiga, visión borrosa, y dolor o entumecimiento en las manos o los pies (Figura 1) (Artasensi et al., 2020). La resistencia a la insulina y la deficiencia al metabolizar la glucosa en los tejidos, produce la demanda de otras fuentes de energía, recurriendo a los depósitos de glucógeno en músculo e hígado, y de triglicéridos en tejido adiposo, causando pérdida de peso. Al mismo tiempo, debido al efecto anorexigénico de la insulina a nivel central, esta resistencia produce una sensación constante de apetito que provoca el aumento de la ingesta alimentaria. Si la hiperglucemia supera el umbral renal de reabsorción de la glucosa, se induce un proceso de ósmosis que genera grandes volúmenes de orina, facilitando el aclaramiento de la glucosa excedente. Por último, la pérdida de agua a través de la orina causa deshidratación y sed (Silverthorn, 2019).



Figura 1. Sintomatología de la DM2. Los síntomas principales pueden agruparse en las "4 P" de la diabetes. Modificado de (IDF, 2021).

6.1.4. Criterios diagnósticos

En general, las pruebas de detección diagnósticas para DM2 son igualmente apropiadas y pueden usarse para diagnosticar diabetes y detectar personas con prediabetes (ADA, 2022). El término prediabetes es utilizado para caracterizar personas cuyos niveles de glucosa no cumplen los criterios para la diabetes, pero tienen un metabolismo de lípidos y glúcidos alterado.

Glucosa plasmática en ayuno: El diagnóstico se realiza cuando la glucosa plasmática en ayunas es mayor o igual a 126 mg/dl.

Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG): Esta prueba mide la respuesta del individuo ante un estímulo de glucosa oral, e identifica anomalías en la absorción de la glucosa. La prueba consiste en la medición de la glucemia en el tiempo 0 y 2 horas después de la administración oral de 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua. Una alteración en la PTOG indicaría presentar un factor de riesgo de desarrollar DM en el futuro. Se diagnostica DM cuando el valor de la glucemia al término de la prueba es mayor o igual a 200 mg/dl (Figura 2).

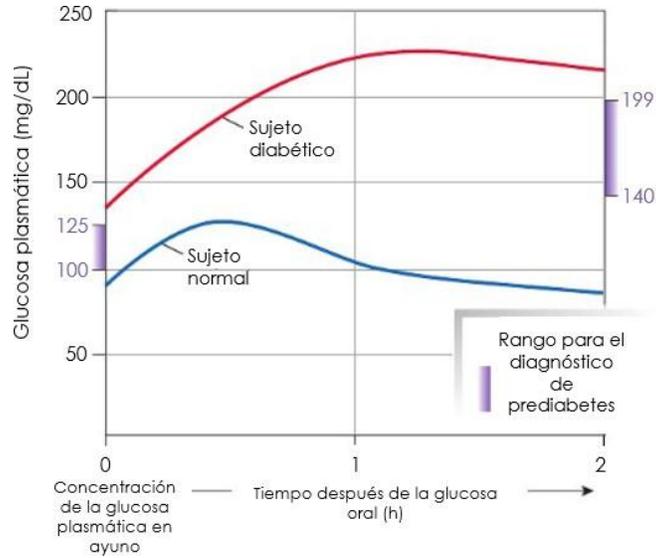


Figura 2. Prueba de tolerancia oral a la glucosa. Puede observarse la tardía e incompleta recuperación de los valores glucémicos preprandiales en el sujeto diabético. Tomado de (Silverthorn, 2019).

Hemoglobina glicada HbA1c: Este es un marcador utilizado para la medición crónica de la glucemia, el cual refleja los niveles promedio de glucosa en sangre durante un período de 2 a 3 meses. La prueba juega un papel central en el manejo de la DM, ya que es utilizado como el biomarcador estándar para la adecuación del manejo glucémico (Figura 3).

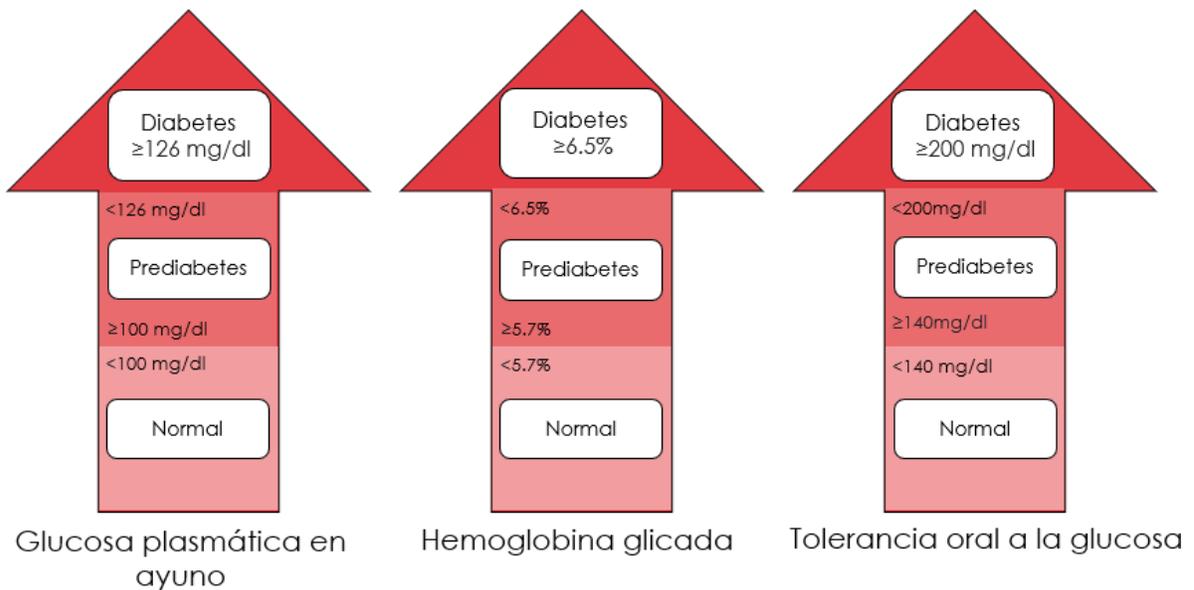


Figura 3. Pruebas de detección diagnósticas para DM2. Se muestran los valores correspondientes a sujetos sanos, con prediabetes y diabetes manifiesta para cada prueba. Modificado de (ADA, 2022).

6.1.5. Prevalencia en México

La DM2 es uno de los padecimientos con mayor prevalencia en México con una tasa del 13.7%, de la cual, el 4.1% representa los casos no diagnosticados (Basto-Abreu et al., 2020). Además, la DM representa la segunda causa de muerte y la primer causa de años de vida saludable perdidos (Basto-Abreu et al., 2020). Tan sólo en el 2020, el 14% del total de defunciones ocurridas en el país, fueron a causa de complicaciones derivadas de la DM2 (FMD, 2020). De acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA), la recomendación es reducir la HbA1c a <7.0%, lo que se puede lograr con una glucosa plasmática media de ~150 a 160 mg/dl (Inzucchi et al., 2012).

Por otra parte, en la ENSANUT 2012 se observó que sólo el 25 % de los pacientes con DM2 tenían un nivel de HbA1c <7 %, mientras que el 50.3% de los pacientes se encontró con hiperglucemia severa de HbA1c >9% (Bello-Chavolla et al., 2017). Dentro del tratamiento actual se tiene reportado el uso de hipoglucemiantes orales en un 84.8% de los pacientes, el uso de insulina en un 6.8 % y el 2.5 % utiliza una combinación de ambos (Bello-Chavolla et al., 2017). Por otro lado, la medicina alternativa fue la opción de tratamiento para el 6.1% de la población con DM2, (Bello-Chavolla et al., 2017). La clara insuficiencia del control glucémico en México es un problema que necesita grandes ajustes para enfrentar los desafíos causados por la DM2, además de abordarse de forma integral para obtener resultados satisfactorios.

6.1.6. Complicaciones

La DM afecta a muchos órganos principales, como el corazón, los vasos sanguíneos, los nervios, los ojos y los riñones. Además, los factores que aumentan el riesgo de desarrollar DM2 son factores de riesgo de otras enfermedades crónicas graves. Las consecuencias agudas y potencialmente mortales de la diabetes no controlada son la cetoacidosis diabética o el estado hiperglucémico hiperosmolar (Artasensi et al., 2020). Mientras que la exposición hiperglucémica crónica a los tejidos, especialmente a los vasos sanguíneos, aumenta el riesgo de desarrollar complicaciones microvasculares, que incluyen retinopatía con pérdida potencial de la visión, nefropatía que conduce a insuficiencia renal y neuropatía con riesgo de úlceras en los pies o amputaciones; y complicaciones macrovasculares, como accidente cerebrovascular, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad cardíaca coronaria, infarto agudo de miocardio y enfermedad vascular periférica (Artasensi et al., 2020). Todas estas complicaciones dan como resultado una reducción de la esperanza de vida de hasta diez años entre los pacientes diabéticos.

6.1.7. Tratamiento

Aunque no existe una cura para la DM2, es posible retrasar o evitar el desarrollo de complicaciones a mediano y largo plazo teniendo un control adecuado de la glucemia. Intervenir sobre los factores de riesgo modificables relacionados con los hábitos y el estilo de vida además mejorará la calidad de vida en general. Para el tratamiento es necesario tener en consideración la etapa de progresión en la que

se encuentra, y de ser necesario apoyarse en terapias farmacológicas. Diversas sociedades científicas como la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Europea para el Estudio de la Diabetes (EASD) realizan informes de consenso sobre el manejo y escalonamiento de los tratamientos dependiendo del caso particular de cada paciente.

La elección del tratamiento va a depender, entre otras cosas, de la eficacia para reducir la HbA1c, además de modificar la dieta y hacer ejercicio para disminuir los depósitos de grasa y favorecer la captación de glucosa de los tejidos periféricos (ADA, 2022). Actualmente, no hay ningún agente disponible que abarque todos los órganos y tejidos implicados en la patogénesis de la DM2; sin embargo, los fármacos disponibles apuntan a determinadas anomalías fisiológicas dentro de la enfermedad (Davies et al., 2022).

6.2. Metabolismo postabsortivo

El estado postabsortivo de ayuno nocturno (10 a 14 horas) es una condición en donde la concentración plasmática de insulina se encuentra en niveles basales, de modo que la utilización de glucosa durante este periodo privilegia a los tejidos independientes de esta hormona. Aproximadamente, el 50% de la utilización de glucosa basal ocurre en el cerebro (totalmente dependiente de las concentraciones extracelulares de glucosa), 25% en el área esplácnica que comprende tejidos gastrointestinales, páncreas e hígado, y 25% en tejidos periféricos, principalmente músculo esquelético (Solis-Herrera et al., 2021). Los niveles de glucosa plasmática deben mantenerse dentro de un estrecho rango fisiológico, por lo que se encuentran regulados simultáneamente por las tasas de producción de glucosa del hígado y los riñones, y la utilización de glucosa basal.

En un individuo normopeso, las concentraciones de glucosa en sangre se mantienen por lo general en un rango de ~80-90 mg/dl, mientras que las concentraciones de insulina se encuentran en ~7-10 μ U/ml (Dimitriadis et al., 2021).

El desarrollo gradual de resistencia a la insulina durante el estado postabsortivo, permite asegurar la estabilidad de los niveles de glucosa en sangre al aumentar la liberación de hormona del crecimiento y cortisol al sistema, modulando la producción de glucosa en hígado/riñones y favoreciendo el cambio de oxidación de glucosa a ácidos grasos en el músculo (Figura 4) (Dimitriadis et al., 2021).

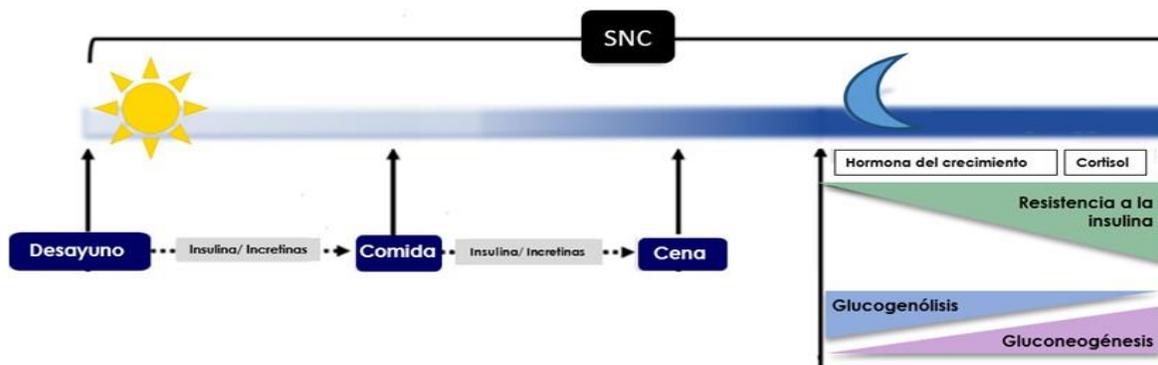


Figura 4. Regulación del estado postprandial y postabsortivo. La magnitud de la hiperglucemia posprandial depende de varios factores que se integran a través del sistema nervioso central (SNC). La regulación de la ingesta se adapta a las necesidades energéticas de los tejidos y evitar una hiperglucemia e hiperinsulinemia excesivas. Durante el sueño nocturno, el desarrollo gradual de la resistencia a la insulina causado por la hormona del crecimiento y los picos de cortisol, asegura que los niveles de glucosa en la sangre se mantendrán dentro de los niveles normales hasta el despertar. Modificado de (Dimitriadis et al., 2021).

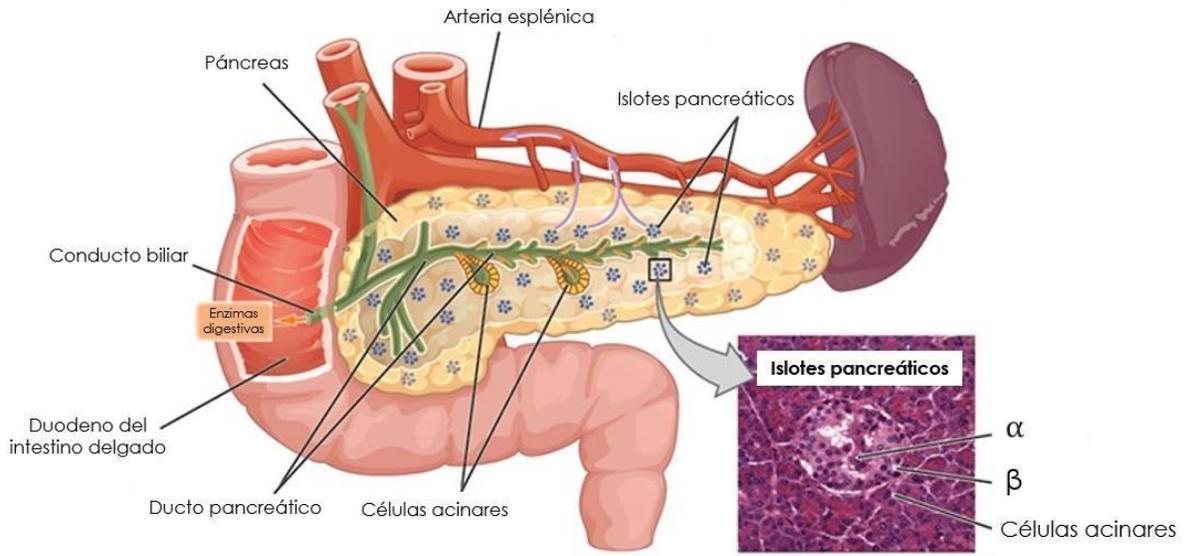
El hígado y los riñones desempeñan un papel fundamental en la producción de glucosa, ya que, además de la capacidad para almacenar energía en forma de glucógeno y triglicéridos, son los únicos tejidos que tienen la facultad de exportar glucosa en momentos de demanda energética (Solis-Herrera et al., 2021). El glucógeno hepático proporciona una reserva de glucosa inmediatamente disponible para mantener la glucemia, cuando los niveles de glucosa disminuyen, se desencadenan mecanismos que promueven tanto la disposición del glucógeno almacenado (glucogenólisis), como la producción de glucosa a partir de precursores no carbohidratos, como los aminoácidos gluconeogénicos o piruvato (gluconeogénesis) (Chadt & Al-Hasani, 2020).

Dado que las reservas de glucógeno hepático pueden agotarse casi por completo en ~24 h, la formación de glucosa *de novo* aumenta a manera de respaldo respecto al decremento en la utilización de glucógeno, hasta reemplazarla por completo (Dimitriadis et al., 2021). Al mismo tiempo, la falta de disponibilidad de glucosa proveniente de glucógeno junto a factores hormonales, como el aumento de la secreción de glucocorticoides por la corteza suprarrenal, el aumento de la secreción de glucagón y la disminución de la secreción de insulina, promueven una utilización cada vez mayor del metabolismo de lípidos como combustible alternativo para el músculo esquelético y el hígado. De modo que, si el ayuno se prolonga, la gluconeogénesis se convierte en el único mecanismo para mantener los niveles de glucosa en sangre (Dimitriadis et al., 2021).

6.3. Insulina

En organismos sanos, la fluctuación en los niveles de glucosa en la sangre a lo largo del día, produce la liberación de hormonas destinadas a minimizar tanto la hipoglucémica, como la hiperglucemia. Esto se logra mediante una red altamente sofisticada de diversas hormonas y neuropéptidos liberados principalmente por el cerebro, el páncreas, el hígado, el intestino, el tejido adiposo y muscular (Röder et al., 2016). Dentro de esta red, el páncreas resulta clave al secretar la hormona insulina, la cual promueve el almacenamiento de glucosa, y su antagonista, el glucagón, que promueve la movilización de glucosa (Andersen & Vermette, 2016).

La secreción de estas hormonas por las células pancreáticas, está controlada por mecanismos reguladores metabólicos endocrinos y paracrinos esenciales para el control de la glucemia (Campbell & Newgard, 2021). La insulina es una hormona endocrina fundamental en el control del flujo metabólico, esta hormona peptídica es liberada por las células β de los islotes pancreáticos en respuesta a niveles elevados de nutrientes en la sangre (Figura 5) (Röder et al., 2016).



Islotes de roedor

Islotes de humano



| |  α |  β |  δ |  ε |
|--------|---|---|---|---|
| Roedor | 10-12% | 65-80% | ~5% | <1% |
| Humano | 30-50% | 50-60% | ~5% | <1% |

Figura 5. Organización anatómica del páncreas. La mayor parte de este órgano está formado por células acinares, o exocrinas, que secretan enzimas digestivas como amilasa, lipasa pancreática y tripsinógeno, hacia la parte superior del intestino delgado a través del conducto pancreático. Mientras que, las células endócrinas se agrupan formando islotes pancreáticos que liberan hormonas de forma endocrina, es decir, por secreción directa al torrente sanguíneo. Los islotes pancreáticos, comprenden cinco tipos celulares que liberan diversas hormonas: células α productoras de glucagón, células β productoras de insulina, péptido c y amilina, células γ productoras de polipéptido pancreático (PP), células δ productoras de somatostatina, y células ϵ productoras de grelina. Aunque los islotes tienen una composición celular similar entre diferentes especies, es decir, humanos, ratas y ratones, su citoarquitectura difiere entre ellos. Los islotes en roedores se componen principalmente de células β ubicadas en el centro junto con otros tipos de células en la periferia, mientras que los islotes humanos exhiben células α y β interconectadas en proporciones similares. Modificado de (Campbell & Newgard, 2021; Röder et al., 2016).

Aunque muchos nutrientes, hormonas y estímulos neurales modulan la secreción de insulina, la glucosa se considera el principal regulador de su síntesis y liberación (Nesher & Cerasi, 2002). Además de su función desencadenante, la glucosa también induce vías que amplifican la secreción de insulina a través del acoplamiento metabolismo-AMPC (monofosfato de adenosina cíclico) o las hormonas incretinas, el péptido similar al glucagón (GLP)-1 y el péptido insulínico dependiente de glucosa (GIP) (Röder et al., 2016).

La secreción de insulina inducida por glucosa presenta una respuesta bifásica que se produce en la cantidad y el momento adecuados para garantizar la absorción y almacenamiento eficientes de los nutrientes en los tejidos diana. Se observa una primera fase de secreción alrededor de los 5-10 min con un pico agudo y robusto de liberación de gránulos preformados y preacoplados a la membrana plasmática (Figura 6) (Dimitriadis et al., 2021).

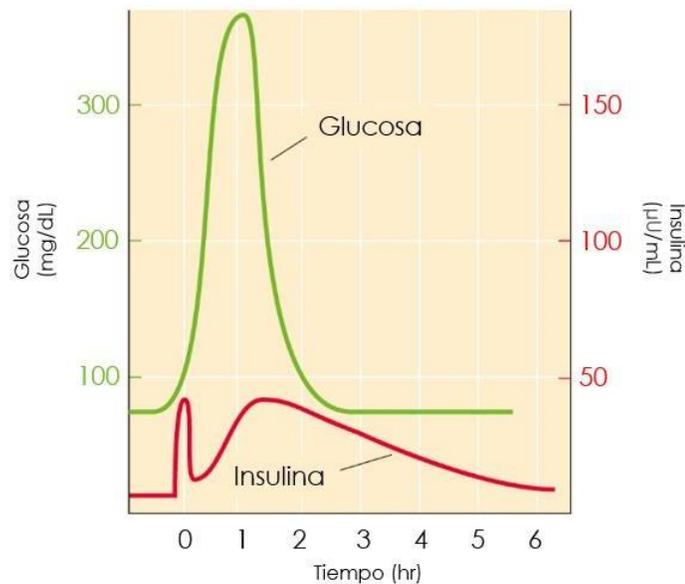


Figura 6. Respuesta bifásica de la insulina a un estímulo por glucosa. La primera elevación de la curva roja corresponde a la secreción de insulina preformada, mientras que el incremento posterior se explica por la síntesis *de novo* de insulina. Modificado de (Boron, 2017).

Durante la segunda fase de secreción, la tasa de liberación de insulina disminuye, sin embargo, permanece de forma sostenida hasta reestablecerse la euglucemia, de forma que, esta segunda fase representa el 85% de la secreción total de insulina (Kalwat & Cobb, 2017). Se ha observado que la magnitud y duración de la respuesta de las células β está determinada por la intensidad y tipo de estímulo, pues si bien la glucosa ocupa un papel central en su secreción, otros factores como las incretinas, ciertos aminoácidos, la actividad del sistema nervioso autónomo e, incluso, la acción paracrina de otras hormonas sintetizadas en el islote, modifican la secreción de insulina (Losada-Barragán, 2021; Nesher & Cerasi, 2002).

La obesidad y la DM2 son problemas de salud asociados con la pérdida de sensibilidad a la insulina y la disfunción de su secreción tanto en la primera como en la segunda fase de amplificación (Kalwat & Cobb, 2017). Por lo que, se ha observado que la exposición crónica a un estado hiperglucémico conduce a la disminución de sensibilidad a la insulina, al aumento en la demanda de liberación

de insulina y al desarrollo de hiperplasia adaptativa de los islotes pancreáticos (Ogihara & Mirmira, 2010). A pesar de la plasticidad que exhiben las células β para adaptarse a estas condiciones, con el tiempo resultan incapaces de equilibrar la demanda insulínica producto de la reducción de la sensibilidad, lo que conduce a su disfunción celular (Inzucchi et al., 2012).

6.3.1. Regulación de la glucemia por insulina

A través de diversas hormonas, en particular el glucagón y la insulina, el páncreas mantiene los niveles de glucosa en sangre dentro de un rango fisiológico óptimo (Figura 7).

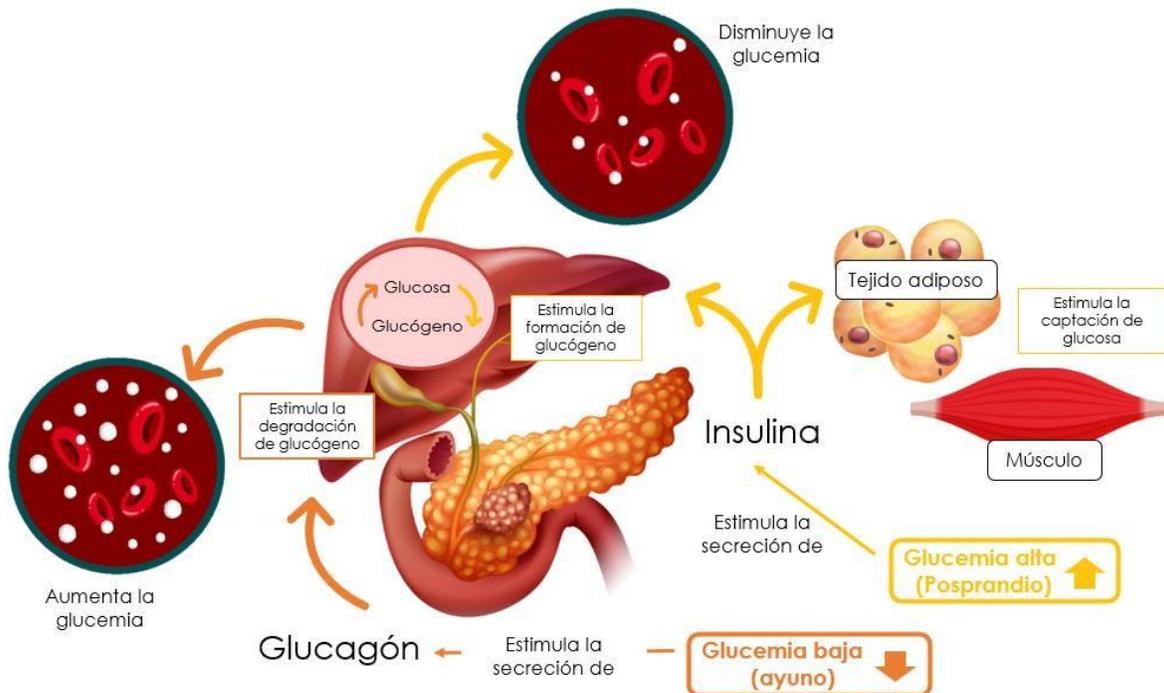


Figura 7. Regulación de la glucemia por insulina y glucagón. Puede observarse que el estímulo principal y el efecto de estas dos hormonas sobre la glucemia son opuestos. Elaboración propia.

Durante el sueño o entre comidas, cuando los niveles de glucosa en sangre son bajos, las células α liberan glucagón para promover la glucogenólisis hepática (Röder et al., 2016). Por el contrario, la secreción de insulina es una respuesta vinculada a un estado de abundancia energética, de modo que su señalización resulta vital para las vías anabólicas posprandiales. Después de la ingesta de una comida rica en carbohidratos, las células β pancreáticas secretan insulina hacia la vena porta, en donde este nuevo flujo hormonal inhibe la liberación de glucagón y desencadena múltiples vías de señalización que median sus acciones biológicas (Solis-Herrera et al., 2021). Cada tejido diana manifiesta una respuesta específica que, en conjunto, coordina la homeostasis metabólica.

Aunque muchos tipos de células somáticas expresan receptores de insulina, la homeostasis de la glucosa se caracteriza por los efectos directos de la insulina sobre músculo esquelético, hígado y tejido adiposo blanco (Petersen & Shulman,

2018). La unión de la insulina a sus receptores en músculo esquelético y tejido adiposo promueve el transporte de glucosa facilitado principalmente por la translocación aguda de vesículas transportadoras de GLUT4 a la membrana plasmática (Chadt & Al-Hasani, 2020). En el hígado el transporte de glucosa al interior de las células no depende de la insulina, sin embargo, ésta resulta esencial debido al efecto directo que tiene sobre la síntesis de glucógeno hepático y el efecto directo sobre la inhibición de enzimas gluconeogénicas (Petersen & Shulman, 2018).

La cascada de señalización producida por la insulina en los miocitos tiene dos posibles destinos: la glucólisis o la síntesis de glucógeno (Solis-Herrera et al., 2021). Sin embargo, la vía principal de utilización de glucosa estimulada por insulina en músculos humanos sanos y diabéticos tipo 2 es la síntesis de glucógeno (~75 %) (Petersen & Shulman, 2018). Esta se encuentra sujeta a la regulación aguda tanto del flujo anabólico como catabólico, a través de la desfosforilación de las enzimas glucógeno sintetasa (activándola) y la fosforilación de la glucógeno fosforilasa (inhibiéndola), asimismo la glucógeno sintetasa desfosforilada es más sensible al control alostérico positivo de la glucosa-6-fosfato, de tal forma que se ve impulsada la activación de la síntesis de glucógeno (Petersen & Shulman, 2018).

Aunque la mayoría (~80-85%) de la glucosa es absorbida por el músculo y solo una pequeña cantidad (~4-5%) es metabolizada por los adipocitos, el tejido adiposo desempeña un rol muy importante en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa corporal total (Solis-Herrera et al., 2021). Una parte significativa del efecto supresor de la insulina sobre la tasa de gluconeogénesis hepática está mediada, de forma indirecta, por la inhibición de la lipólisis en el tejido adiposo, en donde se reduce el suministro de ácidos grasos no esterificados y glicerol al hígado, esenciales para el proceso de síntesis de glucosa *de novo* (Solis-Herrera et al., 2021).

La supresión insulínica de la lipólisis actúa inhibiendo principalmente tres enzimas, la lipasa adipocítica de triglicéridos (ATGL), la lipasa sensible a hormonas (HSL) y la lipasa de monoglicéridos (MGL), la disminución consecuente del flujo de ácidos grasos al hígado disminuye la β -oxidación hepática y el contenido de acetil-CoA, activador alostérico de la piruvato carboxilasa y la fosfoenolpiruvato carboxicinasa, enzimas limitantes de la velocidad de la gluconeogénesis (Roden & Shulman, 2019). De forma similar, la depleción de ácidos grasos libres inhibe la actividad de la enzima glucosa-6-fosfatasa, enzima exclusiva del hígado y riñones que controla la liberación final de glucosa (Solis-Herrera et al., 2021).

Finalmente, cuando las reservas hepáticas de glucógeno están saturadas, la captación adicional activa la lipogénesis, seguida de la exportación de triacilglicerol en forma de partículas de VLDL al músculo y tejido adiposo. Las partículas de VLDL ricas en triglicéridos representan el mecanismo por el cual los ácidos grasos se exportan desde el hígado y se envían al músculo para su oxidación y al tejido adiposo para su almacenamiento (Alves-Bezerra & Cohen, 2017). Por lo que el estímulo lipogénico en tejido adiposo aumenta de manera compensatoria cuando el estímulo lipogénico hepático se reduce (Bódís & Roden, 2018).

Finalmente, la regulación transcripcional de la lipogénesis se realiza principalmente a través de dos vías, mediadas por los factores transcripcionales SREBP1c y ChREBP, estimuladas por el aumento de la concentración de insulina y glucosa, respectivamente (Sanders & Griffin, 2016).

6.3.2. Secreción de insulina

Producto de la ingesta, las células β detectan la glucosa circulante a través de un proceso dependiente de GLUT1 (GLUT2 en roedores), promoviendo la secreción de insulina (Chadt & Al-Hasani, 2020). La glucosa ingresa a las células β a través de los transportadores de glucosa, y es fosforilada a glucosa-6-fosfato por acción de la enzima glucocinasa, en donde aproximadamente 90% entra en glucólisis produciendo ATP y piruvato (Park et al., 2021). El piruvato se transporta a la mitocondria en donde, aproximadamente la mitad es metabolizado por la piruvato carboxilasa (PC) para regenerar ácido oxaloacético para el ciclo de los ácidos tricarbónicos (CAT) (Kalwat & Cobb, 2017). El resto del piruvato se convierte en acetyl-CoA mediante la enzima piruvato deshidrogenasa (PDH) y se condensa con oxaloacetato produciendo citrato.

El CAT genera equivalentes reductores que impulsan la cadena transportadora de electrones y la síntesis de ATP (Kalwat & Cobb, 2017). El aumento de la relación ATP/ADP en las células β conduce al cierre de los canales de potasio (K^+) sensibles a ATP, causando la despolarización de la membrana celular, esta conversión de señalización química a eléctrica produce la apertura y entrada de calcio (Ca^{2+}) a través del canal Ca^{2+} tipo L dependiente del voltaje (Henquin, 2000). Este nuevo flujo iónico activa la progresión de los gránulos de insulina hacia la membrana plasmática a través de los microtúbulos hasta conducir a su fusión con la membrana celular, proceso conocido como exocitosis (Figura 8) (Henquin, 2000).

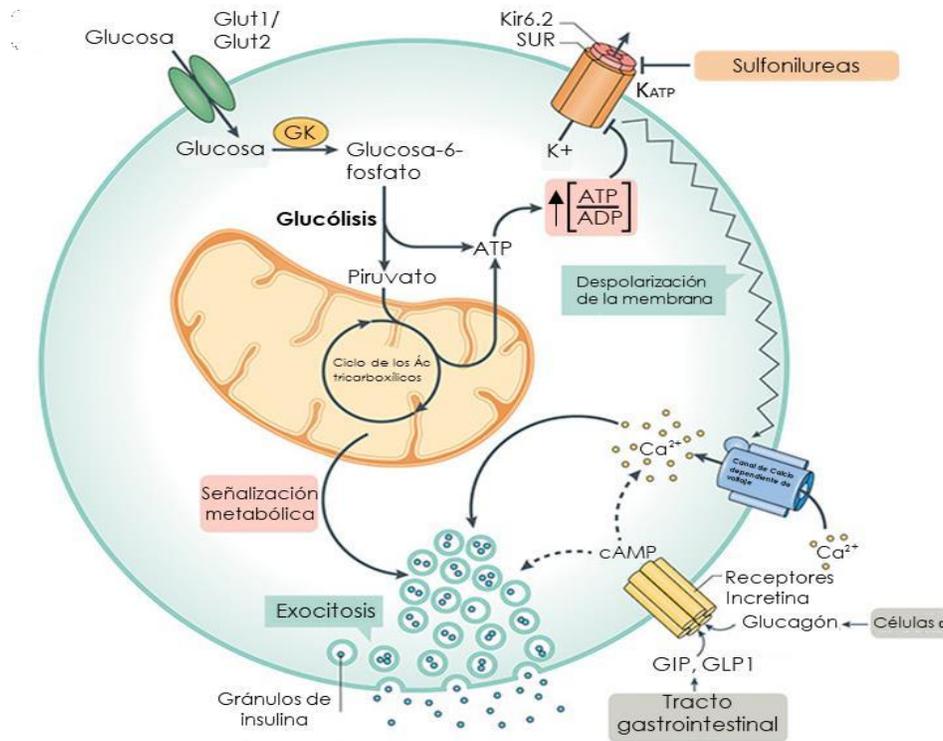


Figura 8. Secretagogos de insulina. Las sulfonilureas estimulan la secreción de glucosa por medio de la inhibición del canal K_{ATP} , mientras que las incretinas utilizan cAMP como segundo mensajero. Modificado de (Campbell & Newgard, 2021).

6.3.3. Hipoglucemiantes orales

Los hipoglucemiantes orales son fármacos que se caracterizan por disminuir los niveles de glucosa en la sangre con el objetivo de retrasar o prevenir las complicaciones micro y macrovasculares derivadas de la hiperglucemia crónica.

Las recomendaciones para su uso como monoterapia o en combinación se describen en las guías de control de diabetes, incluidas la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Asociación Europea para las directrices del Estudio de la Diabetes (EASD). Actualmente, los fármacos más utilizados para el control de la DM2 se pueden clasificar en agentes que potencian la secreción de insulina (secretagogos como las sulfonilureas (SU) y los miméticos de hormonas incretina), en agentes que sensibilizan los órganos diana a la insulina (por ejemplo, biguanidas o las tiazolidinedionas), o agentes que reducen la absorción de glucosa del tracto gastrointestinal (inhibidores de la α -glucosidasa gastrointestinal) (Tabla 1) (Röder et al., 2016).

Tabla 1.
Hipoglucemiantes orales. Tomado de (Silverthorn, 2019).

| Clase farmacológica | Efecto | Mecanismo de acción |
|---|--|--|
| Sulfonilureas y meglitidinas | Estimulan la secreción de insulina | Cierran los canales de KATP de las células β y despolarizan la célula. |
| Inhibidores de la α-glucosidasa | Reducen la captación intestinal de glucosa | Bloquean las enzimas intestinales que digieren carbohidratos complejos. |
| Inhibidores del cotransportador 2 de sodio-glucosa (SGLT2) | Aumentan la excreción de glucosa en orina | Inhiben la reabsorción de glucosa en el túbulo proximal renal |
| Biguanidas | Reducen la glucosa plasmática por disminución de la gluconeogénesis | Aumentan la actividad de AMPK, proteína cinasa dependiente de AMP |
| Activadores de la PPARγ | Aumentan la transcripción de genes para proteínas que promueven la utilización de la glucosa y el metabolismo de lípidos | Activan la PPAR γ , un receptor nuclear para genes involucrados en el metabolismo |
| Análogos de amilina | Reducen la glucosa plasmática | Retrasan el vaciado gástrico, suprimen la secreción de glucagón y promueven la saciedad |
| Análogos de incretinas | Reducen la glucosa plasmática e inducen pérdida de peso | Estimulan la secreción de insulina, reducen la secreción de glucagón, retrasan el vaciamiento gástrico y promueven la saciedad |
| Inhibidores de la DPP4 | Aumentan la secreción de insulina y reducen el vaciamiento gástrico | Inhiben la dipeptil peptidasa-4, que degrada el GLP-1 y el GIP |

6.3.4. Secretagogos de insulina

Los secretagogos de insulina modulan directamente la liberación de insulina. Los secretagogos de tipo sulfonilurea comparten una estructura central pero difieren en sus cadenas laterales (Röder et al., 2016). El receptor SUR1 junto con la subunidad Kir6.x, forman un complejo heterooctamérico que consta de cuatro subunidades internas Kir6.x formadoras de un poro, rodeadas por cuatro subunidades SUR, la expresión específica de SUR1 y Kir6.2 se expresa en el páncreas y cerebro (Seino et al., 2017). Las sulfonilureas actúan en el páncreas al unirse a la subunidad del receptor de sulfonilurea (SUR1) del canal K⁺ ATP con alta afinidad, activando de esta forma la liberación de insulina endógena mediante el bloqueo de los canales K⁺ ATP (Figura 8). La absorción más significativa de glibenclamida se observa a la hora, con niveles máximos a las cuatro horas (Lamos et al., 2012).

6.3.5. Cascada de señalización de la insulina

La actividad biológica de la insulina ligada a su papel anabólico en el metabolismo, se encuentra mediada por sus dos principales cascadas de señalización intracelular, principalmente a través de la vía de señalización PI3K/Akt (Guo, 2014).

La unión de la insulina a sus receptores en la superficie membranal de sus células diana, causa un cambio conformacional de las subunidades alfa que permite la activación de la función cinasa de su subunidad beta, a través de la autofosforilación cruzada en residuos de Tyr (Figura 9) (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

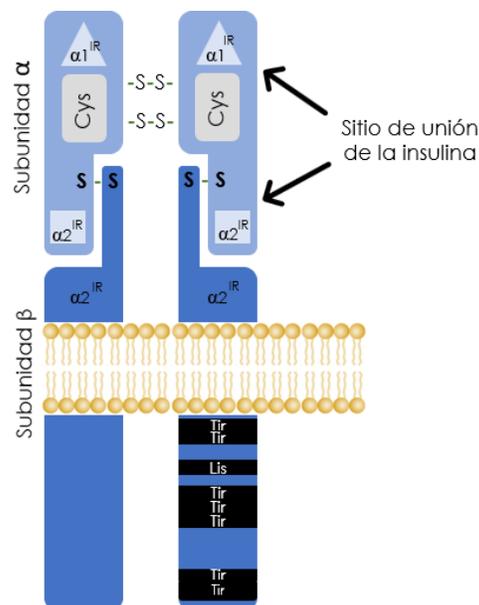


Figura 9. Receptor de insulina. El IR es un heterotetramero que consiste de dos subunidades α extracelulares unidas a dos subunidades β por puentes disulfuro. Las subunidades α contienen las regiones de unión a insulina $\alpha 1^{IR}$ y $\alpha 2^{IR}$ en adición a una región rica en cisteínas (Cis). La subunidad β contiene una porción extracelular, una transmembranal y una intracelular. En su porción intracelular se localiza un dominio catalítico de cinasa de tirosina con un sitio de unión a ATP y sitios de fosforilación en tirosina. Tomado de (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

De esta forma, la activación de la función tirosina cinasa del receptor de insulina (RI) permite el reclutamiento de diversas proteínas de andamiaje. Las subunidades fosforiladas son reconocidas por la proteína sustrato del receptor de insulina (IRS), la cual, al unirse también sufrirá fosforilaciones en residuos de Tyr (Guo, 2014). Los residuos fosforilados sirven como sitios de acoplamiento para moléculas intracelulares, convirtiéndose entonces en sitios de unión y activación que reclutan a la subunidad reguladora fosfoinositida-3-cinasa (PI3K) (Petersen & Shulman, 2018). PI3K cataliza la producción de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PIP₃) a partir de fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP₂), estos fosfoinosítidos funcionan como anclaje para proteínas cinasas de Ser como PDK1 (Saltiel, 2021).

Una vez reclutados en la membrana plasmática, PDK1 y mTORC2 fosforilan Akt en residuos de Thr308 y Ser473, respectivamente (Saltiel, 2021). Es entonces que a partir de Akt se ramifican diversas vías que modulan la homeostasis de la glucosa y los lípidos. Por ejemplo, la síntesis de glucógeno se induce a través de la inhibición de GSK3 por Akt, o la inhibición de la gluconeogénesis que ocurre al impedir la traslocación de FoxO1 al núcleo imposibilitando la expresión de las enzimas glucosa-6-fosfatasa (G6P) y fosfoenolpiruvato carboxicina (PEPCK) (Santolero & Titchenell, 2018). Akt también estimula la lipogénesis al activar los factores de transcripción ChREBP y SREBP1c, a través del complejo mTORC1 (Figura 10) (Santolero & Titchenell, 2018).

Es también a través de Akt que se promueve la translocación del transportador de glucosa GLUT4, al fosforilar e inhibir a la proteína AS160, incrementando así el tráfico de proteínas G pequeñas Rab (Rab-GTP) las cuales participan en el tráfico vesicular de GLUT4 hacia la membrana celular (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008). Modelos alternativos independientes de Akt sugieren que PDK1 induce la fosforilación de dos formas atípicas de la PKC (PKC λ/ξ), que contribuyen de manera significativa a la translocación de GLUT4 (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

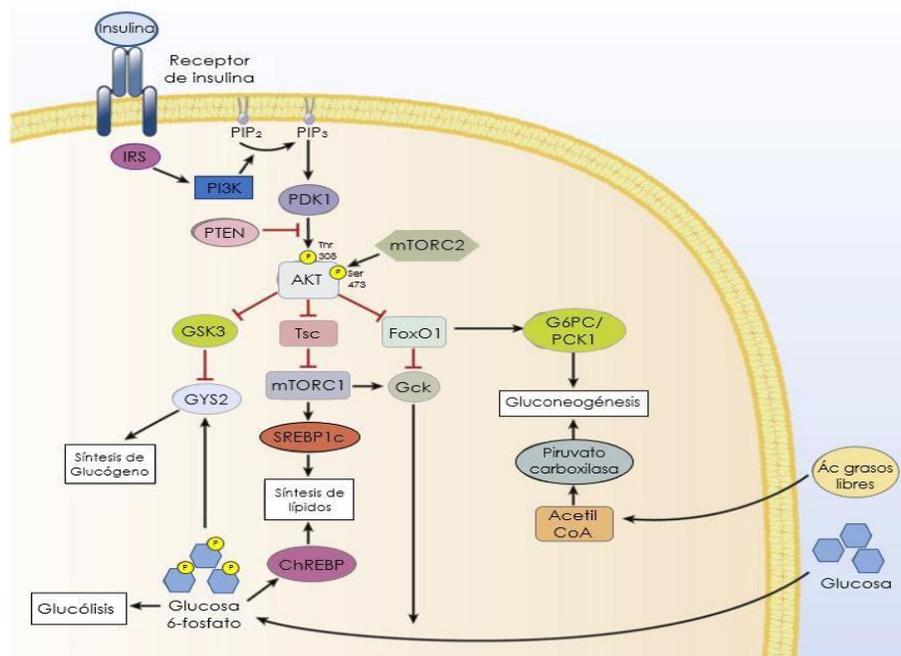


Figura 10. Cascada de señalización de la insulina. La activación de la cascada de señalización desencadena diferentes respuestas biológicas. Tomado de (Santolero & Titchenell, 2018).

6.4. Historia natural de la diabetes mellitus tipo 2

Existen diversas anomalías fisiopatológicas que contribuyen a la desregulación del metabolismo de la glucosa, sin embargo la resistencia a la insulina (o disminución de sensibilidad) y la alteración de su secreción son los defectos centrales de la DM2 (DeFronzo et al., 2015). La resistencia a la insulina se refiere a la condición sistémica de un estado patológico en el que las células dejan de ejercer sus efectos biológicos en respuesta a concentraciones plasmáticas que resultan eficaces en organismos sanos, y que se deben a defectos en su cascada de señalización (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

Los tejidos metabólicos como el adiposo, hepático y muscular, ponen de manifiesto el desarrollo de resistencia a la insulina como rasgo característico de la disfunción metabólica inducida principalmente por obesidad (Gutiérrez-Rodelo, 2017). Si bien, no todas las personas obesas desarrollan DM2, un porcentaje importante de personas con DM2 se caracterizan por presentarla. Cuando los valores de ácido grasos libres son anormalmente altos y se excede su capacidad de almacenamiento y oxidación, se induce la deposición de lípidos ectópicos en los tejidos extraadiposos, produciendo anomalías metabólicas a través de señales crónicamente alteradas, proinflamatorias y desensibilizantes de la insulina en los órganos diana (Barazzoni et al., 2018). Con el tiempo, la concentración plasmática de ácidos grasos libres en ayuno y la tasa de oxidación de lípidos aumentan, lo que conduce a la estimulación sostenida de la producción de glucosa hepática, provocando una marcada hiperglucemia incluso en ayuno (Solis-Herrera et al., 2021).

La exposición excesiva de nutrientes de una dieta hipercalórica en un contexto de obesidad produce una demanda constante e ininterrumpida de liberación de insulina, en consecuencia, se observa una sobreestimulación de las células β que resulta en una hipersecreción compensatoria (Solis-Herrera et al., 2021). Con el tiempo, la sobreestimulación y la hipersecreción desarrollan un proceso de deterioro de las células β que puede concluir en el agotamiento y el fallo disfuncional de la secreción de insulina, y es entonces cuando se habla de una diabetes manifiesta (Yaribeygi et al., 2019). La obesidad, hiperglucemia, resistencia a la insulina y la secreción disfuncional de la insulina recrean un círculo vicioso que retroalimenta los procesos patológicos de la enfermedad, exhibiendo la tríada clásica de hiperinsulinemia, hiperglucemia e hipertrigliceridemia (Brown & Goldstein, 2008). Cuando los tejidos periféricos manifiestan resistencia a la insulina, se ve alterada su capacidad para captar y utilizar la glucosa, lo cual resulta en niveles plasmáticos crónicamente altos. En el músculo ocurren defectos en el transporte de glucosa, la fosforilación de la misma, la síntesis de glucógeno, la actividad del complejo piruvato deshidrogenasa, y la actividad oxidativa mitocondrial (DeFronzo et al., 2015).

Mientras que en tejido adiposo se ve aumentada la liberación de ácidos grasos libres debido a la resistencia del efecto antilipolítico de la insulina (Vázquez-Jiménez et al., 2017). En el hígado, la resistencia a la insulina produce una glucogenólisis acelerada, que junto al suministro de sustratos (ácidos grasos, lactato, glicerol y aminoácidos) conduce al aumento de la gluconeogénesis, contribuyendo de esta forma a la hiperglucemia (DeFronzo et al., 2015). La supresión inapropiada de la producción endógena de glucosa representa casi un

tercio del defecto en la homeostasis de la glucosa corporal total, mientras que la reducción de la captación de glucosa periférica representa los dos tercios restantes (Solis-Herrera et al., 2021). Además, la resistencia a la insulina en el riñón y la gluconeogénesis renal aumentada contribuyen a la hiperglucemia en ayuno (DeFronzo et al., 2015).

Resulta interesante señalar las condiciones fisiopatológicas resultantes de la obesidad y la DM2 al presentar como anomalía subyacente en común la falta de sensibilidad a la insulina. En organismos obesos no diabéticos resistentes a la insulina, la tolerancia a la glucosa no se ve alterada, ya que la capacidad secretora compensatoria de las células β se mantiene, es decir las células β aún son capaces de regular y aumentar su capacidad secretora con el fin de compensar los defectos en la acción de la insulina (Solis-Herrera et al., 2021). Sin embargo, al realizar una curva de tolerancia oral a la glucosa en sujetos normopeso con diabetes manifiesta, se observa que el páncreas no es capaz de aumentar los niveles de insulina lo suficiente para compensar la resistencia a la insulina, reflejada en la pérdida de la sensibilidad a la insulina (Solis-Herrera et al., 2021).

En resumen, al disminuir la sensibilidad a la insulina ocurren defectos en el metabolismo oxidativo y no oxidativo de la glucosa que producen una marcada hiperglucemia y que, de manera compensatoria, se produce una hiperplasia adaptativa en los islotes pancreáticos, lo cual se traduce en una hiperinsulinemia compensatoria., paradójicamente el aumento en la secreción de insulina contribuye al desarrollo de resistencia como medida protectora para evitar una hipoglucemia. A largo plazo no es posible sostener la hipersecreción de insulina, lo cual conduce a la falla de las células β pancreáticas y a una disminución en la secreción de insulina y es entonces cuando el estado diabético se desarrolla (Figura 11) (Tfayli & Arslanian, 2009). Sin embargo, debe reconocerse que existen poblaciones bien descritas con DM2 en las que la sensibilidad a la insulina es normal al inicio de la diabetes, mientras que la secreción de insulina está gravemente alterada (Solis-Herrera et al., 2021).

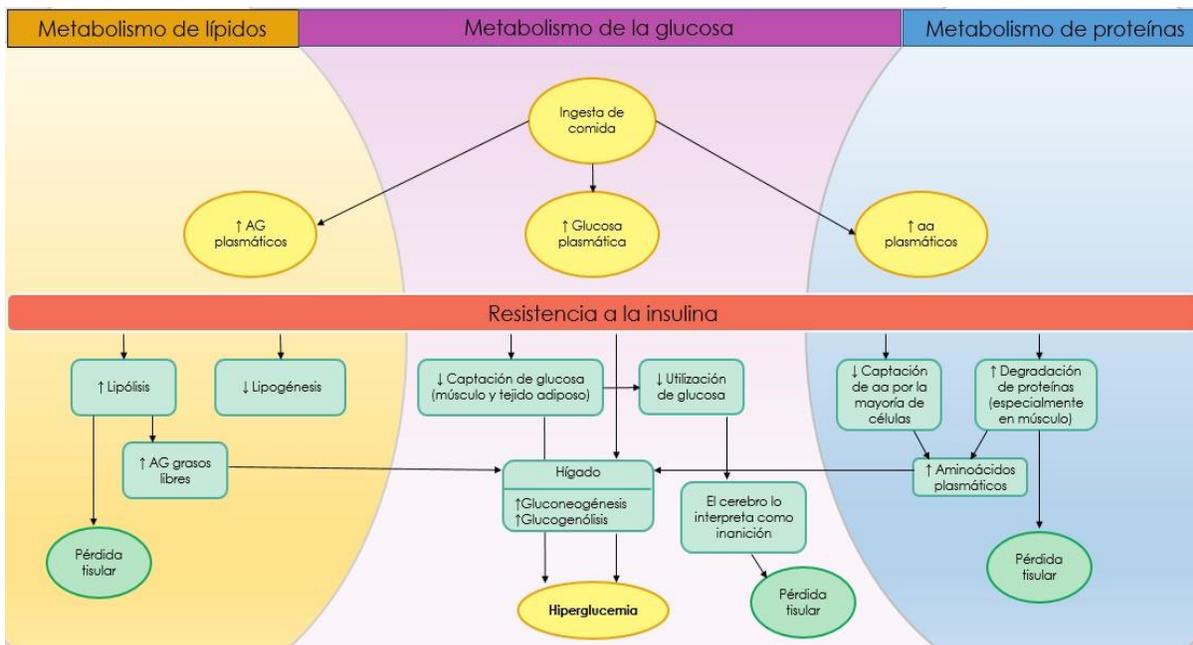


Figura 11. Fisiopatología de la DM2. Modificado de (Silverthorn, 2019).

6.5. Etnofarmacología

Las plantas han sido desde siempre parte de la historia de la humanidad, ya que no sólo proporcionaron alimento, refugio o vestimenta, sino que el uso de plantas con fines medicinales es un elemento presente en todas las culturas. La OMS declara que el estado actual de la medicina tradicional difiere entre los países, y una gran cantidad de personas en el mundo todavía dependen de la medicina tradicional para la atención primaria de su salud (Yuan et al., 2016). La búsqueda e investigación de productos naturales bioactivos tiene una larga tradición, sin embargo, la etnofarmacología como campo de investigación bien definido tiene una historia de hace 50 años aproximadamente (Yeung et al., 2018). De acuerdo con Andrade-Cetto & Heinrich (2011) la etnofarmacología es “el estudio de productos naturales biológicamente activos usados tradicionalmente con el propósito de entender su acción terapéutica”.

El trabajo en equipo entre etnobotánicos, etnofarmacólogos, médicos y fitoquímicos es esencial para el resultado fructífero de la investigación en plantas medicinales. En la actualidad, muchos medicamentos incluyen un prototipo de producto natural. La aspirina, la atropina, la efedrina, la digoxina, la morfina, la quinina, la reserpina y el paclitaxel son algunos ejemplos de fármacos con utilidad clínica que se descubrieron originalmente mediante el estudio de la medicina tradicional y el conocimiento popular de los pueblos originarios de distintas culturas (Gilani & Atta-ur-Rahman, 2005) y más recientemente, la galantamina, la peplina y el crofelemer (Yeung et al., 2018).

El aumento del interés y el uso de la medicina tradicional exige un acercamiento más estrecho con los sistemas de salud y, al mismo tiempo, la promoción de su investigación, desarrollo e innovación, ya que la medicina tradicional de calidad, seguridad y de eficacia comprobada contribuye a asegurar el acceso de las personas a la atención primaria de su salud (OMS, 2013). Las culturas más antiguas y mejor documentadas que utilizan medicina tradicional son la India y la China. Actualmente ambos países han integrado la medicina tradicional en sus programas nacionales de salud (CONABIO, 2020b).

Si bien existen elementos comunes por los cuales las personas se inclinan a utilizar la medicina tradicional, también se aprecian numerosas diferencias entre los países y regiones. Algunos estudios han revelado que las personas recurren a la medicina tradicional debido a una mayor demanda de todos los servicios de salud, un deseo de obtener más información para aumentar los conocimientos sobre las opciones disponibles, una creciente insatisfacción con los servicios de atención de salud existentes y un renovado interés por la “atención integral de la persona” (OMS, 2013). Además, tanto los pacientes como los profesionales de la salud exigen la revitalización de los servicios de salud, haciendo énfasis en la atención individualizada centrada en la persona. Por lo que, durante el encuentro clínico, se deben explorar las opciones terapéuticas para la toma de decisiones compartida, al considerar los deseos y valores del paciente (Inzucchi et al., 2012). Existe buena evidencia que respalda la efectividad de este enfoque. Además, es importante destacar que involucrar a los pacientes en las decisiones de atención médica puede mejorar la adherencia a la terapia (Inzucchi et al., 2012).

6.5.1. Antecedentes fitoquímicos y farmacológicos

6.5.1.1. *Calea urticifolia* (Mill.) DC.

El género *Calea* es un grupo ampliamente conocido y estudiado, perteneciente a la familia Asteraceae que comprende aproximadamente 125 especies neotrópicas (CONABIO, 2020a). Estudios etnofarmacológicos muestran el uso de algunas especies de este género utilizadas en medicina tradicional para tratar enfermedades y afecciones tales como diabetes (Hernandez-Galicia et al., 2002), hipertensión (Onzaga et al., 2008), úlceras gástricas, bactericida (del Castillo et al., 1981), trastornos intestinales como dolor de estómago y diarrea (Sałaga et al., 2015). El género *Calea* representa una vasta fuente en constituyentes fitoquímicos con potencial actividad biológica.

Estudios farmacológicos muestran actividad, tripanocida (Nascimento et al., 2002), leishmanicida (Lima et al., 2015), antihipertensivo (Guerrero et al., 2002), antinociceptivo y antidiarréico (Sałaga et al., 2015), antifúngico (Flach et al., 2002), hipoglucemiante (Andrade-Cetto et al., 2021), acaricida (Ribeiro et al., 2008), antiinflamatorio (Gómez & Gil, 2011) y citotóxico sobre líneas celulares de leucemia U937 (Yamada et al., 2004). En cuanto a los constituyentes fitoquímicos del género *Calea*, se han aislado e identificado más de 270 metabolitos distintos, de entre los cuales los grupos con mayor representación son, en orden descendente, lactonas sesquiterpénicas, derivados de timol, benzofuranos y acetofenonas (Lima et al., 2018).

Calea urticifolia es un arbusto comúnmente conocido como “amargoso”, “hierba amarga” o “jarilla”, que alcanza hasta un metro de altura y se distribuye en climas cálidos y semicálidos desde México hasta Panamá (Figura 12) (CONABIO, 2020a).



Figura 12. *Calea urticifolia*.

Se tiene reportado su uso en medicina tradicional para el tratamiento de diversas afecciones, como dolor de estómago, para tratar úlceras gástricas, inflamación, o como antipalúdico (Méndez-González et al., 2010 como se citó en Mijangos-Ramos et al., 2018), para tratar diarrea, fiebre (Gogineni et al., 2019), y en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 (Andrade-Cetto et al., 2021). Estudios fitoquímicos muestran el aislamiento de lactonas sesquiterpénicas del tipo

germacranólidas y heliangólidas, así como isoeugenol y derivados de floroglucinol (del Castillo et al., 1981; Yamada et al., 2004), además de ácidos dicafeoilquínicos (Mijangos-Ramos et al., 2018), compuestos fenólicos como el flavonoide acacetina (Chaurasiya et al., 2016) y derivados de timol (Lima et al., 2018). Asimismo, el aceite esencial de las semillas de *C. urticifolia* contiene ácido mirístico, palmítico, esteárico, oleico y linoleico, además de un nuevo ácido, el trans-3, cis-9, cis-12-octadecatrienoico (Bagby et al., 1965).

Estudios farmacológicos muestran la actividad de *C. urticifolia* como fungicida ante *Alternaria tagetica* (Gamboa-Angulo et al., 2008), y actividad nematocida para el control de *Meloidogyne incognita* (Herrera-Parra et al., 2009), así como actividad citotóxica en líneas celulares leucémicas U937 (Yamada et al., 2004). Asimismo, presenta un efecto antiinflamatorio y antioxidante al inhibir la vía de señalización de NF- κ B en macrófagos estimulados con LPS mediante la supresión de especies reactivas de oxígeno (Torres-Rodríguez et al., 2016). También se ha observado su actividad potenciadora de elementos con actividad antioxidante en células PC12 neurales de rata (Umamura et al., 2008). Lactonas sesquiterénicas aisladas de *C. urticifolia* inhiben la melanogénesis en células de melanoma B16 de ratón (Ohguchi et al., 2009). Por otra parte, *C. urticifolia* mostró una potente inhibición de las monoaminooxidasas humanas recombinantes (MAO-A y -B), lo cual sugiere su potencial efecto farmacológico útil en el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos (Chaurasiya et al., 2016).

Por último, en 2021 Andrade-Cetto *et al.* presentaron los resultados obtenidos de la experimentación con el extracto acuoso de *C. urticifolia*, el cual mostró un importante efecto hipoglucemiante en estado postabsortivo en un modelo hiperglucémico de rata STZ-NA. Como resultados del HPLC-DAD realizado al extracto activo de *C. urticifolia* a diferentes longitudes de onda, se observaron cuatro compuestos mayoritarios derivados del ácido cafeico, de los cuales se identificó como compuesto mayoritario el ácido clorogénico, en el pico 1), el cual se observa a una longitud de onda de 320nm (Figura 13).

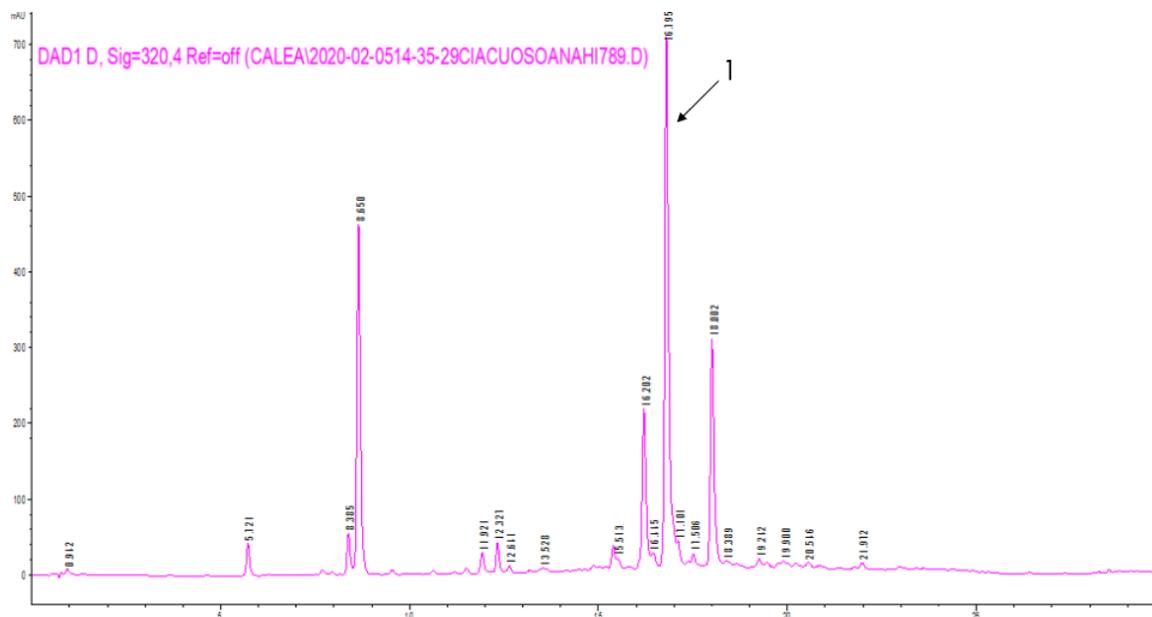


Figura 13. Perfil cromatográfico de *C. urticifolia* a 320nm. En donde 1) ácido clorogénico (compuesto mayoritario).

Además, por TLC se confirmó la presencia de ácido clorogénico y rutina. El extracto acuoso también bloqueó el 20% de la actividad de la enzima alfa-glucosidasa de forma *in vitro*, mientras que inhibe el 90% de la actividad enzimática del complejo glucosa-6-fosfatasa y bloquea el 55% del aumento de glucosa bajo la prueba de tolerancia al piruvato, donde se midió la liberación de glucosa. Estos resultados proporcionan evidencia del efecto hipoglucemiante de *C. urticifolia* asociado a una reducción en la liberación de glucosa hepática y un ligero bloqueo en la absorción de glucosa intestinal.

6.5.1.2. *Ageratina petiolaris* (Moc. & Sessé ex DC.) RMKing & H.Rob.

Es una planta arbustiva endémica de México distribuida en el centro y sur del país, perteneciente a la familia Asteraceae. Puede alcanzar una altura de hasta 2 m de altura, es cilíndrica con tallos leñosos blanco-amarillentos, hojas opuestas con capítulos de láminas ovadas dispuestas en corimbos, y flores blancas (Figura 14) (Bustos-Brito et al., 2016).



Figura 14. *Ageratina petiolaris*.

Se tiene reportado el uso de *A. petiolaris* de forma medicinal en el tratamiento de trastornos del estómago, dolores musculares, dolores de cabeza y diabetes mellitus tipo 2; también se ha descrito su utilidad como anticoagulante, astringente, antihistamínico, antirreumático e inmunoestimulante (Bustos-Brito et al., 2016). En 2016, Bustos-Brito et al. realizaron un estudio etnofarmacológico en el mercado más grande de la CDMX, el Mercado Sonora, en el que encontraron que se vendía *A. petiolaris* como una especie popular para tratamiento de la DM2.

Como seguimiento farmacológico se probó la actividad hipoglucemiante de los extractos acuoso y metanólico en un modelo de hiperglucemia inducida con STZ-NA, en donde se observó que el extracto acuoso mostró mejor actividad hipoglucemiante sin carga de glucosa en comparación con el extracto metanólico. Algunos constituyentes identificados de los extractos de *A. petiolaris* fueron compuestos derivados del timol, lactonas sesquiterpénicas, cromeno y triterpenos. A su vez, fueron aislados los que se describen como los componentes más importantes de la planta, el L-quirositol y el ácido clorogénico, ya que es a estos compuestos a los que se les atribuye el efecto hipoglucémico, al estar

ampliamente reportada en la literatura su capacidad para inhibir la liberación hepática de glucosa y estimular su captación. Del mismo modo, los resultados del HPLC-DAD realizados por el laboratorio de Etnofarmacología de la UNAM, muestra el perfil cromatográfico de *A. petiolaris* a diferentes longitudes de onda, en donde se observa a los 320nm fenil propanoides y derivados del ácido caféico, mientras que a 200nm se observan terpenoides y lactonas (Figura 15).

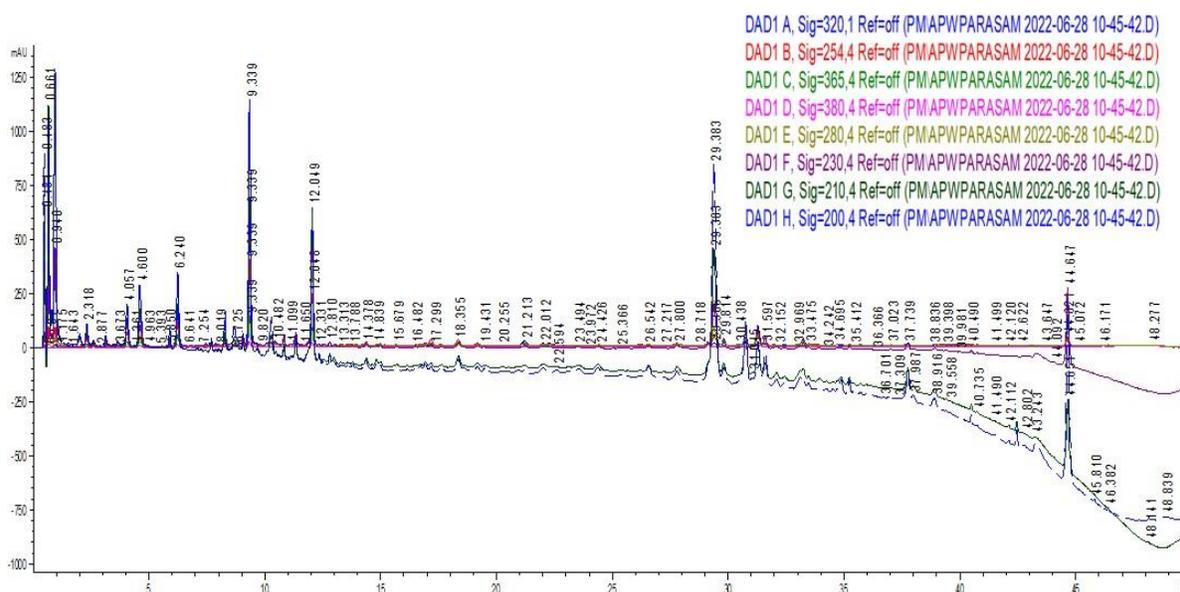


Figura 15. Perfil cromatográfico de *A. petiolaris* a 320 nm, 254 nm, 365 nm, 380 nm, 280 nm, 230 nm, 210 nm, 200 nm.

Finalmente, en 2020 Mata-Torres *et al.* evaluaron la actividad inhibidora de la producción hepática de glucosa con una prueba de tolerancia al piruvato en un modelo STZ-NA y la inhibición de la actividad catalítica del complejo glucosa-6-fostatasa. En este estudio, el extracto acuoso de *A. petiolaris* mostró un efecto inhibidor en la prueba de tolerancia al piruvato *in vivo*, el cual podría correlacionarse con su capacidad de disminuir la actividad del sistema glucosa-6-fostatasa *in vitro* debido a su contenido de ácido clorogénico.

6.5.1.3. *Rhizophora mangle* L.

Los manglares son plantas de importancia ecológica en hábitats marinos y se encuentran distribuidos en las costas de muchos países, además de su importancia ecológica, los manglares son ampliamente utilizados en la medicina tradicional para tratar diversas afecciones como diabetes, hipertensión, inflamación, hematuria, asma y trastornos gastrointestinales como estreñimiento, diarrea, disentería, dispepsia y dolor de estómago (Figura 16) (Andrade-Cetto & Rubalcaba-Mares, 2012; de Souza Mesquita *et al.*, 2018; Mata-Torres *et al.*, 2020; Nabeelah Bibi *et al.*, 2019). Los estudios farmacológicos más comunes reportados son los relacionados con sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas e hipoglucemiantes (Nabeelah Bibi *et al.*, 2019).

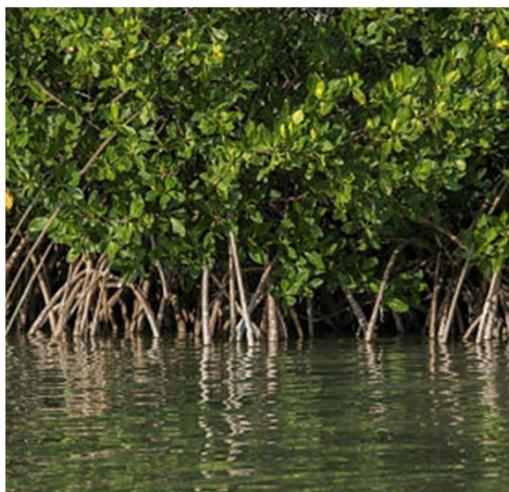


Figura 16. *Rhizophora mangle*.

Un estudio crónico evaluó el efecto del extracto acetónico de *R. mangle* en un modelo de diabetes inducido en ratones alimentados con una dieta alta en grasas (de Souza Mesquita et al., 2018). Como resultados se observó la reducción de los niveles de glucosa e insulina en sangre en ayunas, al igual que la esteatosis hepática. Mientras que *in vitro* se observó que el extracto de *R. mangle* inhibió la actividad de las enzimas lipasa y α -amilasa, además de presentar actividad antioxidante. En cuanto a su composición fitoquímica, se ha detectado la presencia de taninos, triterpenos, flavonoides, glucósidos, quercetina, miricetina y diglicósidos de kaempferol en corteza y hojas (Nabeelah Bibi et al., 2019).

Estudios farmacológicos muestran un efecto hipoglucemiante del extracto etanol-agua en un modelo de diabetes inducida STZ-NA, y una disminución del pico hiperglucémico en una prueba *in vivo* de gluconeogénesis hepática, además de la inhibición de la actividad catalítica del complejo glucosa-6-fosfatasa (Mata-Torres et al., 2020). Otra propiedad que se ha observado es la disminución en los niveles de triacilglicéridos y glucosa plasmática de forma crónica, en donde se sugiere que esta disminución puede deberse a la activación de la vía de la cinasa AKT, la cual es responsable de inhibir las enzimas involucradas en la lipólisis, por lo que disminuye la concentración de triglicéridos en la sangre (Andrade-Cetto et al., 2017).

Asimismo, se pudieron aislar algunos de los componentes principales de la corteza de *R. mangle*, los cuales se identificaron como dos flavalignanos (cinchonainas Ia y Ib), dos flavanoles (catequina-3-O- α -ramnopiranosido y epicatequina), y dos lignanos glucósidos (lyonisida y nudiposida) (Andrade-Cetto et al., 2017). Mientras que, como resultado del HPLC-DAD, en el perfil cromatográfico de *R. mangle* a 320 nm se observan cuatro compuestos identificados como 1) Catequina-3-O-ramnopiranosido, 2) epicatequina, 3) lyonisida, y 4) nudiposida (Figura 17) (Andrade-Cetto et al., 2017).

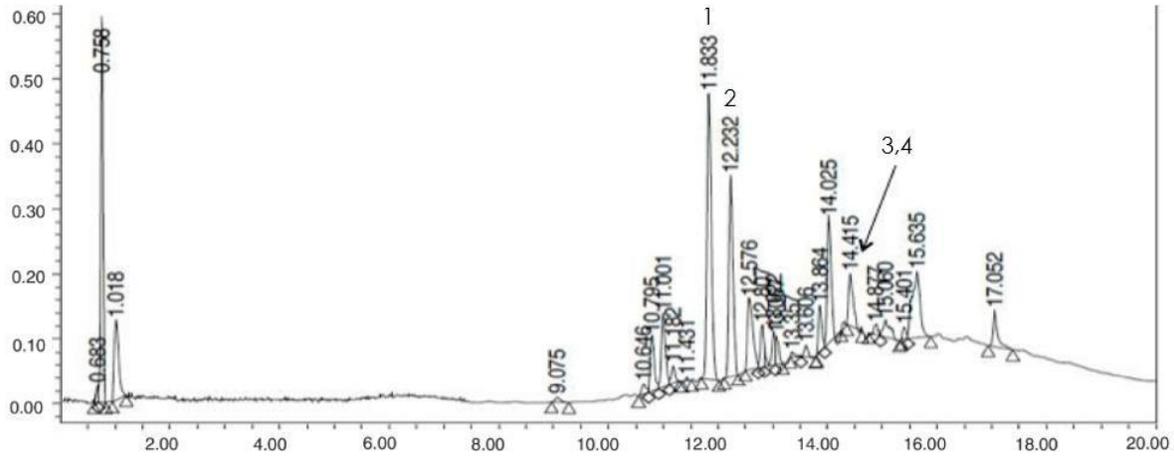


Figura 17. Perfil cromatográfico de *R. mangle* a 320nm. En donde 1) catequina-3-O-ramnopiranosido, 2) epicatequina, 3) lyonisida, y 4) nudiposida.

6.5.1.4. *Eysenhardtia polystachya* (Ortega) Sarg.

El género *Eysenhardtia* es un grupo de plantas ricas en metabolitos secundarios, que han mostrado actividad en el control y mitigación de trastornos urinarios, diabetes mellitus, estrés oxidativo, glicosilación de proteínas, infecciones microbianas, inflamación, dolor o malestar, contracciones musculares, citotoxicidad o como modulador de señalización celular o neuronal (García-Campoy et al., 2020). *Eysenhardtia polystachya* es un arbusto caducifolio perteneciente a la familia Fabaceae que se encuentra distribuido desde el sureste de Estados Unidos hasta el sur de México (Figura 18) (CONABIO, 2009).



Figura 18. *Eysenhardtia polystachya*.

Se tiene documentado su uso en la medicina tradicional mexicana en el tratamiento de infecciones de riñón, vejiga, como diurético (Alvarez et al., 1998; Beltrami et al., 1980; Burns et al., 1984), "depurativo de sangre", antitusivo, antiespasmódico, antipirético, antiinflamatorio, antirreumático, analgésico (Pablo-Pérez et al., 2016; Salinas-Hernández et al., 2008) y como tratamiento para la diabetes mellitus (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). Su actividad antiurolítica fue

probada farmacológicamente, observando una reacción dosis-respuesta en la reducción de deposición de cálculos renales con el extracto acuoso de su madera (Perez et al., 1998).

En otro estudio, se evaluó la actividad antimicrobiana, citotóxica e insecticida del extracto diclorometano-metanol de su corteza; sin embargo, no presentó actividad antimicrobiana, aunque sí se observó una moderada actividad citotóxica en líneas celulares cancerosas y una leve actividad insecticida al sólo observarse cambios morfológicos en larvas de *Spodoptera frugiperda* (Alvarez et al., 1998). Asimismo, se ha comprobado su actividad diurética (Pablo-Pérez et al., 2016). Las propiedades antioxidantes y protectoras también fueron estudiadas en un ensayo *in vivo* e *in vitro* con seis nuevos flavonoides aislados del extracto metanol-agua, de los cuales cinco presentaron habilidad para reducir el estrés oxidativo en un modelo de ratón STZ, además de prevenir o retrasar el daño hepático, renal y pancreático, al aumentar la actividad enzimática depuradora de radicales libres y reducir las especies reactivas de oxígeno intracelular (Perez-Gutierrez et al., 2016). En el mismo estudio, se reportó el aislamiento de siete sustancias conocidas, entre ellas la aspalatina.

En la literatura se encuentra documentado el efecto hipoglucémico de la aspalatina (una dihidrochalcona C-glucósido), como componente de té rooibos de *Aspalathus linearis*, en un modelo de ratón db/db, la cual redujo la hiperglucemia y mejoró la intolerancia a la glucosa a través del aumento de la captación de glucosa y la secreción de insulina (Kawano et al., 2009). Pérez Gutierrez et al. observaron que la 3'-O- β -d-glucopiranosil- α ,4,2',4',6'-pentahidroxi-dihidrochalcona aislada del extracto metanol-agua de *E. polystachya* actúa como agente antiglicación, al ser capaz de reducir la glicación de proteínas involucradas en la nefropatía diabética en modelo de rata STZ-NA.

Estudios fitoquímicos realizados con distintos tipos de extractos de la corteza de *E. polystachya*, indican la presencia de una compleja mezcla de compuestos fenólicos. Beltrami et al. aislaron del extracto acuoso dos α -hidroxidihidrochalconas reportadas como coatlina A y B, mientras que del extracto diclorometano-metanol se aislaron tres nuevas α -hidroxidihidrochalconas (Alvarez & Delgado, 1999). Del extracto metanólico se identificó el principal constituyente fenólico fluorescente, la 7-hidroxi-2',4',5'-trimetoxiisoflavanona, además del compuesto flemichaparin-C (Burns et al., 1984).

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

Por su parte, el equipo de trabajo del laboratorio de etnofarmacología, UNAM, realizó el HPLC-DAD del extracto etanólico de *E. polystachya* a diferentes longitudes de onda, en donde se observan los compuestos más abundantes a los

320 nm, mientras que a 450 nm se encuentran compuestos aromáticos, cromenos, cromonas y chalconas.

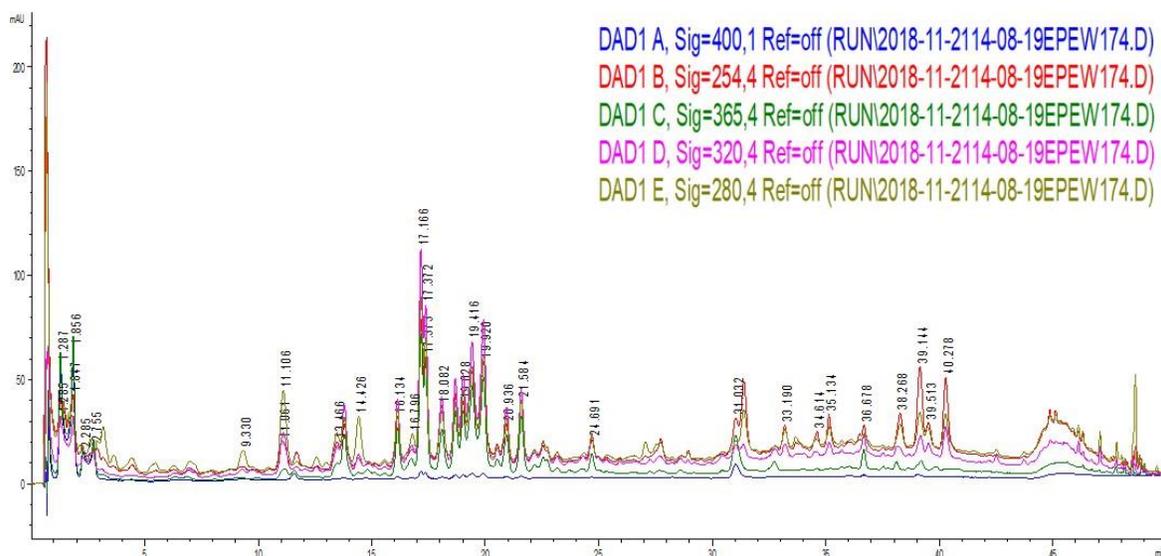


Figura 19. Perfil cromatográfico de *E. polystachya* a 400 nm, 250 nm, 365 nm, 320 nm, 280 nm.

7. Metodología

7.1. Recolección del material biológico

Las especies de *Calea urticifolia* y *Eysenhardtia polystachya* fueron recolectadas en el municipio de Tepehuacan de Guerrero, estado de Hidalgo, el 2019 y 2016 respectivamente, ambas especies fueron identificadas por el M. en C. Ramiro Cruz Durán. Por otra parte, el material vegetal molido de las especies *Ageratina petiolaris* y *Rhizophora mangle* fueron proporcionados por el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM. *A. petiolaris* fue recolectada en el municipio de Tenancingo, estado de México en febrero de 2012 e identificada por José Luis Villaseñor, mientras que *R. mangle* se recolectó en la laguna de Malinaltepec, estado de Oaxaca en noviembre de 2013.

7.2. Elaboración del extracto

La elaboración de los extractos se realizó tomando en cuenta los resultados de estudios previos obtenidos por el equipo de trabajo del laboratorio de etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, acerca del tipo de extracto (acuoso/etanol-agua) y la parte de la planta empleada (Tabla 2) (Andrade-Cetto & Rubalcaba-Mares, 2012; Bustos-Brito et al., 2016; Martínez Medina, 2019; Yacini Torres et al., 2019).

7.2.1. Extracto acuoso

Los extractos se realizaron utilizando 20 g del material vegetal seco y triturado en una infusión a 40 °C con 500 ml de agua destilada, dejando en agitación durante 15 min. La infusión se filtró al vacío para finalmente ser ultracongelada a -45 °C y liofilizada hasta obtener el extracto seco (Tabla 2).

7.2.2. Extracto etanol-agua

Los extractos se realizaron utilizando 20 g del material vegetal seco y triturado en una solución etanol-agua (1:1) de 500 ml a 40 °C, el material se mantuvo en agitación durante 4 horas. Posteriormente, se filtró al vacío y se concentró en el equipo Rotavapor® BÜCHI hasta destilar todo el etanol de la mezcla. El contenido resultante fue ultracongelado a una temperatura de -45 °C y liofilizado hasta obtener el extracto seco (Tabla 2).

Tabla 2.
Parte utilizada y tipo de extracto de las plantas empleadas.

| Nombre | Parte utilizada | Tipo de extracto |
|---------------------------------|-----------------|------------------|
| <i>Calea urticifolia</i> | Hojas | Acuoso |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | Hojas | Acuoso |
| <i>Rhizophora mangle</i> | Parte aérea | Etanol-agua |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> | Madera | Etanol-agua |

7.3. Dosis y rendimiento

Las dosis administradas se calcularon considerando el rendimiento de extracción y el peso de una persona (70 kg), y se ajustaron a una rata (250 g de peso).

7.4. Animales experimentales

Se utilizaron ratas de la cepa Wistar sanas de ambos sexos con 2 meses de edad y un peso aproximado de 250 g, las cuales permanecieron a una temperatura de 25 °C con 50% de humedad y un fotoperiodo de 12 horas de luz y oscuridad con agua y alimento nutricubo de Purina *ad libitum*. Los animales experimentales fueron proporcionados por el bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM. Los experimentos realizados en el presente trabajo se llevaron a cabo siguiendo la Normativa Oficial Mexicana (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999). Asimismo, el proyecto fue aprobado por la Comisión de Ética y Responsabilidad Científica de la Facultad de Ciencias, UNAM, bajo el número de folio P_2021_08_31.

7.5. Grupos experimentales y tratamientos

Se realizaron seis grupos experimentales con una N de 6, las dosis empleadas para los tratamientos se basaron en estudios farmacológicos previos realizados por el laboratorio de etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, en los cuales se determinó la dosis que presentó un mayor efecto hipoglucemiante para cada una de las cuatro plantas empleadas (Tabla 3) (Andrade-Cetto et al., 2021; Andrade-Cetto & Rubalcaba-Mares, 2012; Bustos-Brito et al., 2016; Martínez Medina, 2019). Todos los tratamientos fueron administrados de forma oral.

Tabla 3
Grupos experimentales y su tratamiento.

| Grupos experimentales | Tratamiento |
|--|---------------------------------|
| Normoglucémico | Solución fisiológica |
| Glibenclamida | Glibenclamida (5 mg/kg) |
| <i>Calea urticifolia</i> | Extracto acuoso (710 mg/kg) |
| <i>Ageratina petiolaris</i> | Extracto acuoso (160 mg/kg) |
| <i>Rhizophora mangle</i> | Extracto etanol-agua (90 mg/kg) |
| <i>Eysenhardtia polystachya</i> | Extracto etanol-agua (8 mg/kg) |

7.6. Curva temporal de glucosa e insulina

Se realizaron ensayos agudos con duración de 120 minutos, para los cuales se utilizaron ratas con ayuno previo de 12 horas con una glucemia basal aproximada de 90 mg/dl. Los tratamientos fueron administrados en una sola dosis 5 minutos después de medir la glucosa basal, posteriormente se tomó la medida de glucemia

cada 30 minutos, obteniendo un total de cinco medidas de glucosa por rata (T0, T30, T60, T90, T120). Los valores de glucosa fueron medidos por duplicado con un glucómetro Accu-Chek® Active, al mismo tiempo que se tomó una muestra de 50 µl de suero para realizar la cuantificación de insulina plasmática (Figura 20).

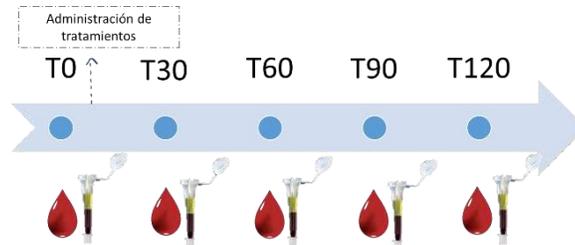


Figura 20. Experimento agudo.

7.7. Cuantificación de insulina

Durante el ensayo agudo se extrajo una muestra de 150 µl de sangre cada 30 minutos. Cada toma se realizó con ayuda de un tubo colector de sangre capilar para análisis Microvette® CB 300. Las muestras fueron etiquetadas con el número de rata, fecha, grupo experimental y tiempo de medición. Posteriormente, se centrifugaron a 12,000 rpm durante 10 min. Al finalizar, se recuperó 50 µl de plasma que fue almacenado a -45 °C en el REVCO hasta su cuantificación mediante el equipo ELISA "Rat/mouse insulin kit" MILLIPORE®. Para cada rata se obtuvo un total de 5 muestras, una en cada tiempo (T0, T30, T60, T90, T120).

7.8. Técnica ELISA

Se realizó un inmunoensayo de técnica ELISA tipo sándwich, en el que dos anticuerpos monoclonales (un anticuerpo de captura y un anticuerpo de detección marcado con una enzima) son dirigidos a dos epítomos diferentes presentes en el antígeno diana (insulina), con el propósito de detectar si el antígeno objetivo está presente en la muestra a analizar. De modo que, al adicionar la solución de sustrato cromogénico específico para que reaccione con el conjugado unido a la insulina, se producirá un color azul. La intensidad del color será proporcional al aumento en la concentración de insulina presente y será cuantificable mediante un espectrofotómetro (Figura 21).

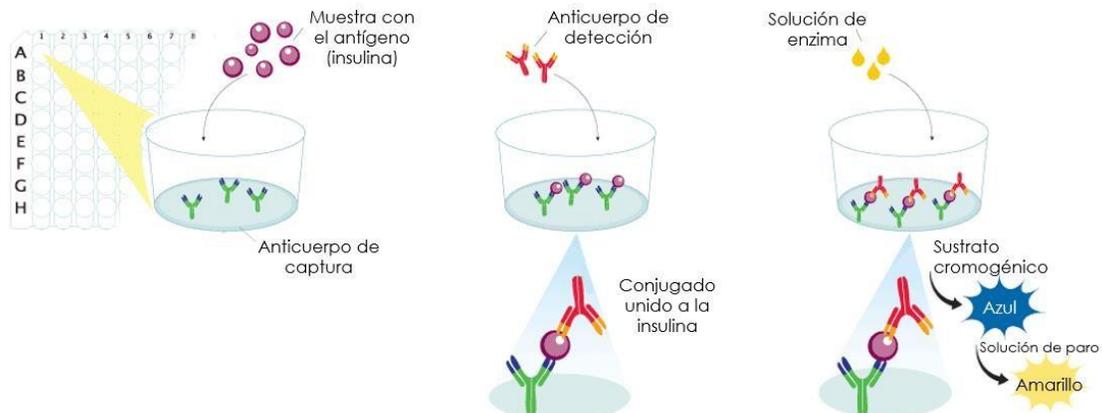


Figura 21. Principio de la técnica ELISA tipo sándwich. (Modificado de <https://www.rndsystems.com/products/quantikine-elisa-kit-measuring-high-molecular-weight-adiponectin>).

7.8.1. Pasos generales de un ELISA

La ELISA tipo sándwich se realizó en microplacas de 96 pocillos (12 columnas x 8 filas), en las que el fondo de los pocillos de la placa sirve de superficie sólida a la que se unen los anticuerpos y otros reactivos.

Paso 1: El anticuerpo de captura se encuentra unido al fondo de los pocillos de la microplaca de ELISA.

Paso 2: Se añade la muestra al pocillo, el antígeno contenido en la muestra se unirá al anticuerpo de captura.

Paso 3: Se añade el anticuerpo de detección, uniéndose a un segundo sitio en el antígeno de interés.

Paso 4: Se deja en agitación e incubación por 2 horas, después se lava la microplaca. El material no unido se elimina mediante el lavado, dejando capturado solo el antígeno de interés.

Paso 5: Se añade la solución de enzima, la cual se conjuga con el anticuerpo de detección.

Paso 6: Se deja en agitación e incubación por 30 minutos, después se lava la microplaca.

Paso 7: Se añade la solución de sustrato, la enzima transforma el sustrato cromogénico sobre el anticuerpo de detección, produciendo un cambio de color.

Paso 8: Se deja en agitación e incubación por 15 minutos.

Paso 9: Se agrega la solución de paro de la reacción y se lee la placa. El espectrofotómetro detecta el producto de la reacción de color y genera valores de densidad óptica (DO).

7.9. Prueba estadística

Para el análisis estadístico se utilizó el programa GraphPad Prism versión 9.00. Con el programa se realizó una normalización de los valores obtenidos y se aplicó una prueba ANOVA de un factor, seguida de una prueba Dunnet y una prueba Tukey de comparaciones múltiples. De esta forma, se compararon los valores de glucosa e insulina dentro de cada grupo respecto a su tiempo inicial (T0), y los valores de glucosa e insulina de cada grupo en cada tiempo. Se utilizó un nivel de significancia de $p < 0.05$. Del mismo modo, se calculó el área bajo la curva (ABC) de los valores normalizados de cada grupo.

Los valores de DO obtenidos de la ELISA se interpolan utilizando una regresión lineal de cinco parámetros, de esta forma se obtuvo la concentración de insulina en las muestras en ng/ml.

7.10. Índice de control cuantitativo de sensibilidad a la insulina

La relación entre la insulina plasmática con la glucemia representa la intensidad del efecto de esta hormona, es decir, qué tan sensibles o resistentes son las células blanco a su acción. En este sentido, el índice QUICKI brinda una estimación robusta, precisa y reproducible que evalúa los cambios en la sensibilidad a la insulina en ayuno, después de una intervención terapéutica (Muniyappa et al., 2008):

$$\text{QUICKI} = \frac{1}{\log \text{ insulina en ayuno } (\mu\text{U/m}) + \log \text{ glucosa en ayuno } (\text{mg/dl})}$$

8. Resultados

8.1. Curva temporal de glucosa

En la **Figura 22 a**, se puede observar el control normoglucémico mostró un comportamiento constante a lo largo del ensayo, manteniendo un promedio de 100 unidades de glucosa. El grupo control positivo glibenclamida presentó una tendencia hipoglucemiante significativa a partir del T60, observándose una disminución máxima del 35% en el T90 respecto a su tiempo inicial, mientras que, al final de la prueba (en el T120), se observó lo que supondría el inicio del restablecimiento de la glucosa plasmática para un organismo sano. El extracto acuoso de *C. urticifolia* (710 mg/kg) presentó un pequeño pico glucémico del 9% 30 min después de la administración oral del extracto, después de la cual se observó un efecto hipoglucemiante con un descenso final del 12%, siendo este significativo respecto a su T0.

Por otra parte, el extracto acuoso de *A. petiolaris* (160 mg/kg) presentó una tendencia general a la hipoglucemia, sólo siendo significativa respecto al control normoglucémico en el T60, mientras que presentó significancia estadística respecto a su tiempo inicial a partir del T90 al disminuir un 10% y culminando con una disminución del 12% para el final de la prueba. El extracto etanol-agua de *R. mangle* (90 mg/kg) presentó un efecto hipoglucemiante moderado, mostrando significancia estadística a los 90 minutos después de su administración. Finalmente, el extracto etanol-agua de *E. polystachya* (8 ml/kg) disminuyó significativamente los niveles de glucosa plasmática en T90 y T120. Se observa que es en el T90 en donde los cuatro extractos presentan una significancia estadística respecto a su tiempo inicial (**Figura 22 a**). En la **Figura 22 b** se observa el área total de glucosa plasmática, en donde se observa la diferencia significativa en la disminución de los extractos respecto al control normoglucémico.

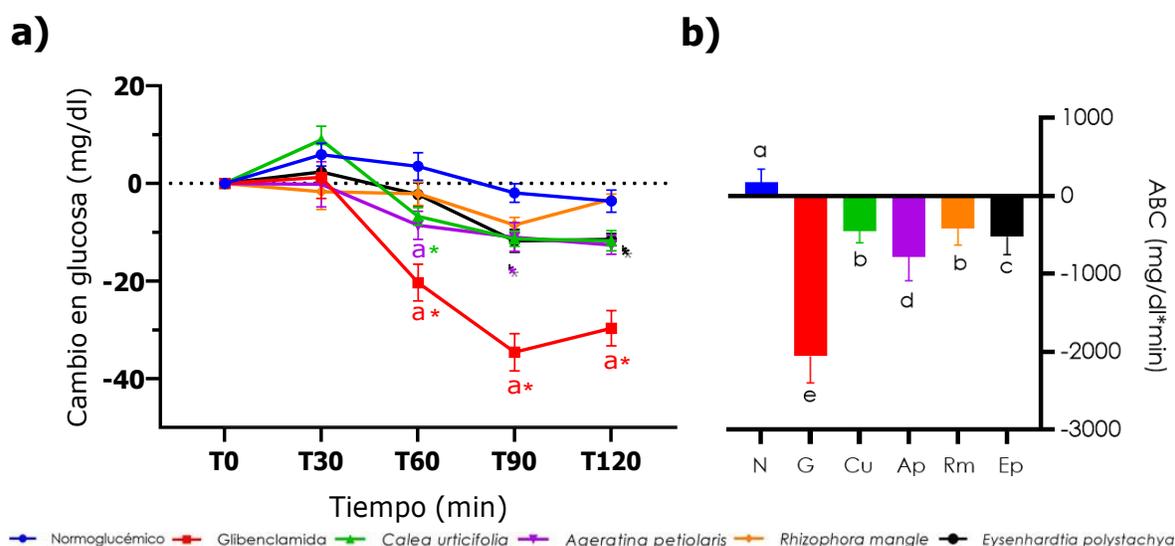


Figura 22. Concentración de glucosa plasmática. Medias \pm EEM. N=6. **a)** Curva temporal del cambio de glucosa plasmática. En donde * vs T0, a vs Normoglucémico, indican diferencia significativa. ANOVA de una vía seguida de una prueba Dunnett y Tukey, $p \leq 0.05$. **b)** ABC del cambio de glucosa plasmática. En donde letras diferentes sobre las barras indican diferencia significativa ($a > b > c > d > e$), ANOVA de una vía seguida de una prueba Tukey, $p \leq 0.05$). N (normoglucémico), G (glibenclamida), Cu (*Calea urticifolia*), Ap (*Ageratina petiolaris*), Rm (*Rhizophora mangle*), Ep (*Eysenhardtia polystachya*).

8.2. Curva temporal de insulina

Paralelamente a las mediciones de glucosa presentadas anteriormente, se cuantificó la concentración de insulina plasmática, a continuación, se describen los resultados de la curva temporal de insulina (**Figura 23 a**). El control normoglucémico presenta concentraciones constantes y sin variaciones significativas de insulina plasmática a lo largo del ensayo. Por otra parte, el control positivo glibenclamida presenta un aumento significativo en la concentración de insulina plasmática a los 60 min después de su administración, respecto a su tiempo inicial y al control normoglucémico. En cuanto a los extractos el fenómeno observable en la cuantificación de insulina es una tendencia constante a la baja en las concentraciones plasmáticas a lo largo de la prueba. El extracto *C. urticifolia* presenta significancia estadística respecto al control glibenclamida a partir del tiempo 60, con un descenso máximo del 37% (0.63 ng/ml) en la última medición.

Por otra parte, la cuantificación de insulina de *A. petiolaris* también muestra una disminución en la concentración de insulina, sin embargo, a diferencia que con *C. urticifolia*, la tendencia no permanece descendente, sino que disminuye un máximo de 0.36 ng/ml (37%) a los 30 min de su administración, seguido de una ligera pendiente ascendente, que se coloca por encima del control normoglucémico. Del mismo modo, el extracto etanol-agua de *E. polystachya* produjo un descenso en la concentración de insulina plasmática 30 minutos después de su administración y al final de la prueba, siendo estos descensos significativos respecto a su tiempo inicial y al control glibenclamida.

Finalmente, el extracto *R. mangle* presenta concentraciones de insulina plasmática que se sostienen por encima de los controles Normoglucémico, *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* durante la primera hora y media después de su administración, antes de descender con significancia estadística respecto a su tiempo inicial durante el último cuarto de la prueba, alcanzando la concentración del control normoglucémico. En la **Figura 23 b** se observa el área total de insulina plasmática, en donde se observa la diferencia significativa en la disminución de los extractos Cu, Ap y Ep respecto al control positivo glibenclamida.

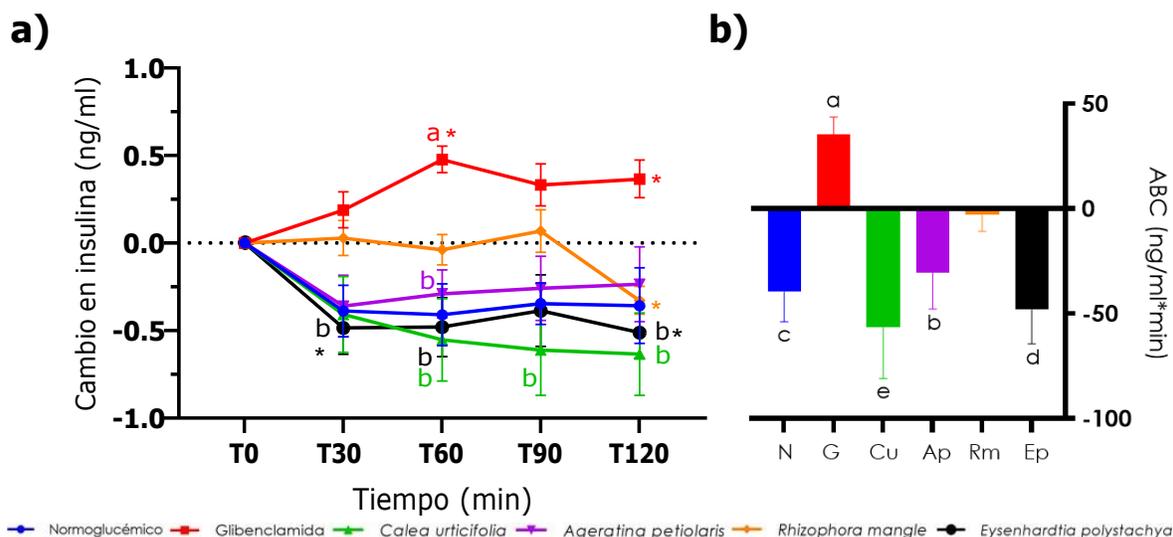


Figura 23. Concentración de insulina plasmática. Medias \pm EEM. N=6. **a)** Curva temporal del cambio de insulina plasmática. En donde * vs T0, a vs Normoglucémico, b vs Glibenclamida, indican diferencia significativa. ANOVA de una vía seguida de una prueba Dunnet y Tukey, $p \leq 0.05$. **b)** ABC del cambio de insulina plasmática. En donde letras diferentes sobre las barras indican diferencia significativa ($a > b > c > d > e$, ANOVA de una vía seguida de una prueba Tukey, $p \leq 0.05$). N (normoglucémico), G (glibenclamida), Cu (*Calea urticifolia*), Ap (*Ageratina petiolaris*), Rm (*Rhizophora mangle*), Ep (*Eysenhardtia polystachya*).

8.3. Índice de control cuantitativo de sensibilidad a la insulina QUICKI

De forma global, al observar el Área bajo la curva (ABC) de la **Figura 22 b** se observa que los extractos producen un descenso en los niveles de glucosa plasmática, sin embargo, este descenso también se ve de manifiesto en el AUC de la concentración de insulina plasmática (**Figura 23 b**). De tal forma que, para determinar el efecto de los extractos sobre la sensibilidad a la insulina, se calculó el índice de sensibilidad QUICKI. La **Figura 24** muestra el aumento significativo del índice QUICKI de los extractos de *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* respecto al control negativo normoglucémico, lo cual es un indicativo de un mejoramiento en la sensibilidad a la insulina.

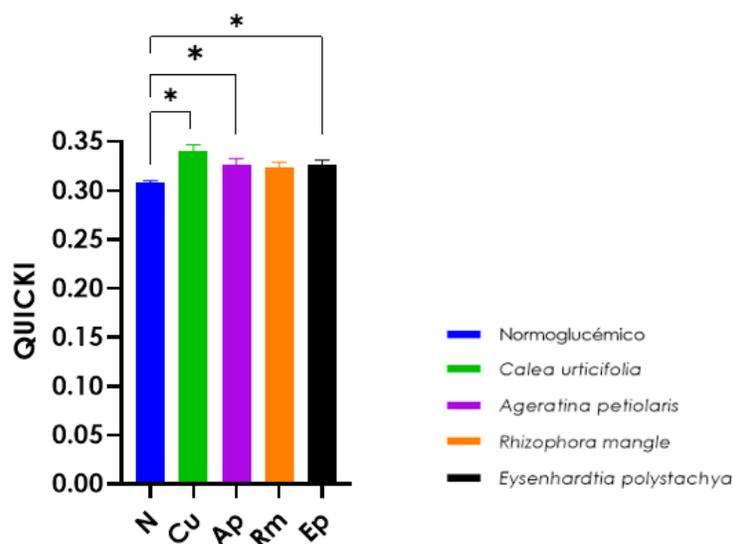


Figura 24. Cálculo del índice QUICKI. Medias \pm SEM, N= 6. Valores promedio de QUICKI. En donde * vs Normoglucémico indica diferencia significativa (ANOVA de una vía seguida de una prueba Fisher, $p \leq 0.05$).

9. Discusión

Las especies *Calea urticifolia*, *Ageratina petiolaris*, *Eysenhardtia polystachya* y *Rhizophora mangle* son ejemplares ampliamente utilizados como plantas medicinales en el tratamiento de la DM2 (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005). Debido al alto valor cultural que representan estas especies en las comunidades donde se consumen, y la prevalencia de su uso para tratar los síntomas de DM2, se han realizado diversos estudios en donde queda demostrado su efecto hipoglucemiante en ratas con hiperglucemia inducida (Andrade-Cetto et al., 2017, 2021; Bustos-Brito et al., 2016; Garcia-Campoy et al., 2020; Martínez Medina, 2019).

Es preciso señalar que en el presente trabajo se propuso investigar como posible mecanismo de acción la secreción de insulina, por lo que se utilizaron ratas sanas para evaluar el efecto de los extractos sobre islotes intactos. Una de las limitaciones de este diseño es la complejidad de la regulación de la glucemia en un organismo sano, que podría amortiguar el efecto farmacológico de los extractos. Por otra parte, como resultado de la investigación etnofarmacológica, se ha observado que el efecto de las plantas medicinales está dado, en su mayoría, por la combinación de diversos mecanismos que pueden estar ocurriendo al mismo tiempo, y no a un sólo mecanismo de acción (Mata-Torres et al., 2020), por lo que el presente trabajo es una contribución al estudio de los mecanismos involucrados en el efecto hipoglucemiante que presentan.

Dentro de los resultados obtenidos se puede observar que los extractos de *C. urticifolia*, *A. petiolaris*, *E. polystachya* y *R. mangle* presentan un efecto hipoglucemiante incluso en organismos sanos y normoglucémicos, lo que sugiere que sus compuestos activos presentan una potencia farmacológica suficiente como para observar el efecto farmacológico en organismos con capacidad reguladora no comprometida. Sin embargo, sólo *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* sostienen su efecto hipoglucemiante hasta el final de la prueba, siendo *A. petiolaris* el extracto con el mayor efecto al mostrar significancia estadística respecto al control normoglucémico en el T60, y presentar la menor área de glucosa total, seguido de *E. polystachya* y *C. urticifolia*.

Es importante señalar que, contrario a lo esperado, el efecto hipoglucemiante observado no es producido por un aumento en la concentración de insulina plasmática, sino que la administración de los extractos (Cu, Ap, Ep) se asocia con una clara disminución en las concentraciones de insulina plasmática respecto al T0. A este respecto, *C. urticifolia* es el extracto que presenta la menor ABC de insulina total, seguida de *E. polystachya* y *A. petiolaris*.

La disminución en la glucemia asociada a la disminución de la insulina hace necesario pensar en un cambio en la sensibilidad a la insulina como mecanismo clave. Debido a que la cantidad de insulina liberada por las células β en cualquier circunstancia depende de los requisitos metabólicos de los tejidos sensibles, al ocurrir un aumento en la sensibilidad a la insulina, el manejo de glucosa podría lograrse en ausencia de un cambio marcado en las concentraciones sanguíneas de insulina plasmática; es decir, sería necesaria una menor cantidad de insulina para ejercer un efecto hipoglucemiante (Dimitriadis et al., 2021). En este sentido, fue necesario realizar una prueba que midiera el efecto de los extractos sobre la sensibilidad a la insulina, como lo es el índice QUICKI; los resultados observados del cálculo de este índice mostraron que los extractos de Cu, Ap y Ep aumentaron de

forma significativa la sensibilidad a la insulina respecto al control negativo normoglucémico. A continuación, se describen algunos mecanismos potenciales detrás del efecto de los extractos.

De acuerdo con los antecedentes fitoquímicos de *A. petiolaris*, se ha identificado ácido clorogénico (también aislado en *C. urticifolia*), L-quirol-inositol y derivados de timol, los cuales se asocian con la activación de la proteína cinasa activada por AMP (AMPK), que regula al alza la expresión génica del transportador de glucosa 4 (GLUT4) para estimular la absorción de glucosa en el músculo esquelético; asimismo, la AMPK regula a la baja la expresión génica de la glucosa-6-fosfatasa, impidiendo la liberación de glucosa a la sangre (Miao & Xiang, 2020). Por otro lado, se sabe que *E. polystachya* presenta dentro de sus componentes fitoquímicos una rica mezcla de compuestos fenólicos y sus derivados, como flavonas, isoflavonoides, dihidrochalconas, etc.

Algunos isoflavonoides biológicamente activos, como los pterocarpanos, se encuentran más comúnmente en la familia *Fabaceae* actuando como fitoalexinas (Selvam et al., 2017). Se ha informado que los extractos de hoja de soya que son ricos en pterocarpanos optimizan la acción de la insulina al mejorar la estructura de los islotes pancreáticos de Langerhans, reduciendo los niveles de glucosa e insulina en plasma y el aumento de peso corporal en ratones diabéticos tipo 2 (Selvam et al., 2017). Además, se ha demostrado que las dihidrochalconas, como la aspalatina presente en el extracto de *E. polystachya*, se dirigen a varias vías fundamentales asociadas con el metabolismo de la glucosa y enfermedades metabólicas como la DM2 (Muller et al., 2021). La aspalatina mejora la resistencia a la insulina al mejorar la señalización de la insulina a través de la proteína cinasa B Akt y la AMPK, y al reducir la inflamación a través de la proteína cinasa C (PKC) y el factor nuclear- κ B (NF κ B) (Muller et al., 2021).

Por otra parte, el extracto de *R. mangle* presenta un moderado efecto hipoglucemiante y, a diferencia de la tendencia con los otros extractos, éste no presenta disminución significativa en la concentración de insulina plasmática, pero tampoco la aumenta, sin embargo, se observa que sus valores permanecen constantes a lo largo de la prueba, y siempre por encima del control normoglucémico. Es en el T120 en donde se pierde el efecto hipoglucémico, al observar un incremento en la glucosa plasmática y un descenso en la concentración de insulina, el cual resulta significativo respecto a su tiempo inicial. Este fenómeno podría responder a un efecto estabilizador o modulador de la secreción de insulina.

Aunque *Ageratina petiolaris* y *Rhizophora mangle* cuentan con estudios en los que se observa su capacidad de inhibir la producción hepática de glucosa en proporciones similares (20%) (Mata-Torres et al., 2020), en el presente estudio se observa que la glucosa e insulina plasmática se comportan diferente entre estos dos extractos; es decir, podrían presentar un mecanismo de acción distinto. De acuerdo con la literatura consultada, *R. mangle* presenta como componentes fitoquímicos con mayor importancia el ácido clorogénico y la epicatequina, ambos compuestos estrechamente relacionados con el aumento en la actividad de Akt y hexocinasa, y en la disminución de la actividad de piruvato carboxilasa y glucosa-6-fosfatasa (Alkhalidy et al., 2018). Esto puede explicar la disminución de la glucosa plasmática hasta el T90, mientras actúa la inhibición de la gluconeogénesis. Sin embargo, el fenómeno que mantiene la concentración de insulina por encima del

control normoglucémico hasta el T90, podría hablar de un mecanismo regulador de la insulina.

En resumen, y de acuerdo con los antecedentes fitoquímicos y farmacológicos de las plantas, se sugiere que el mecanismo involucrado en *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* sea el aumento de la sensibilidad a la insulina y una mayor captación de glucosa, mientras que el mecanismo principal de *R. mangle* sea la inhibición de liberación de glucosa hepática y un efecto estabilizador de la insulina plasmática. Debido a que las células β y los tejidos sensibles a la insulina interactúan de manera regulada, cuando la sensibilidad a la insulina es alta, la liberación de insulina es baja y viceversa, es decir, el aumento de la sensibilidad a la insulina reduce la liberación de insulina pancreática ya que se reduce la cantidad de insulina necesaria para mantener la euglucemia (Alkhalidy et al., 2018).

La medicina tradicional es una parte importante y con frecuencia subestimada en la atención primaria de la salud, esta representa en muchas ocasiones la primer vía de atención de los pacientes, al ser el recurso más conocido y accesible para las personas de distintos estratos socioeconómicos en México y el mundo (Estrada-Castillón et al., 2012). De acuerdo con la (OMS, 2013) "Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023", muchos países reconocen actualmente la necesidad de elaborar un enfoque coherente e integral de la atención de la salud, que facilite a los gobiernos, los profesionales sanitarios y a los usuarios de los servicios de salud, el acceso a la medicina tradicional de manera racional, segura, respetuosa, asequible y efectiva.

El estudio, caracterización y comprensión de los mecanismos de acción implicados en los efectos farmacológicos es necesario para el continuo desarrollo de estrategias terapéuticas efectivas en el tratamiento de la DM2. Del mismo modo, la participación del paciente en la toma de decisiones médicas constituye uno de los principios básicos de la medicina basada en la evidencia, que exige la síntesis de la mejor evidencia disponible de la literatura con la experiencia del médico y las propias inclinaciones del paciente (Inzucchi et al., 2012).

10. Conclusiones

Los extractos de *Calea urticifolia*, *Ageratina petiolaris*, *Eysenhardtia polystachya* y *Rhizophora mangle* presentan un efecto hipoglucemiante en organismos sanos y normoglucémicos, lo que sugiere que sus compuestos activos presentan una potencia farmacológica suficiente como para observar el efecto farmacológico en organismos con capacidad reguladora no comprometida.

De modo contrario a lo que se esperaba, los extractos *C. urticifolia*, *A. petiolaris* y *E. polystachya* presentaron una tendencia general a disminuir la concentración de insulina plasmática, que puede explicarse por un aumento en la sensibilidad a la insulina; lo que corresponde con los resultados del índice de sensibilidad QUICKI, al presentar un aumento significativo respecto al control negativo normoglucémico.

Por otra parte, *R. mangle* presenta un efecto hipoglucemiante que no está relacionado con secreción de insulina ni aumento de la sensibilidad, por lo que dependerá de futuras investigaciones determinar su mecanismo de acción.

11. Perspectivas

Para corroborar las propuestas dadas sobre los mecanismos de acción involucrados, se sugiere realizar pruebas *in vitro* para descartar la secreción de insulina de los extractos, así como realizar la cuantificación de péptido C.

Referencias bibliográficas

- ADA. (2022). https://diabetesjournals.org/care/article/45/Supplement_1/S17/138925/2-Classification-and-Diagnosis-of-Diabetes
- Alkhalidy, H., Moore, W., Wang, A., Luo, J., McMillan, R. P., Wang, Y., Zhen, W., Hulver, M. W., & Liu, D. (2018). Kaempferol ameliorates hyperglycemia through suppressing hepatic gluconeogenesis and enhancing hepatic insulin sensitivity in diet-induced obese mice. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 58, 90–101. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.04.014>
- Alvarez, L., & Delgado, G. (1999). C- and O-Glycosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry*, 50(4), 681-687. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00576-7](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00576-7)
- Alvarez, L., Rios, M. Y., Esquivel, C., Chávez, M. I., Delgado, G., Aguilar, M. I., Villarreal, M. L., & Navarro, V. (1998). Cytotoxic isoflavans from *Eysenhardtia polystachya*. *Journal of Natural Products*, 61(6), 767-770. <https://doi.org/10.1021/np970586b>
- Alves-Bezerra, M., & Cohen, D. E. (2017). Triglyceride metabolism in the liver. *Comprehensive Physiology*, 8(1), 1–8. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170012>
- Andersen, P. L., & Vermette, P. (2016). Intracellular insulin quantification by cell-ELISA. *Experimental Cell Research*, 347(1), 14–23. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2016.06.014>
- Andrade-Cetto, A., Escandón-Rivera, S. M., Torres-Valle, G. M., & Quijano, L. (2017). Phytochemical composition and chronic hypoglycemic effect of *Rhizophora mangle* cortex on STZ-NA-induced diabetic rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 27(6), 744-750. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.09.007>

- Andrade-Cetto, A., Espinoza-Hernández, F., & Mata-Torres, G. (2021, January 12). Hypoglycemic Effect of *Calea urticifolia* (Mill.) DC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*; 2021, 10. <https://doi.org/10.1155/2021/6625009>
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325-348. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2011). From the Field into the Lab: Useful Approaches to Selecting Species Based on Local Knowledge. *Frontiers in Pharmacology*, 2, 20. <https://doi.org/10.3389/fphar.2011.00020>
- Andrade-Cetto, A., & Rubalcaba-Mares, M. (2012). Efecto hipoglucémico del *Rhizophora mangle* en ratas diabéticas inducidas por STZ-NA. *PharmacologyOnLine*. 3. 1-5. https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=Pharmacol.+OnLine&title=Hypoglycemic+effect+of+the+Rhizophora+mangle+cortex+on+STZ-NA+induced+diabetic+rats.&author=A.+Andrade-Cetto&author=M.+L.+Rubalcaba-Mares&volume=3&publication_year=2012&pages=1-5&
- Artasensi, A., Pedretti, A., Vistoli, G., & Fumagalli, L. (2020). Type 2 Diabetes Mellitus: A Review of Multi-Target Drugs. *Molecules*, 25(8), 1987. <https://doi.org/10.3390/molecules25081987>
- Bagby, M. O., Siegl, W. O., & Wolff, I. A. (1965). A new acid from *calea urticaefolia* seed oil: trans-3,cis-9,cis-12-octadecatrienoic acid. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 42(1), 50–53. <https://doi.org/10.1007/BF02558255>
- Barazzoni, R., Gortan Cappellari, G., Ragni, M., & Nisoli, E. (2018). Insulin resistance in obesity: An overview of fundamental alterations. *Eating and Weight Disorders: EWD*, 23(2), 149-157. <https://doi.org/10.1007/s40519-018-0481-6>

- Basto-Abreu, A., Barrientos-Gutiérrez, T., Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., López-Olmedo, N., De la Cruz-Góngora, V., Rivera-Dommarco, J., Shamah-Levy, T., Romero-Martínez, M., Barquera, S., López-Ridaura, R., Hernández-Ávila, M., & Villalpando, S. (2020). Prevalence of diabetes and poor glycemic control in Mexico: Results from Ensanut 2016. *Salud Publica De Mexico*, *62*(1). <https://doi.org/10.21149/10752>
- Bello-Chavolla, O. Y., Rojas-Martinez, R., Aguilar-Salinas, C. A., & Hernández-Avila, M. (2017). Epidemiology of diabetes mellitus in Mexico. *Nutrition Reviews*, *75*(suppl_1), 4–12. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw030>
- Beltrami, E., Bernardi, M. D., Fronza, G., Mellerio, G., Vidari, G., & Vita-Finzi, P. (1980). Coatline A and B, two C-glucosyl- α -hydroxydihydrochalcones from *Eysenhardtia polystachya*. *Phytochemistry*, *21*(12), 2931-2933. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(80\)85071-0](https://doi.org/10.1016/0031-9422(80)85071-0)
- Bódis, K., & Roden, M. (2018). Energy metabolism of white adipose tissue and insulin resistance in humans. *European Journal of Clinical Investigation*, *48*(11). <https://doi.org/10.1111/eci.13017>
- Brown, M. S., & Goldstein, J. L. (2008). Selective versus Total Insulin Resistance: A Pathogenic Paradox. *Cell Metabolism*, *7*(2), 95–96. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.12.009>
- Burns, D., Dalgarno, B. G., Gargan, P., & Grimshaw, J. (1984). *An isoflavone and a coumestan from eysenhardtia polystachya—Robert Boyle's fluorescent acid—Base indicator*. *Phytochemistry*, *23*(1), 167-169. [https://doi.org/10.1016/0031-9422\(84\)83100-3](https://doi.org/10.1016/0031-9422(84)83100-3)
- Bustos-Brito, C., Andrade-Cetto, A., Giraldo-Aguirre, J. D., Moreno-Vargas, A. D., & Quijano, L. (2016). Acute hypoglycemic effect and phytochemical composition of *Ageratina petiolaris*. *Journal of Ethnopharmacology*, *185*, 341–346. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.03.048>

- Campbell, J. E., & Newgard, C. B. (2021). Mechanisms controlling pancreatic islet cell function in insulin secretion. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(2), 142–158.
<https://doi.org/10.1038/s41580-020-00317-7>
- Chadt, A., & Al-Hasani, H. (2020). Glucose transporters in adipose tissue, liver, and skeletal muscle in metabolic health and disease. *Pflugers Archiv*, 472(9), 1273–1298.
<https://doi.org/10.1007/s00424-020-02417-x>
- Chaurasiya, N. D., Gogineni, V., Elokely, K. M., León, F., Núñez, M. J., Klein, M. L., Walker, L. A., Cutler, S. J., & Tekwani, B. L. (2016). Isolation of Acacetin from *Calea urticifolia* with Inhibitory Properties against Human Monoamine Oxidase-A and -B. *Journal of Natural Products*, 79(10), 2538–2544. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00440>
- CONABIO. (2009). *Eysenhardtia punctata—Ficha informativa*.
<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/fabaceae/eysenhardtia-punctata/fichas/ficha.htm>
- CONABIO. (2020a). *Hierba amarga (Calea urticifolia)*. <https://enciclovida.mx/especies/185075>
- CONABIO. (2020b). *Plantas medicinales*. Biodiversidad Mexicana.
<https://www.biodiversidad.gob.mx/diversidad/medicinal/plantas>
- Davies, M. J., Aroda, V. R., Collins, B. S., Gabbay, R. A., Green, J., Maruthur, N. M., Rosas, S. E., Del Prato, S., Mathieu, C., Mingrone, G., Rossing, P., Tankova, T., Tsapas, A., & Buse, J. B. (2022). Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes, 2022. A Consensus Report by the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). *Diabetes Care*, 45(11), 2753–2786. <https://doi.org/10.2337/dci22-0034>
- de Souza Mesquita, L. M., Caria, C. R. e P., Santos, P. S., Ruy, C. C., da Silva Lima, N., Moreira, D. K. T., da Rocha, C. Q., Murador, D. C., de Rosso, V. V., Gambero, A., & Vilegas, W. (2018). Modulatory Effect of Polyphenolic Compounds from the Mangrove Tree *Rhizophora*

- mangle L. on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Insulin Resistance in High-Fat Diet Obese Mice. *Molecules : A Journal of Synthetic Chemistry and Natural Product Chemistry*, 23(9), 2114. <https://doi.org/10.3390/molecules23092114>
- DeFronzo, R. A., Ferrannini, E., Groop, L., Henry, R. R., Herman, W. H., Holst, J. J., Hu, F. B., Kahn, C. R., Raz, I., Shulman, G. I., Simonson, D. C., Testa, M. A., & Weiss, R. (2015). Type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 1(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>
- del Castillo, J. B., Ferrero, M. T. M., Luis, F. R., Bueno, P. V., Leonor, N. G., & Arévalo, S. C. (1981). Salvadorian Compositae. II. Juanislamin and 2,3-Epoxy-Juanislamin, Two New Sesquiterpenic Lactones From *Calea urticifolia*. *Journal of Natural Products*, 44(3), 348–350. <https://doi.org/10.1021/np50015a019>
- Dimitriadis, G. D., Maratou, E., Kountouri, A., Board, M., & Lambadiari, V. (2021). Regulation of Postabsorptive and Postprandial Glucose Metabolism by Insulin-Dependent and Insulin-Independent Mechanisms: An Integrative Approach. *Nutrients*, 13(1), 159. <https://doi.org/10.3390/nu13010159>
- Estrada-Castillón, E., Soto-Mata, B. E., Garza-López, M., Villarreal-Quintanilla, J. Á., Jiménez-Pérez, J., Pando-Moreno, M., Sánchez-Salas, J., Scott-Morales, L., & Cotera-Correa, M. (2012). Medicinal plants in the southern region of the State of Nuevo León, México. *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 8(1), 45. <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-45>
- Flach, A., Gregel, B., Simionatto, E., Silva, U. F. da, Zanatta, N., Morel, A. F., Linares, C. E. B., & Alves, S. H. (2002). Chemical Analysis and Antifungal Activity of the Essential Oil of *Calea clematidea*. *Planta Medica*, 68(09), 836–838. <https://doi.org/10.1055/s-2002-34414>
- FMD. (2020). Estadísticas en México. *Federación Mexicana de Diabetes*. <http://fmdiabetes.org/estadisticas-en-mexico/>

- Gamboa-Angulo, M. M., Cristóbal-Alejo, J., Medina-Baizabal, I. L., Chí-Romero, F., Méndez-González, R., Simá-Polanco, P., & May-Pat, F. (2008). Antifungal properties of selected plants from the Yucatan peninsula, Mexico. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, *24*(9), 1955–1959. <https://doi.org/10.1007/s11274-008-9658-x>
- García-Campoy, A., García, E., & Muñiz-Ramírez, A. (2020). Phytochemical and Pharmacological Study of the *Eysenhardtia* Genus. *Plants*, *9*(9), 1124. <https://doi.org/10.3390/plants9091124>
- Gilani, A. H. & Atta-ur-Rahman. (2005). Trends in ethnopharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, *100*(1), 43–49. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.06.001>
- Gogineni, V., Nael, M. A., León, F., Núñez, M. J., & Cutler, S. J. (2019). Computationally aided stereochemical assignment of undescribed bisabolones from *Calea urticifolia*. *Phytochemistry*, *157*, 145–150. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.10.022>
- Gómez, M., & Gil, J. F. (2011). Topical Anti-Inflammatory Activity of *Calea prunifolia* HBK (Asteraceae) in the TPA Model of Mouse Ear Inflammation. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, *22*(12). <https://doi.org/10.1590/S0103-50532011001200021>
- Guerrero, M. F., Puebla, P., Carrón, R., Martín, M. L., Arteaga, L., & Román, L. S. (2002). Assessment of the antihypertensive and vasodilator effects of ethanolic extracts of some Colombian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, *80*(1), 37–42. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00420-2](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00420-2)
- Guo, S. (2014). Insulin Signaling, Resistance, and the Metabolic Syndrome: Insights from Mouse Models to Disease Mechanisms. *The Journal of Endocrinology*, *220*(2), 1-23. <https://doi.org/10.1530/JOE-13-0327>
- Gutiérrez-Rodelo, C. (2017). Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización. *Gaceta Médica de México.*, 15.

- Henquin, J. C. (2000). Triggering and amplifying pathways of regulation of insulin secretion by glucose. *Diabetes*, *49*(11), 1751–1760. <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.11.1751>
- Hernandez-Galicia, E., Aguilar-Contreras, A., Aguilar-Santamaría, L., Román-Ramos, R., Chavez-Miranda, A., Garcia-Vega, L., José Luis, F., & Alarcon, F. (2002). Studies on hypoglycemic activity of Mexican medicinal plants. *Proceedings of the Western Pharmacology Society*, *45*, 118–124.
- Herrera-Parra, E., Cristóbal-Alejo, J., Tún-Suárez, J., Gamboa-Angulo, M., Marban-Mendoza, N., Tún-Suárez, M., & Marbán-Men, N. (2009). Extractos acuosos de *Calea urticifolia* para el control de *Meloidogyne incognita*. *Nematropica*, *39*, 289–298.
- IDF. (2021). <https://diabetesatlas.org/atlas/tenth-edition/>
- Inzucchi, S. E., Bergenstal, R. M., Buse, J. B., Diamant, M., Ferrannini, E., Nauck, M., Peters, A. L., Tsapas, A., Wender, R., & Matthews, D. R. (2012). Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach. *Diabetes Care*, *35*(6), 1364–1379. <https://doi.org/10.2337/dc12-0413>
- Jugran, A. K., Rawat, S., Devkota, H. P., Bhatt, I. D., & Rawal, R. S. (2021). Diabetes and plant-derived natural products: From ethnopharmacological approaches to their potential for modern drug discovery and development. *Phytotherapy Research: PTR*, *35*(1), 223 - 245. <https://doi.org/10.1002/ptr.6821>
- Kalwat, M. A., & Cobb, M. H. (2017). Mechanisms of the Amplifying Pathway of Insulin Secretion in the β Cell. *Pharmacology & Therapeutics*, *179*, 17–30. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.05.003>
- Kawano, A., Nakamura, H., Hata, S., Minakawa, M., Miura, Y., & Yagasaki, K. (2009). Hypoglycemic effect of aspalathin, a rooibos tea component from *Aspalathus linearis*, in type 2 diabetic

- model db/db mice. *Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 16(5), 437-443. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.11.009>
- Kim, U.-H., Yoon, J.-H., Li, H., Kang, J.-H., Ji, H.-S., Park, K. H., Shin, D.-H., Park, H.-Y., & Jeong, T.-S. (2014). Pterocarpin-enriched soy leaf extract ameliorates insulin sensitivity and pancreatic β -cell proliferation in type 2 diabetic mice. *Molecules*, 19(11), 18493-18510. <https://doi.org/10.3390/molecules191118493>
- Lamos, E. M., Stein, S. A., & Davis, S. N. (2012). Combination of glibenclamide–metformin HCl for the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 13(17), 2545–2554. <https://doi.org/10.1517/14656566.2012.738196>
- Lima, T. C., de Jesus Souza, R., da Silva, F. A., & Biavatti, M. W. (2018). The genus *Calea* L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities. *Phytotherapy Research: PTR*, 32(5), 769 - 795. <https://doi.org/10.1002/ptr.6010>
- Lima, T. C., Santos, A. D. C., Costa, D. T. M., Souza, R. J., Barison, A., Steindel, M., & Biavatti, M. W. (2015). Chromenes from leaves of *Calea pinnatifida* and evaluation of their leishmanicidal activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 25(1), 7–10. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.01.004>
- Losada-Barragán, M. (2021). Physiological effects of nutrients on insulin release by pancreatic beta cells. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 476(8), 3127–3139. <https://doi.org/10.1007/s11010-021-04146-w>
- Martínez Medina, S. (2019). *Estudio hipoglucemiante agudo del extracto etanol-agua de la corteza de Eysenhardtia polystachya (Ortega) Sarg. En ratas STZ-NA* [Tesis de licenciatura]. UNAM.
- Mata-Torres, G., Andrade-Cetto, A., Espinoza-Hernández, F. A., & Cárdenas-Vázquez, R. (2020). Hepatic Glucose Output Inhibition by Mexican Plants Used in the Treatment of Type 2 Diabetes. *Frontiers in Pharmacology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00215>

- Miao, M., & Xiang, L. (2020). Chapter Three—Pharmacological action and potential targets of chlorogenic acid. In G. Du (Ed.), *Advances in Pharmacology*, 87, 71–88.
<https://doi.org/10.1016/bs.apha.2019.12.002>
- Mijangos-Ramos, I. F., Zapata-Estrella, H. E., Ruiz-Vargas, J. A., Escalante-Erosa, F., Gómez-Ojeda, N., García-Sosa, K., Cechinel-Filho, V., Meira-Quintão, N. L., & Peña-Rodríguez, L. M. (2018). Bioactive dicaffeoylquinic acid derivatives from the root extract of *Calea urticifolia*. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 28(3), 339-343.
<https://doi.org/10.1016/j.bjp.2018.01.010>
- Muller, C. J. F., Joubert, E., Chellan, N., Miura, Y., & Yagasaki, K. (2021). New Insights into the Efficacy of Aspalathin and Other Related Phytochemicals in Type 2 Diabetes—A Review. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(1), 356.
<https://doi.org/10.3390/ijms23010356>
- Nabeelah Bibi, S., Fawzi, M. M., Gokhan, Z., Rajesh, J., Nadeem, N., R.R., R. K., R.D.D.G., A., & Pandian, S. K. (2019). Ethnopharmacology, Phytochemistry, and Global Distribution of Mangroves—A Comprehensive Review. *Marine Drugs*, 17(4), 231.
<https://doi.org/10.3390/md17040231>
- Nascimento, A. M. do, Oliveira, D. C. R. de, & Albuquerque, S. (2002). Evaluation of trypanocidal activity from *Calea uniflora* (Heliantheae-Asteraceae) extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 12, 49–50. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2002000300023>
- Nesher, R., & Cerasi, E. (2002). Modeling Phasic Insulin Release: Immediate and Time-Dependent Effects of Glucose. *Diabetes*, 51(suppl_1), 53–59.
<https://doi.org/10.2337/diabetes.51.2007.S53>
- Ogihara, T., & Mirmira, R. G. (2010). An islet in distress: β cell failure in type 2 diabetes. *Journal of Diabetes Investigation*, 1(4), 123–133. <https://doi.org/10.1111/j.2040-1124.2010.00021.x>

- Ohguchi, K., Ito, M., Yokoyama, K., Iinuma, M., Itoh, T., Nozawa, Y., & Akao, Y. (2009). Effects of Sesquiterpene Lactones on Melanogenesis in Mouse B16 Melanoma Cells. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 32(2), 308–310. <https://doi.org/10.1248/bpb.32.308>
- Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. (2008). Bases Moleculares de las Acciones de la Insulina. *REB. Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), Article 1.
- OMS. (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023*. Organización Mundial de la Salud. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/95008>
- Onzaga, I. L., Rincón, J., & Guerrero, M. F. (2008). Perfil vasodilatador del extracto y la fracción flavonoide acetilada obtenida de *Calea prunifolia* HBK. *Colombia Médica*, 39, 9.
- Pablo-Pérez, S. S., Estévez-Carmona, M. M., & Meléndez-Camargo, M. E. (2016). Diuretic activity of the bark of *Eysenhardtia polystachya*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(1), 212-217. <https://doi.org/10.3329/bjp.v11i1.24659>
- Park, S. Y., Gautier, J.-F., & Chon, S. (2021). Assessment of Insulin Secretion and Insulin Resistance in Human. *Diabetes & Metabolism Journal*, 45(5), 641–654. <https://doi.org/10.4093/dmj.2021.0220>
- Perez, Vargas, Perez, & Zavala. (1998). Antiurolithiatic activity of *Eysenhardtia polystachya* aqueous extract on rats. *Phytotherapy Research*, 12(2), 144-145. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1573\(199803\)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1573(199803)12:2<144::AID-PTR202>3.0.CO;2-H)
- Perez-Gutierrez, R. M., Garcia-Campoy, A. H., & Muñiz-Ramirez, A. (2016). Properties of Flavonoids Isolated from the Bark of *Eysenhardtia polystachya* and Their Effect on Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetes Mellitus in Mice. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9156510>
- Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiological Reviews*, 98(4). <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>

- Ribeiro, V. L. S., Avancini, C., Gonçalves, K., Toigo, E., & von Poser, G. (2008). Acaricidal activity of *Calea serrata* (Asteraceae) on *Boophilus microplus* and *Rhipicephalus sanguineus*. *Veterinary Parasitology*, *151*(2), 351–354. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.11.007>
- Roden, M., & Shulman, G. I. (2019). The integrative biology of type 2 diabetes. *Nature*, *576*(7785), 51–60. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1797-8>
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Experimental & Molecular Medicine*, *48*(3), 219. <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>
- Sałaga, M., Kowalczyk, A., Zielinska, M., Błazewicz, A., & Fichna, J. (2015). *Calea zacatechichi* dichloromethane extract exhibits antidiarrheal and antinociceptive effects in mouse models mimicking irritable bowel syndrome. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, *388*(10), 1069–1077. <https://doi.org/10.1007/s00210-015-1142-1>
- Salinas-Hernández, P., López-Bermúdez, F. J., Rodríguez-Barrientos, D., Ramírez-Silva, M. T., Romero-Romo, M. A., Morales-Anzures, F., & Rojas-Hernández, A. (2008). Development of a capillary electrophoresis method for the characterization of “palo azul” (*Eysenhardtia polystachya*). *Journal of Separation Science*, *31*, 741–745. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700368>
- Saltiel, A. R. (2021). Insulin signaling in health and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, *131*(1). <https://doi.org/10.1172/JCI142241>
- Sanders, F. W. B., & Griffin, J. L. (2016). De novo lipogenesis in the liver in health and disease: More than just a shunting yard for glucose. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, *91*(2), 452–468. <https://doi.org/10.1111/brv.12178>
- Santolero, D., & Titchenell, P. M. (2018). Resolving the Paradox of Hepatic Insulin Resistance. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, *7*(2), 447–456. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2018.10.016>

- Seino, S., Sugawara, K., Yokoi, N., & Takahashi, H. (2017). β -Cell signalling and insulin secretagogues: A path for improved diabetes therapy. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 19(S1), 22–29. <https://doi.org/10.1111/dom.12995>
- Selvam, C., Jordan, B. C., Prakash, S., Mutisya, D., & Thilagavathi, R. (2017). Pterocarpan scaffold: A natural lead molecule with diverse pharmacological properties. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 128, 219–236. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.01.023>
- Solis-Herrera, Triplitt C, Cersosimo E, & et al. (2021). Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. In *Endotext*. MDText.com, Inc. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279115/>
- Tfayli, H., & Arslanian, S. (2009). Pathophysiology of type 2 diabetes mellitus in youth: The evolving chameleon. *Arquivos Brasileiros De Endocrinologia E Metabologia*, 53(2). <https://doi.org/10.1590/s0004-27302009000200008>
- Torres-Rodríguez, M. L., García-Chávez, E., Berhow, M., & de Mejia, E. G. (2016). Anti-inflammatory and anti-oxidant effect of *Calea urticifolia* lyophilized aqueous extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 188, 266–274. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.057>
- Umemura, K., Itoh, T., Hamada, N., Fujita, Y., Akao, Y., Nozawa, Y., Matsuura, N., Iinuma, M., & Ito, M. (2008). Preconditioning by sesquiterpene lactone enhances H₂O₂-induced Nrf2/ARE activation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 368(4), 948–954. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2008.02.018>
- 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 Medica De Mexico*, 153(7), 852-863. <https://doi.org/10.24875/GMM.17002714>
- Villarreal-Ibarra, E. C., López, P. A., García-López, E., Palma-López, D. J., Ortiz-García, C. F., & Oranday-Cárdenas, M. A. (2015). Evaluación etnofarmacológica de plantas con

- propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14, 99–112.
- Ward, M. G., Li, G., Barbosa-Lorenzi, V. C., & Hao, M. (2017). Stigmasterol prevents glucolipotoxicity induced defects in glucose-stimulated insulin secretion. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10209-0>
- Yacini Torres, O. G., Andrade Cetto, A., Universidad, N. A. de M., & Universidad, N. A. de M. (2019). *Estudio del efecto hipoglucemiante agudo de Calea integrifolia (DC.) Hemsl en ratas STZ-na.*
- Yamada, M., Matsuura, N., Suzuki, H., Kurosaka, C., Hasegawa, N., Ubukata, M., Tanaka, T., & Iinuma, M. (2004). Germacranolides from *Calea urticifolia*. *Phytochemistry*, 65(23), 3107–3111. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.040>
- Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., & Sahebkar, A. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. *Journal of Cellular Physiology*, 234(6), 8152 – 8161. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>
- Yeung, A. W. K., Heinrich, M., & Atanasov, A. G. (2018). Ethnopharmacology a Bibliometric Analysis of a Field of Research Meandering Between Medicine and Food Science . *Frontiers in Pharmacology*, 9. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00215>
- Yuan, H., Ma, Q., Ye, L., & Piao, G. (2016). The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules*, 21(5), 559. <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>
- Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88-98. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>