

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE QUÍMICA

EFFECTO ANTIDIABÉTICO COMPARATIVO DE EXTRACTOS
ACUOSOS DE LA SEMILLA DE *Tamarindus indica* Linn CON
INSULINA Y GLIBENCLAMIDA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

SANDRA IVONNE ZAMORA HERNÁNDEZ



MÉXICO, D. F.

2005



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUÍMICA

m343201



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.

JURADO ASIGNADO

- PRESIDENTE:** Profr. Rafael Ri3n Arriola
- VOCAL:** Profra. Elia Brosla Naranjo Rodr3guez.
- SECRETARIO:** Profr. Atonatiu Edmundo G3mez Mart3nez
- 1er. SUPLENTE:** Profra. Ruth Bustamante Garc3a.
- 2do. SUPLENTE:** Profra. Mar3a Elena S3nchez Mendoza.

SITIO DONDE SE DESARROLL3 EL TEMA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA, EDIFICIO "A", LABORATORIO DE NEUROFARMACOLOG3A 1/ E Y DEPARTAMENTO DE QU3MICA ORG3NICA EDIFICIO "B" DIVISI3N DE ESTUDIOS DE POSGRADO UNAM.

ASESOR DEL TEMA


Dra. ELIA BROS LA NARANJO RODR3GUEZ

SUPERVISOR T3CNICO


Dra. MARTHA ALBORES V3LASCO

SUSTENTANTE


SANDRA IVONNE ZAMORA HERN3NDEZ

Autorizo a la Direcci3n General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electr3nico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Sandra Ivonne

Zamora Hern3ndez

FECHA: 14-Abril-2005

FIRMA: 

Según como mires el cielo
será despejado o nublado.
Según como mires el sol
te parecerá que quema o acaricia.
Según como mires la noche
te parecerá negra o estrellada.
Según como mires el camino
te parecerá llano o empinado.
Según como mires a los demás
te sentirás cerca o lejos de ellos.
Según como mires hacia delante
será tu desánimo o entusiasmo.
Según como mires tu hogar
lo verás pequeño o cálido y confortable.
Según como trates a tus afectos
recibirás de ellos todo su cariño.
Según como mires tu vida,
serás feliz.

A mi madre

Gracias por brindarme siempre todo el amor, apoyo y comprensión, pero sobre todo por haberme formado como la persona que soy. Este trabajo es un logro más que hemos alcanzado juntas.

A mi padre

Por darme tu apoyo y cariño, por desvelarte y acompañarme durante este proyecto no importando tu cansancio. Muchas gracias.

A mis hermanos Marisela, Javier y Eduardo

Agradezco su amor, apoyo, todos sus consejos y por estar en cualquier momento a mi lado. Gracias por formar parte de mi vida.

A Miguel Ángel

Por siempre estar ahí cuando te necesito, por cuidarme a pesar de todo y saber que puedo contar contigo, por darme tu cariño y comprensión. Gracias.

A la Doctora Elia

Le agradezco por darme un espacio en su laboratorio, por brindarme su apoyo y todo lo necesario para poder concluir este proyecto. Por su gran paciencia y todos los consejos. Muchas gracias.

A la Universidad Nacional Autónoma de México

Gracias por permitirme ser parte de esta gran casa de estudios, por ser mi segundo hogar durante varios años y darme las herramientas necesarias para desarrollarme profesionalmente.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	I
CAPÍTULO	PÁGINA
1.0 INTRODUCCIÓN	1
2.0 GENERALIDADES	3
2.1 HISTORIA DE LA DIABETES MELLITUS	3
2.2 EPIDEMIOLOGÍA	6
2.2.1 TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA	7
2.3 PÁNCREAS	9
2.3.1 FUNCIONES Y LOCALIZACIÓN	9
2.4 INSULINA	11
2.4.1 BIOSÍNTESIS	11
2.4.2 BIOQUÍMICA	11
2.4.3 SECRECIÓN	12
2.4.4 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA INSULINA	12
2.5 DIABETES	14
2.5.1 DEFINICIÓN	14
2.5.2 CLASIFICACIÓN DE DM	14
2.5.2.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1	14
2.5.2.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2	15
2.5.2.3 DIABETES GESTACIONAL	15
2.5.2.4 ALTERACIÓN DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA	15
2.5.2.5 OTROS TIPOS DE DIABETES	17
2.5.3 ALTERACIONES METABOLICAS EN LA DM	19
2.5.4 SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM.	20
2.5.5 DIAGNÓSTICO DM1 Y DM2	21
2.5.5.1 DIAGNÓSTICO DM GESTACIONAL	21
2.5.6 COMPLICACIONES	22
2.5.6.1 COMPLICACIONES AGUDAS	22
2.5.6.2 COMPLICACIONES CRÓNICAS	23
2.5.7 HISTOPATOLOGÍA EN LA DM	26
2.5.8 TERAPEUTICA DE DM	27
2.5.8.1 HIPOGLUCEMIANTES ORALES	27
2.5.8.1.1 GLIBENCLAMIDA	27
2.5.8.2 INSULINA	30
2.5.8.3 DIETA	30
2.5.8.4 EJERCICIO	32
2.5.9 MEDIDAS DE PREVENCIÓN	34
2.6 LOS MODELOS ANIMALES	34
2.6.1 MODELOS ANIMALES DE DM	35
2.6.1.1 BIOMODELOS ESPONTÁNEOS	35
2.6.1.2 BIOMODELOS INDUCIDOS	36
2.7 ESTREPTOZOTOCINA	37
2.8 TAMARINDO	38

2.8.1 GENERALIDADES	38
2.8.2 DESCRIPCIÓN	39
2.8.3 HÁBITAT	39
2.8.4 CLIMA	40
2.8.5 SUELOS Y TOPOGRAFÍA	40
2.8.6 COSECHA	40
2.8.7 USOS	40
3.0 JUSTIFICACIÓN	42
4.0 HIPÓTESIS	43
5.0 OBJETIVOS	43
6.0 METODOLOGÍA	44
6.1 MATERIAL	44
6.2 MÉTODOS	46
7.0 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO	50
8.0 RESULTADOS	51
CURVA DE CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA	51
EXPERIMENTO 1	52
EXPERIMENTO 2	55
EXPERIMENTO 3	58
EXPERIMENTO 4	63
RESULTADOS DE DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	71
9.0 ANÁLISIS DE RESULTADOS	72
CURVA DE CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA	72
EXPERIMENTO 1	72
EXPERIMENTO 2	74
EXPERIMENTO 3	75
EXPERIMENTO 4	78
RESULTADOS DE DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO	81
10. CONCLUSIONES	83
11. GLOSARIO	84
12. BIBLIOGRAFÍA	86

ABREVIATURAS

Ácido desoxirribonucleico -----	ADN
Asociación Americana de Diabetes-----	ADA
Diabetes Mellitus -----	DM
Diabetes Mellitus Gestacional -----	DMG
Diabetes Mellitus Tipo1 -----	DM1
Diabetes Mellitus Tipo2-----	DM2
Estreptozotocina -----	STZ
Extracto Acuoso -----	EA
Extracto Acuoso No.1 (semilla molida de <i>Tamarindus indica Linn</i>) -----	EA1
Extracto Acuoso No.2 (semilla completa de <i>Tamarindus indica Linn</i>) -----	EA2
Extracto Acuoso No.3 (cáscara de semilla de <i>Tamarindus indica Linn</i>) -----	EA3
Glucemia basal alterada -----	GBA
Organización Mundial de la Salud -----	OMS
Ratón diabético -----	db
Secretaría de Salud -----	SSA
<i>Tamarindus indica Linn</i> -----	TiL
Tolerancia alterada a la glucosa -----	TAG
Vía Intraperitoneal -----	IP
Vía Subcutánea -----	S.C

1.0 INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es un trastorno crónico que afecta al metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas en los individuos. Existen dos tipos de DM, la DM1 y DM2 en ambos casos, su rasgo característico es la hiperglucemia, que refleja una alteración en la utilización de los carbohidratos como resultado de una respuesta deficiente de la secreción de insulina. Sus complicaciones pueden ser agudas como la cetoacidosis diabética y el coma hiperosmolar no cetoacidótico o crónicas (a largo plazo) como nefropatía diabética, retinopatía diabética, pie diabético y neuropatía diabética, las cuales son las principales causas de morbilidad y mortalidad en la diabetes¹.

La DM es una enfermedad que prevalece en todo el mundo, afectando cerca del 25 % de la población. En México su prevalencia se incrementó en forma significativa en las últimas décadas y hoy en día afecta a un 10.9% de la población mayor de 20 años, de la cual un 23% desconoce que la padece².

La DM2 clasificada dentro de las denominadas enfermedades crónico degenerativas, está asociada con el actual modelo económico y social en que vivimos, con serias repercusiones en el estilo de vida, cuyos indicadores se observan en la alimentación, el manejo del estrés y el sedentarismo, por lo que es un asunto de preocupación en la salud pública, debido al impacto físico y emocional a lo largo del proceso de la enfermedad que deteriora la calidad de vida de las personas que la padecen³.

La medicina moderna aún no tiene una terapia efectiva para curar la DM. Sin embargo, se sigue un tratamiento con el cual se puede mantener controlada la enfermedad. El tratamiento inicia con la educación, un plan de nutrición, ejercicio y en algunas personas se requiere el uso de medicamentos (hipoglucemiantes orales o inyectables), los cuales tienen el inconveniente de producir efectos adversos².

Este tratamiento revela un alto costo económico para los servicios de salud pública, sobre todo ocasionados por las complicaciones que implican la pérdida de la salud².

Por este motivo se ha pensado en un tratamiento alternativo de bajo costo y menos agresivo, para los pacientes que padecen esta enfermedad en nuestro país. En las prácticas de medicina tradicional existen diferentes productos naturales, que son usados como remedios para el tratamiento de la DM⁴.

En este trabajo se propone el uso de extractos acuosos (EA) de la semilla de *Tamarindus indica* Linn (*TiL*) como un tratamiento alternativo para la DM.

El objetivo general será evaluar y comparar la actividad “antidiabética” de un extracto acuoso de la semilla de *Tamarindus indica* Linn, con Insulina y Glibenclamida en ratones diabéticos. Así como obtener una visión del posible mecanismo de acción de dicho extracto y estudiar e identificar algunos de los síntomas más comunes de la DM.

2.0 GENERALIDADES

2.1 HISTORIA DE LA DIABETES MELLITUS

La DM era ya conocida antes de la era cristiana (1500 años A.C). En el manuscrito descubierto por Georg Ebers en una tumba de Tebas, en Egipto donde se describen síntomas que parecen corresponder a la diabetes (Figura 1). En el año 600 A.C, el padre de la medicina hindú Súsruta describió que “los enfermos padecen de sed, adelgazan rápidamente, pierden fuerzas y emiten orina que atrae a las hormigas” e incluso llegó a diferenciar una diabetes que se daba en los jóvenes y otra que se daba en personas de cierta edad y obesas, que corresponden a la DM1 y DM2 de nuestros días.

Fue Areteo de Capadocia (81-138 DC), quien le dio a esta afección el nombre de diabetes, que significa en griego sifón, refiriéndose al signo más llamativo que es la eliminación exagerada de agua por el riñón. En el siglo II Galeno refirió que la diabetes era producida por la incapacidad del riñón de retener agua, idea en cierto modo errónea, que persistió durante 15 siglos⁵.

En el siglo XI Avicena, exponente de la medicina árabe y autor del Canon de la Medicina, describe la diabetes, el coma hipoglucémico y recomienda un tratamiento con semillas de alholva y cedro (ambas con propiedades hipoglucemiantes)⁶.

A partir del siglo XVI comienzan a suceder descubrimientos médicos, principalmente en Europa. Paracelso (1491-1541) atribuyó la diabetes a una deposición de sal sobre los riñones causando poliuria y sed en estos enfermos. Sin embargo, la primera referencia de la diabetes en la literatura occidental se debe a Thomas Willis (1621-1675) que hizo una descripción de la diabetes, quedando desde entonces reconocida por su sintomatología como entidad clínica. Fue él quien, refiriéndose al sabor dulce de la orina, le dio el nombre de Diabetes Mellitus (sabor a miel), diferenciándola de la diabetes insípida⁵.

En 1775, Mathew Dopson identificó la presencia de glucosa en la orina y sangre de pacientes diabéticos, concluyó que “la pérdida de peso y fuerza en los diabéticos es la

consecuencia de la pérdida de material nutritivo por la orina". En 1788 Cawley afirmó por sus observaciones que la DM tenía su origen en el páncreas.

Los primeros trabajos experimentales relacionados con el metabolismo de los glúcidos fueron realizados por Claude Bernard quien descubrió, en 1848, que la glucosa puede ser formada por el hígado, almacenada en forma de glucógeno y secretada a la circulación, este fenómeno (gluconeogénesis), se produce incluso cuando la dieta esta exenta de carbohidratos.

En la segunda mitad del siglo XIX el clínico francés Bouchardat señaló la importancia de la obesidad y de la vida sedentaria en el origen de la diabetes y marcó las normas para el tratamiento dietético. Las funciones del páncreas como glándula, capaz de reducir los niveles de glucosa en sangre comenzaron a aclararse en la segunda mitad del siglo XIX.

En 1889, Oskar Minkowski y Josef Von Mering, tratando de averiguar si el páncreas era necesario para la vida, pancreatizaron un perro, después de la operación observaron que el perro mostraba todos los síntomas de una diabetes severa, con poliuria, sed insaciable, hiperfagia, hiperglucemia y glucosuria. De esta manera quedó demostrado que el páncreas era necesario para regular los niveles de glucosa.

En 1869, un joven médico, Paul Langerhans descubrió unos racimos de células pancreáticas bien diferenciadas de las demás y que podían ser separadas de los tejidos de los alrededores (islotos pancreáticos). En 1874, Adolfo Kussmaul describe la respiración profunda, acidótica en el coma diabético.

En 1893, Edouard Laguesse, sugirió que los racimos de células descubiertos por Langerhans (islotos de Langerhans) constituían la parte exocrina del páncreas. Sus ideas fueron continuadas por Jean de Meyer quien denominó "insulina" a la sustancia procedente de los islotos (en latín islote se denomina "insula") que debía poseer una actividad hipoglucemiante pero que todavía era hipotética ^{5,6}.

Georg Zuelger obtuvo una serie de extractos pancreáticos que eran capaces de reducir los síntomas de diabetes en un perro previamente pancreatectomizado. Sin embargo, los graves efectos tóxicos que producía hicieron que renunciase a seguir sus experimentos⁵.

En 1921, los canadienses Frederick Banting y Charles Best (Figura 2), consiguieron aislar la insulina y demostrar su efecto hipoglucemiante. Este descubrimiento abrió amplios horizontes en el campo experimental y biológico para el estudio de la diabetes y del metabolismo de los carbohidratos.

En 1935, Hans Christian Hagedorn descubre la insulina de acción prolongada, acontecimiento que sirvió como referencia para sintetizar otros agentes químicos para reducir la glucosa en sangre. En 1942, Janbon y Loubatieres, descubren el poder hipoglucemiante de sulfamidas administradas por la vía oral. La dilucidación de la estructura de la insulina, fue realizada en 1954 por Frederick Sanger al descubrir la estructura química de la insulina de buey, unos años mas tarde en 1960, Niell y Smith descubren la estructura química de la insulina humana. En 1972 se descubrieron anticuerpos contra los islotes de Langerhans, en 1982 se aprobó el uso de la insulina humana y en 1984 se obtiene la segunda generación de sulfonilureas gracias a los trabajos de Moxner⁶.

Es evidente que durante las últimas décadas se han realizado extraordinarios avances en el conocimiento de la epidemiología, fisiopatología, complicaciones, prevención y tratamiento de la DM, su etiología ha sido desentrañada a la luz del conocimiento de los procesos autoinmunitarios, el papel de la herencia, la insulinoresistencia y la predicción ya es factible; nuevos métodos diagnósticos y terapéuticos se han desarrollado plenamente, mientras que otros se vislumbran a corto plazo.



Figura.1 Papiro de Ebers (1500 años AC): Documento de 30 x 20 cm., encontrado en 1862, en el que consta la primera referencia histórica sobre la Diabetes ⁶.

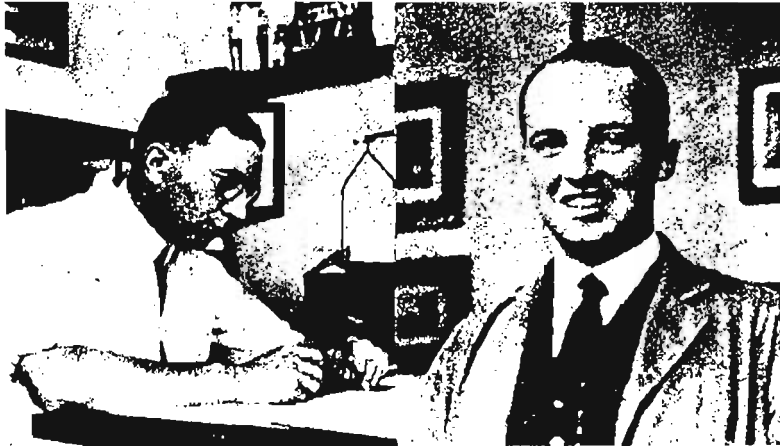


Figura 2. Frederick Banting y Charles Best en la época del descubrimiento de la insulina⁵

2.2 EPIDEMIOLOGIA

La DM es un problema de salud pública a nivel mundial que se presenta en mayor proporción en los países en vías de desarrollo. En 1985 se estimó que existían 30 millones de personas con diabetes, para 1995 la cifra ascendió a 135 millones y para el año 2025 se calcula serán 300 millones aproximadamente².

En México se ha observado un aumento continuo del padecimiento desde hace más de 30 años. Según información de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC 1993), se estimó una prevalencia de diabetes de 8.2% en la población mexicana de 20 a 69 años y para el año 2000, la Encuesta Nacional de Salud (ENSA 2000) estimó un 10.9%, es decir alrededor de 5.1 millones de personas con la enfermedad, con predominio en las mujeres (53%) con respecto a los hombres (47%). Por entidad federativa el porcentaje mayor se observó en Tamaulipas con 13.8 y el menor en San Luis Potosí con 8.2%².

En 1995, México ocupó el décimo lugar mundial con casi 4 millones de enfermos y se estima que en el año 2025 ocupará el séptimo lugar mundial con 12 millones de enfermos. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), actualmente, 65% de la población mexicana con diabetes padece de hipertensión arterial y 60% tiene daño moderado a severo en el sistema nervioso. Además, tienen 2.4 veces mayor riesgo de sufrir un evento vascular cerebral, una insuficiencia renal, ceguera, amputación de extremidades y ataques cardíacos.⁷

2.2.1 TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA

Durante la primera mitad del siglo XX, el panorama epidemiológico del país estuvo dominado por los procesos transmisibles, asociados principalmente a las condiciones de vida desventajosas. En 1940, cuatro de las cinco principales causas de muerte eran de etiología infecciosa; las diarreas y enteritis, así como la neumonía e influenza ocupaban los primeros lugares. En contraste, desde los años cincuenta las enfermedades del corazón aparecen dentro de las cinco principales causas de muerte, los tumores malignos y la DM, que hizo su aparición dentro del cuadro de las principales causas de muerte del país a mediados de la década de los ochenta, y actualmente se encuentra en el tercer lugar ² (Figura 3).

Transición epidemiológica de las principales causas de muerte en México

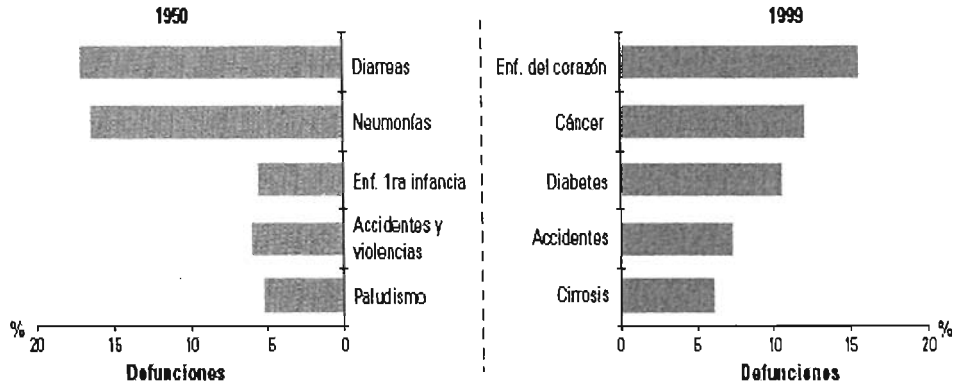


Figura 3. Las enfermedades infecciosas, han sido desplazadas de las principales causas de muerte por las enfermedades crónicas².

Estos datos revelan que la DM es un importante problema de salud pública en México. En el que existe un impacto físico y emocional a lo largo del proceso de la enfermedad que deteriora la calidad de vida de las personas que la padecen. Esta se asocia al modelo económico y social en que nos desarrollamos, con serias repercusiones en el estilo de vida que lleva el mexicano, cuyos indicadores se observan en la alimentación, el manejo del estrés y el sedentarismo.³

De acuerdo con informes de Asociación Americana de Diabetes (ADA), el costo indirecto de la diabetes en México en 1991 ascendió a 330 millones de dólares y el costo directo fue de 100 millones de dólares. Los costos económicos asociados al tratamiento y sus complicaciones representan una grave carga para los servicios de salud y para los pacientes. A fin de enfrentarse a tan grave problema, la Subsecretaría de Prevención y Protección de la Salud realizó a través del Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica, un consenso para la actualización de la Norma Oficial Mexicana para la Prevención, Tratamiento y Control de la Diabetes (SSA-015-2000), en la que se definen las acciones preventivas a realizar por los sectores público, social y privado, así como los procedimientos para su detección, diagnóstico, tratamiento y control.²

2.3 PÁNCREAS

2.3.1 FUNCIONES Y LOCALIZACIÓN

El Páncreas es una glándula exócrina y endocrina que se extiende en la parte superior del abdomen, a un lado del intestino delgado, detrás del estómago (Figura 4). El tejido exógeno comprende aproximadamente un 85% del páncreas y esta comprendido por células secretoras denominadas ácidos, que sintetizan cerca de 20 enzimas digestivas distintas (jugo pancreático), estas son secretadas en el intestino debido a estímulos nerviosos y hormonales. Las enzimas digestivas como la tripsina ayudan a digerir las proteínas transformándolas en aminoácidos simples, la amilasa degrada carbohidratos y la lipasa desdobla las grasas en glicerol y ácidos grasos ⁸. El páncreas endocrino está compuesto por cerca de un millón de unidades celulares microscópicas (Islotes de Langerhans) y otras células dispersas en el interior de los conductos pancreáticos¹ (Figura 5). El volumen de los islotes comprende el 1.5% de la masa total del páncreas. En los islotes se han identificado al menos cuatro tipos celulares.

Estos tipos son células β (*beta*) las cuales producen insulina, células α (*alfa*) secretan glucagón que produce hiperglucemia por su actividad glucogenolítica en el hígado, células δ (*delta*) contienen somatostatina, que inhibe la liberación de insulina y glucagón; por último las células PP (*polipéptido pancreático*) que ejercen efectos digestivos como estimulación de la secreción gástrica y de enzimas intestinales e inhibición de la motilidad intestinal ¹.

Hay dos tipos celulares más raros, las células D₁ que elaboran el péptido intestinal vasoactivo, una hormona que estimula la glucogenólisis e hiperglucemia así como la secreción digestiva y produce diarrea secretora y las células enterocromafines que sintetizan serotonina y son el origen de los tumores pancreáticos que producen síndrome carcinoide¹. Los islotes están muy vascularizados y reciben de 5 a 10 veces más flujo sanguíneo que el páncreas exócrino, se postula que la dirección del flujo sanguíneo dentro del islote tiene una acción de acarreo de la insulina secretada desde la región central del islote hacia la periferia ⁹.

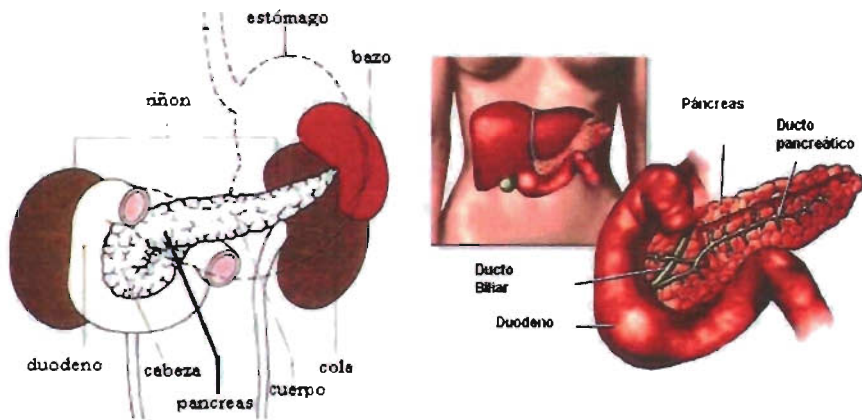


Figura 4. Diagrama que muestra las relaciones anatómicas del páncreas y su localización¹⁰.

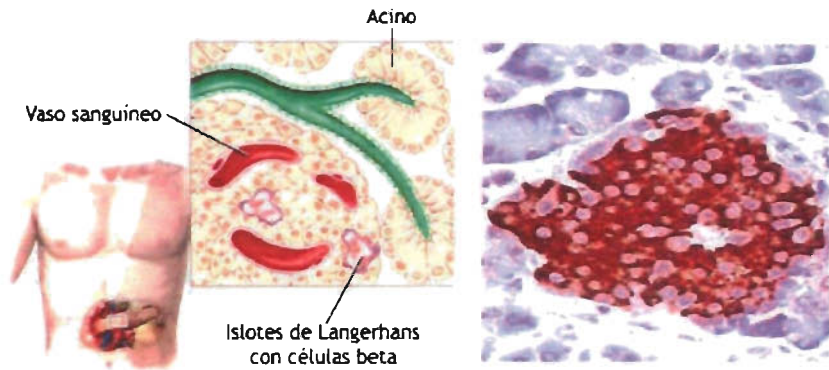


Figura 5. Diagrama en el que se muestra el tejido exógeno del páncreas (Acinos) y el tejido endocrino (Islotes de Langerhans), así como algunos vasos sanguíneos¹⁰.

2.4 INSULINA

2.4.1 BIÓSINTESIS

El gen de la insulina humana se localiza en el brazo corto del cromosoma 11 y se expresa en las células β de los islotes pancreáticos. La producción de insulina comienza en el retículo endoplásmico rugoso de las células β con la generación de la preproinsulina la cual sufre una ruptura proteolítica para dar lugar a la proinsulina que es una molécula formada por una cadena de 86 aminoácidos, esta es transportada al aparato de Golgi en donde se lleva a cabo una segunda ruptura generando insulina y péptido C, residuo de 31 aminoácidos que no tiene actividad biológica conocida, los cuales son almacenados en gránulos secretores. Estos gránulos contienen insulina y péptido C en cantidades equimolares y solo pequeñas cantidades de proinsulina que tiene un 8% de la actividad biológica de la insulina ^{1,9} (Figura 7).

2.4.2 BIOQUÍMICA

La insulina es una proteína constituida por 51 aminoácidos contenidos dentro de dos cadenas peptídicas: una cadena α con 21 aminoácidos y una β con 30 aminoácidos. Ambas cadenas están unidas por puentes disulfuro ⁹ (Figura 6).

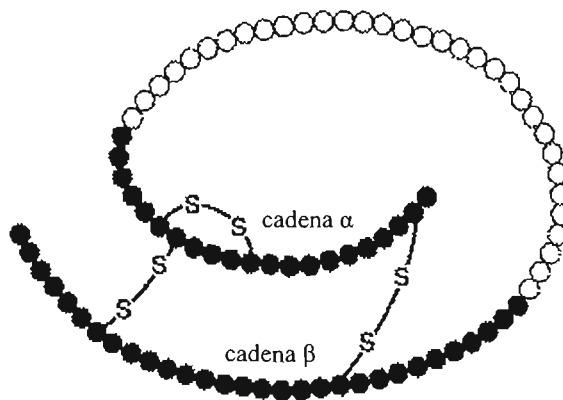


Figura 6. Molécula de insulina, compuesta de cadenas tipo α y β ⁹.

2.4.3 SECRECIÓN

La insulina se almacena en las células β en gránulos secretorios, que se preparan para liberarla en la circulación sanguínea, en respuesta al estímulo de una concentración creciente de glucosa en sangre. Un páncreas funcionando normalmente puede fabricar y liberar diariamente de 40 a 50 unidades de insulina⁹. El estímulo más importante para la liberación de la insulina, es la glucosa que también inicia la síntesis. Otros productos, como las hormonas intestinales, algunos aminoácidos (leucina y arginina) y las sulfonilureas estimulan la liberación pero no su síntesis. En la secreción de la insulina interviene el flujo de calcio hacia el interior de las células, agentes alfa -adrenérgicos y el AMP cíclico¹ (Figura 7).

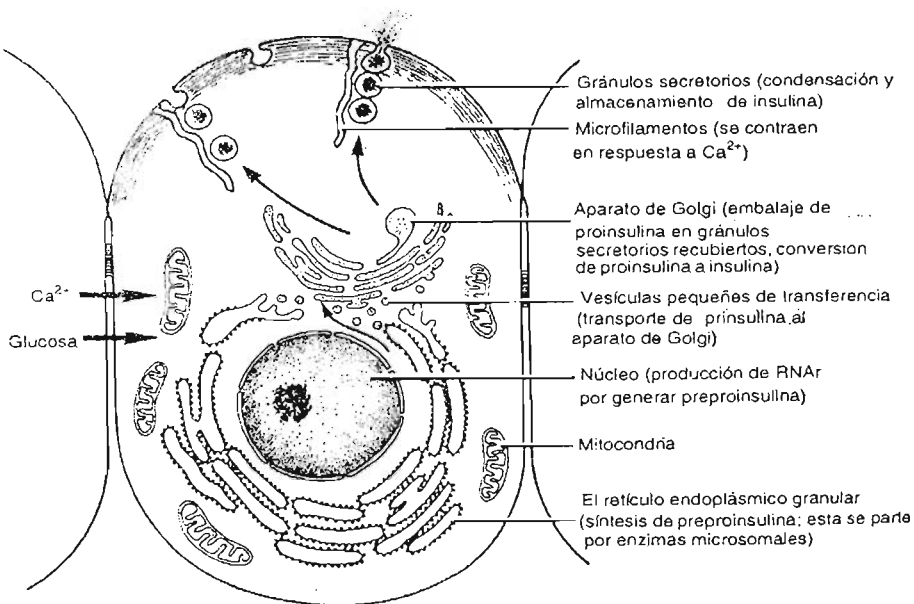


Figura 7. Componentes estructurales de la célula β pancreática comprometidos en la biosíntesis y liberación inducida por glucosa¹.

2.4.4 MECANISMO DE ACCIÓN DE LA INSULINA

La insulina es la principal hormona que regula los niveles de glucosa en sangre. Su función es controlar la velocidad a la que la glucosa se consume en las células del músculo, tejido graso e hígado, es fundamentalmente una hormona anabólica, la cual es necesaria para el

transporte de la glucosa a través de las membranas hacia el interior del organismo, la formación de glucógeno en hígado y músculo esquelético, la formación de la glucosa en triglicéridos, la síntesis de ácidos nucleicos y la síntesis proteica¹. La insulina actúa sobre receptores específicos que se sitúan en la superficie de prácticamente todos los tejidos de los mamíferos. El número y funcionamiento de estos es importante para regular la acción de la insulina. El receptor insulínico es una glicoproteína transmembranal formada por 4 subunidades: dos subunidades proteicas α y dos subunidades β . Las subunidades α están unidas por un puente disulfuro y cada una de estas se unen a una subunidad β por otro puente disulfuro formando un heterotetrámero¹¹.

La insulina se une a la subunidad α del receptor y al hacerlo ocasiona un cambio conformacional de la subunidad β , cambio que estimula la actividad cinasa del receptor que induce la autofosforilación en 6 residuos de tirosina, lo cual promueve la fosforilación de la proteína IRS-1 (insulin receptor substrate 1), entonces se induce la unión covalente de IRS-1 con otras proteínas específicas como la fosfatidilinositol 3-cinasa (PI3-cinasa). La PI3-Cinasa activa una proteína de membrana, la proteína transportadora de la glucosa (GLUT4) que toma la glucosa del medio extracelular y la transporta al interior de la célula¹² (Figura 8).

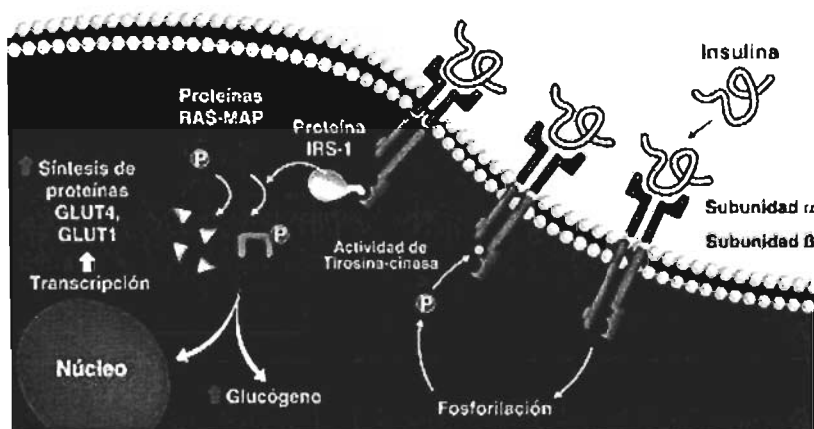


Figura 8. La unión de la insulina al receptor, desencadena una serie de reacciones intracelulares de fosforilación y defosforilación¹².

2.5 DIABETES

2.5.1 DEFINICIÓN

La DM es un grupo de enfermedades caracterizada por hiperglucemia, resultante de un defecto en la secreción de insulina, acción de la insulina, o ambas alteraciones¹³. La carencia absoluta o relativa de la insulina, afecta al metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas¹.

2.5.2 CLASIFICACIÓN DE DM

Los criterios de clasificación y diagnóstico de la DM fueron elaborados por la National Diabetes Data Group (NDDG), recomendados por la OMS y revisados por el Comité de Expertos para el Diagnóstico y Clasificación de la DM de ADA con el objetivo de obtener una clasificación, dejando de lado el criterio terapéutico y teniendo en cuenta la etiología de la enfermedad. En esta clasificación se eliminan las denominaciones Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (DMID) y Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID), que se sustituyen por las denominaciones DM1 para la forma resultante de la destrucción de las células β del páncreas y DM2 que constituye la más frecuente y resulta de la resistencia de insulina, acompañada de una deficiencia relativa en su producción pancreática¹³(Tabla 1).

2.5.2.1 DIABETES MELLITUS TIPO 1

A. Diabetes mediada por procesos autoinmunes

DM1 (anteriormente llamada diabetes juvenil o DMID, representa del 5% al 10% de todos los diagnósticos de diabetes. Es provocada por una serie de factores genéticos, ambientales y autoinmunes que conducen a la eliminación selectiva (destrucción inmunológica) de las células β , por tal motivo la secreción de insulina termina siendo mínima o inexistente. La DM1 se presenta en general durante la infancia y la adolescencia, la cetoacidosis puede ser la primera manifestación de la enfermedad; sin embargo, su aparición puede ocurrir a cualquier edad. La predisposición genética es múltiple y además se relaciona con factores ambientales; aunque es rara la presencia de obesidad no es incompatible con el diagnóstico. A los pacientes con este tipo

de diabetes se debe administrar insulina, de no hacerlo, pueden ser propensos a presentar coma diabético, por esta razón el tratamiento es con insulina^{14, 15}.

B. Diabetes idiopática

Se refiere a las formas de etiología desconocida y es la de menor frecuencia. Estos individuos pueden tener cetoacidosis y presentar diversos grados de deficiencia insulínica. La necesidad absoluta de insulina puede aparecer y desaparecer. Tiene una importante carga hereditaria y carece de evidencias inmunológicas para autoinmunidad celular^{13, 16}.

2.5.2.2 DIABETES MELLITUS TIPO 2

DM2 (anteriormente llamada diabetes del adulto o DMNID). Es la forma más frecuente, representa el 90-95% de los pacientes, se presenta como resultado de la resistencia a la acción de la insulina con una secreción defectuosa e insuficiente de la misma por el páncreas. Esta resistencia puede deberse a diferentes causas: alteraciones en la estructura terciaria o cuaternaria de la molécula de insulina, unión de anticuerpos neutralizantes contra insulina, síntesis aumentada de hormonas contrarreguladoras (glucagón, glucocorticoides y catecolaminas), defectos del receptor, etc. Los pacientes con DM2 permanecen sin diagnóstico entre 5 a 10 años debido a que la enfermedad es asintomática por tiempo prolongado. Las primeras manifestaciones aparecen a partir de los 40 años de edad y los trastornos metabólicos se traducen en aumento de peso, modificación del perfil lipídico, incremento de la presión arterial y daño vascular, por lo que estos pacientes tienen alto riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares. El riesgo de presentar la enfermedad aumenta con la edad, obesidad, falta de ejercicio físico, antecedentes familiares, antecedentes de diabetes gestacional, hipertensión arterial y dislipidemia^{13, 14, 17}.

2.5.2.3 DIABETES MELLITUS GESTACIONAL

La Diabetes Mellitus Gestacional (DMG), ocurre en el 2-5% de todos los embarazos. Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa que se presenta durante el embarazo.

Los factores de riesgo para desarrollarla son: obesidad materna, edad mayor de 30 años, antecedentes familiares de diabetes, grupos étnicos de alto riesgo, antecedentes de macrosomía fetal y mortalidad perinatal previa. Para la detección y diagnóstico es fundamental hacer la evaluación del metabolismo de carbohidratos en todas las embarazadas entre la 24 y 28 semanas de gestación. A las 6 semanas después del parto, la paciente debe ser nuevamente evaluada, ya que en la mayoría de los casos las pacientes con DMG retoman a valores normales de glucosa en sangre, pero en otras ocasiones pueden persistir con diabetes o intolerancia a la glucosa^{14, 16}.

**Tabla 1. CLASIFICACIÓN ETIOLÓGICA DE LA
DIABETES MELLITUS¹³**

I. Diabetes Mellitus tipo 1

- A. Diabetes mediada por procesos autoinmunes
- B. Diabetes idiopática

II. Diabetes Mellitus tipo 2

III. Diabetes Gestacional

IV. Otros tipos específicos de diabetes

- A. Defectos genéticos de la función de las células β .
 - B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
 - C. Enfermedades del páncreas exócrino
 - D. Endocrinopatías
 - E. Inducida por químicos o fármacos
 - F. Infecciones
 - G. Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes
 - H. Otros síndromes genéticos asociados ocasionalmente con diabetes
-

2.5.2.4 ALTERACIÓN DEL METABOLISMO DE LA GLUCOSA

Existen estados metabólicos intermedios entre la homeostasis glucémica normal y la diabetes. Niveles de glucosa en sangre muy altos para ser considerados normales, pero que no cumplen con los criterios para el diagnóstico de diabetes. Estos son la tolerancia a la glucosa

alterada y la glucemia basal alterada, no son entidades clínicas por sí mismas, pero se consideran factores de riesgo de DM y de enfermedad cardiovascular^{13, 16}.

GLUCEMIA BASAL ALTERADA (GBA)

Se refiere a una elevación de la glucosa plasmática en ayunas entre 110 -126 mg/dL.

Dentro de la GBA se pueden establecer las siguientes categorías:

- A. Glucosa basal normal: menor a 110 mg/dL
- B. Glucosa basal alterada: entre 110 -126 mg/dL
- C. Diagnóstico provisional de diabetes: superior a 126 mg/dL.

TOLERANCIA ALTERADA A LA GLUCOSA (TAG)

Muchos pacientes con este deterioro tienen valores normales de glucosa (70-110 mg/dL) en su vida diaria, pero presentan una elevación de la glucosa entre 140-200 mg/dL, 2 horas después de haber recibido una sobrecarga oral de glucosa de 75 g. Las categorías de TAG son:

- A. Tolerancia normal a la glucosa: menor a 140 mg/dL.
- B. Tolerancia anormal a la glucosa: entre 140-200 mg/dL.
- C. Diagnóstico provisional de diabetes: superior a 200 mg/dL.

2.5.2.5 OTROS TIPOS DE DIABETES

Otros tipos específicos de diabetes son el resultado de padecimientos genéticos específicos como: diabetes juvenil de aparición adulta, cirugía, fármacos, defectos genéticos, infecciones y otras enfermedades. Esos tipos de diabetes pueden representar del 1% al 5% de todos los casos de diabetes que se diagnostican^{13, 18} (Tabla 2).

Tabla 2. OTROS TIPOS DE DIABETES ¹³

Defectos genéticos de la función de la célula β :	Cromosoma 12, HNF-1 α (antes MODY 3) Cromosoma 7, glucocinasa (antes MODY 2) Cromosoma 20, HNF-4 α (antes MODY 1) Otras
Defectos genéticos en la acción de la insulina	Resistencia insulínica tipo A Diabetes lipoatrófica Otras
Enfermedades del páncreas exócrino:	Pancreatitis Traumatismo/pancreatectomía Neoplasia Fibrosis quística Hemocromatosis Otras
Endocrinopatías :	Acromegalia. Síndrome de Cushing Hipertiroidismo Somatostinoma Aldosteronoma Otras
Inducida por químicos o fármacos:	Vacor Pentamidina Ácido nicotínico Glucocorticoides Hormonas tiroideas Agonistas β -adrenérgicos Tiazidas Otras
Infecciones	Rubéola congénita Citomegalovirus Otras
Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes	Síndrome de "stiff-man" Anticuerpos anti-receptor de insulina Otras
Otros síndromes genéticos asociados con diabetes	Síndrome de Down Síndrome de Klinefelter Síndrome de Turner Corea de Huntington Síndrome de Prader Willi Otros

2.5.3 ALTERACIONES METABOLICAS EN LA DIABETES MELLITUS

En estado normal la insulina induce el decremento en la concentración de glucosa a través del estímulo de su captación por las células. Por medio de esto se promueve la glucogenogénesis (en hígado y músculo), lipogénesis (en tejido adiposo) y glucólisis. Mientras que las hormonas antagonistas, glucagon y adrenalina, determinan la glucógenolisis y lipólisis; los corticoides inducen gluconeogénesis; la somatostatina inhibe la captación celular de glucosa y la glucólisis¹¹.

Cuando existe deficiencia de insulina (diabetes), la glucosa no puede penetrar a las células y las hormonas antagonistas no son contrabalanceadas, provocando la primera señal de la enfermedad, la hiperglucemia, cuando el incremento de glucosa sanguínea excede la capacidad de reabsorción renal, se genera glucosuria. La glucosuria excesiva produce diuresis osmótica con poliuria¹⁹. Lo que lleva a una deshidratación extracelular e intracelular debido a la hiperosmolaridad plasmática, haciendo que intervengan los osmorreceptores de los centros de la sed del encéfalo y así aparece la polidipsia¹. El déficit de insulina hace que el anabolismo estimulado por ésta se transforme en el catabolismo de grasas y proteínas, por lo tanto se produce proteólisis y lipólisis que conducen a la polifagia. A pesar del incremento de apetito, prevalecen los efectos catabólicos, por lo tanto el paciente pierde peso y presenta debilidad muscular²⁰. Debido a la lipólisis se generan los cuerpos cetónicos (ácido acetoacético, β -hidroxibutírico y acetona), que pueden ser utilizados como fuentes de energía. Al exceso de cuerpos cetónicos, se le denomina cetosis, la cetonemia y cetonuria son signos de ella^{1,19}. La cetosis provoca acidosis, para compensarla el organismo reduce la concentración de bicarbonato del sistema amortiguador bicarbonato-ácido carbónico produciendo dióxido de carbono y agua. Sin embargo, el agotamiento del bicarbonato provoca acidosis metabólica, entonces, el centro respiratorio se estimula para producir respiraciones profundas y rápidas, para aumentar la excreción de dióxido de carbono por los pulmones. La deshidratación celular y la acidosis en el sistema nervioso (SN), alteran el funcionamiento neuronal hasta provocar el coma.²¹

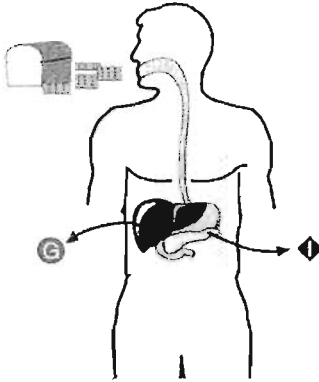


Figura 9. La ingesta de alimento produce un incremento en la concentración de glucosa. En las personas sanas se incrementa la glucólisis y glucogenogénesis. La insulina llega hasta cada célula y se une a sus receptores, con el fin de permitir la entrada de la glucosa. En el caso de las personas con diabetes, la glucosa no puede ser utilizada por las células, lo cual ocasiona hiperglucemia²².

2.5.4 SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM.

SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM1

La DM1, se manifiesta alrededor de los 20 años y se caracteriza por poliuria, polidipsia, polifagia (Figura 10), pérdida de peso⁹, visión borrosa debido a la exposición del cristalino y la retina a líquidos hiperosmolares, vértigo, debilidad, náusea, vómitos y con el avance de la acidosis se presentan dificultades respiratorias (taquipnea con un rápido índice ventilatorio)²⁰. Cuando el agravamiento de la cetoacidosis progresa y los mecanismos compensadores de la deshidratación se hacen inadecuados, se presenta estupor e incluso coma, este tipo de enfermos presentan en el aliento un olor dulce característico de la acetona²².

SIGNOS Y SÍNTOMAS DE DM2

La DM2 se manifiesta arriba de los 40 años y a menudo en personas obesas, sus síntomas clásicos son hiperglucemia, poliuria, polidipsia, polifagia⁹, debilidad, pérdida de peso inexplicado, visión borrosa, dolor en manos y pies sensaciones de hormigueo en las extremidades, cicatrización lenta y son frecuentes las infecciones cutáneas crónicas. Sin embargo, en muchas ocasiones al inicio de la enfermedad, suele ser asintomática^{20, 22}.

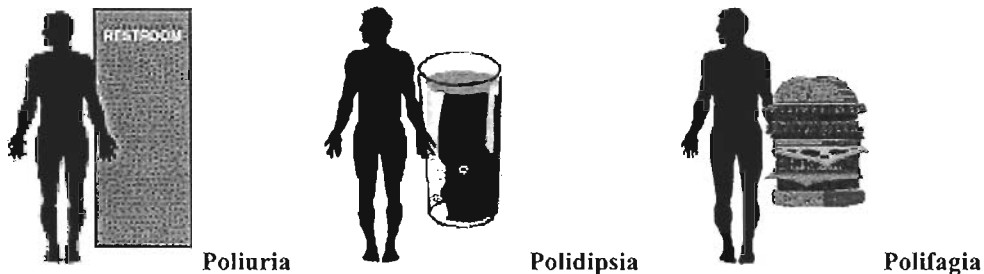


Figura 10. La triada clásica de los síntomas diabéticos son poliuria, polidipsia y polifagia¹.

2.5.5 DIAGNÓSTICO DM1 Y DM2

El diagnóstico de la DM se basa en antecedentes, síntomas clínicos y comprobación de hiperglucemia significativa. Las siguientes pruebas de laboratorio son importantes para el diagnóstico y tratamiento de ambos tipos de diabetes²².

- A. Determinación ocasional de glucosa en sangre mayor a 200 mg/dL.
- B. Glucosa en sangre en ayunas igual o mayor a 126 mg/dL.
- C. Glucosa en sangre a las 2 h es igual o mayor a 200 mg/dL durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral. La prueba se realiza como lo describe la OMS con una carga que contenga el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disuelta en agua.
- D. Glucosa anormal en ayuno. La glucosa plasmática o en suero esta entre 110-126 mg/dL.
- E. Intolerancia a la glucosa. Glucosa plasmática a las 2 h de poscarga, esta entre 140-200 mg/dL.

2.5.5.1 DIAGNÓSTICO DMG

Se establece el diagnóstico de DMG, si durante las semanas 24 a 28 del embarazo se presentan dos o más de los siguientes valores: En ayuno valores superiores a 105 mg/dL y después de una carga de glucosa en ayuno de 100 g, valores superiores a 190 mg/dL a la hora poscarga, 165 mg/dL a las dos horas poscarga y 145 mg/dL a las tres horas poscarga^{13, 23}.

2.5.6 COMPLICACIONES

En ambas formas de DM se desarrollan complicaciones graves en un lapso de 10 a 15 años. Se dividen en agudas (cetoacidosis diabética y estado hiperosmolar no cetósico e hipoglucemia) y crónicas (retinopatía, nefropatía, neuropatía, aterosclerosis y problemas gastrointestinales). Una de las características más prominentes de la enfermedad es el compromiso de múltiples órganos y sistemas, debido a los efectos deletéreos de la hiperglucemia. Ciertos órganos son particularmente sensibles, como es el caso de los riñones, la retina y el sistema nervioso periférico (SNP). Aunque, la expectativa de vida ha aumentado para los pacientes diabéticos, el infarto de miocardio y los trastornos vasculares dan como resultado mortalidad prematura. En general, el riesgo de muerte por afecciones de la arteria coronaria se duplica en presencia de diabetes. La reducción del flujo sanguíneo de las extremidades inferiores debida a la aterosclerosis aumenta de cuatro hasta siete veces más en pacientes diabéticos; esta es la principal causa de amputaciones, junto con la susceptibilidad a las infecciones que provocan gangrena^{21,22}.

2.5.6.1 COMPLICACIONES AGUDAS

Las complicaciones agudas se subdividen en dos grupos:

- 1) Propias de la enfermedad. Son de naturaleza metabólica, potencialmente reversibles. Comprenden la cetoacidosis diabética y el síndrome hiperosmolar no cetósico.
- 2) No exclusivas de la enfermedad, pero que se asocian frecuentemente por si mismas o por consecuencia del tratamiento. Comprenden el síndrome de hipoglucemia y la acidosis láctica¹⁹ (Tabla 3).

Tabla 3. COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DM

I. Propias de DM

- A. Cetoacidosis diabética Afecta a pacientes con DM1 mal controlada, su característica más común es el aliento con olor a frutas característico de la acetona, cuerpo cetónico originado por la acidosis. Su tratamiento es la inyección de insulina y de solución salina para reemplazar los fluidos corporales perdidos. Se monitorean los niveles de glucosa, cuerpos cetónicos y líquidos. Con tratamiento, el restablecimiento es rápido y completo^{19,25}.
- B. Síndrome Hiperosmolar no Cetósico Es más conocido como coma diabético afecta a pacientes con DM2, existe una secreción residual de insulina, que impide que exista cetoacidosis, pero existe hiperglucemia y sus secuelas, no existe sintomatología acidótica. El tratamiento inmediato es la administración de grandes cantidades de líquidos para reestablecerlos a valores normales¹⁹.

II. no exclusivas de DM

- C. Hipoglucemia Este trastorno puede ser producido por un exceso del consumo de glucosa por insulina o estimulantes de su secreción como las sulfonilureas, ejercicio excesivo, ayuno prolongado, etc. Los órganos más sensibles al déficit de glucosa son los del sistema nervioso central (SNC), provocando disminución de la función cognitiva, inquietud, alteraciones de la conducta, confusión mental y coma, así como palpitaciones, sudoración fría, taquicardia e hipertensión arterial. No hay acidosis ni cetosis. El tratamiento inmediato es la administración de glucosa^{19,20}.
- D. Acidosis Láctica Se debe a la exagerada producción y deficiente catabolización o excreción del ácido láctico, que es un producto de la glucólisis. La cetosis, el estado hiperosmolar, la micro y la macro angiopatía favorecen la producción y acumulación del ácido láctico en las células. La acidosis trata de compensarse con el aumento de la ventilación pulmonar, existe depresión del SNC, con trastornos que llevan a la confusión, sopor y por último, al coma. Además se determina insuficiencia cardíaca e hipotensión arterial. Su tratamiento requiere el uso de alcalinizantes como el bicarbonato de sodio¹⁹.
-

2.5.6.2 COMPLICACIONES CRÓNICAS

Las complicaciones crónicas de la DM se desarrollan en un lapso de 10 a 15 años de la progresión de la enfermedad. La causa de muerte más frecuente de la DM es por infarto al miocardio causado por la aterosclerosis, la segunda causa es la insuficiencia renal y la retinopatía es la causa principal de ceguera en adultos²⁷ (Tabla 4).

Tabla 4. COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DM

I. Sistema Vascular	La aterosclerosis de las arterias coronarias y la hipertensión, dañan las venas, tejidos y órganos a través de los cuales pasa la sangre (Figura 11). El incremento de la concentración de lípidos en sangre, promueven la formación de depósitos grasos que engrosan las paredes de las arterias produciendo, una reducción del conducto y pérdida de flexibilidad. No se conoce con exactitud la patogenia, pero se relaciona con la hiperglucemia. Además, puede provocar gangrena de extremidades inferiores e impotencia en el varón ^{1,25} .
II. Nefropatía	La insuficiencia renal es causada por el deterioro de la función depuradora de los riñones, produciéndose uremia, hipoalbuminemia y aparición de edemas e hipertensión. La eliminación de albúmina en la orina es uno de los signos principales para predecir el grado de lesión renal. Su frecuencia en DM1 aumenta con la duración de la enfermedad, mientras que en DM2 es mucho menor. El control estricto de la DM y de la hipertensión puede retardar su desarrollo. La diálisis crónica y el trasplante renal son las medidas habituales que se toman en este tipo de complicación ^{1,25,26} .
III. Neuropatía	Los nervios periféricos, encéfalo y médula espinal pueden deteriorarse con DM. La alteración mas frecuente es la neuropatía periférica simétrica, que afecta a los nervios motores y sensitivos de extremidades inferiores. Se caracteriza por la lesión de la célula de Schwann (degeneración de la mielina y afectación de los axones). Puede aparecer especialmente en los dedos e incluso en las manos, provoca una sensación dolorosa con calor, con el tiempo las áreas afectadas se vuelven menos sensibles y están expuestas a heridas e infecciones. Una consecuencia de esta es la formación de úlceras y posteriormente gangrena. Se puede tratar con analgésicos convencionales o antiinflamatorios no esteroideos ^{1,25} .
IV. Retinopatía	Se desarrolla un error en la refracción ocular, que produce visión borrosa. Las lesiones de la retinopatía se clasifican en dos: Retinopatía Simple . Existe incremento de la permeabilidad capilar, oclusión, dilatación, hemorragias, microaneurismas y exudados algodonosos que representan el escape de proteínas y lípidos de los capilares dañados ²⁸ (Figura 12). Retinopatía Proliferativa . Existe formación de nuevos vasos y cicatrización. La hemorragia vítrea y el desprendimiento de retina son dos complicaciones que determina la pérdida súbita de la visión de uno de los dos ojos. ²⁵ La retinopatía es el problema más común, aunque las cataratas y el glaucoma también se presentan ²⁸ . En México el 3.7% de pacientes tiene una severa pérdida visual ²⁹ . La retinopatía es un indicador del progreso de la enfermedad, por lo que es importante un examen de la vista regularmente.

Tabla 4. COMPLICACIONES CRÓNICAS DE LA DM

<p>V. Otras Complicaciones</p>	<p>A. Aparato Digestivo. Existe disminución del reflejo nauseoso y diarrea o constipación. Se recomienda como tratamiento tetraciclina y laxantes.</p> <p>B. Aparato Urinario. Se caracteriza por el vaciamiento defectuoso de la vejiga. Al ultrasonido se observa una vejiga llena después de la micción. En el varón se puede presentar eyaculación retrógrada e impotencia sexual.</p> <p>C. Pie Diabético. Se considera un marcador de DM, se puede presentar al inicio con necrosis de la epidermis y degeneración de colágena. Puede llegar hasta la amputación del miembro.</p> <p>D. Dermatopatía Diabética. Se inicia por una lesión primaria que desencadena lesiones múltiples y en algunos casos vesículas, este tipo de lesiones aparecen tardíamente, por lo que se requiere de un constante chequeo clínico.</p> <p>E. Piodermias. Enfermedades en la piel como erisipela, provocadas por microorganismos como estafilococos y estreptococos.</p> <p>F. Micosis. Infección por hongos, como la tiña en pies, ingles y uñas.</p> <p>G. Virosis. Los pacientes manifiestan lesiones herpéticas provocadas por el virus de herpes simple y herpes zoster, que pueden ser hemorrágicas y necróticas.</p> <p>H. Rubeosis Se pone de manifiesto con una coloración rojiza en pies, manos, cara, provoca sensibilidad a la luz²⁴.</p>
---------------------------------------	---

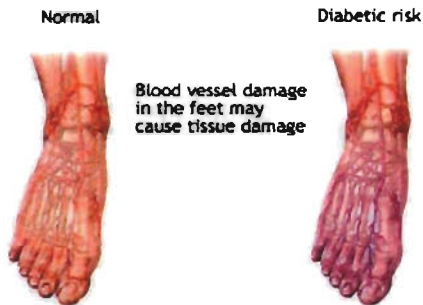
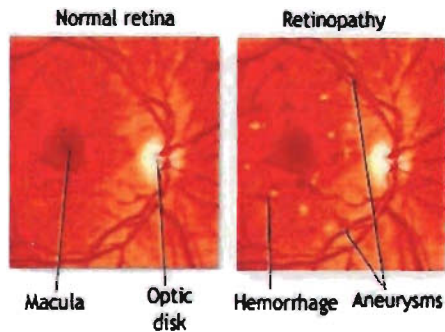


Figura 11. Las personas con diabetes tienen un mayor riesgo de sufrir lesiones en los vasos sanguíneos, estas lesiones pueden ser bastante severas y causar daño en los tejidos de piernas y pies¹⁰.

Figura 12. En la retinopatía diabética, existen hemorragias, microaneurismas e incremento de la permeabilidad capilar. Estos problemas causan visión borrosa en los pacientes diabéticos, y en los casos mas severos se produce ceguera^{10, 28}.



2.5.7 HISTOPATOLOGÍA EN LA DM

La histopatología de la DM, describe las lesiones histológicas observadas en los pacientes con 10 a 15 años de la progresión de la enfermedad ²⁶ (Tabla 5).

Tabla 5. HISTOPATOLOGÍA EN LA DM

I. Páncreas	Estas lesiones son inconstantes y rara vez útiles para el diagnóstico, son más frecuentes en DM1 y las alteraciones pueden ser: Reducción del número y tamaño de los Islotes , la mayoría de los Islotes son pequeños y difíciles de identificar en DM1. Infiltración leucocitaria de los islotes , formada principalmente por linfocitos, se puede identificar en la etapa crítica de DM1. Con microscopía electrónica, puede observarse degranulación de las células (reflejo del agotamiento de la Insulina almacenada en las células que ya han sufrido daños) y fibrosis. Esta alteración es más frecuente en los casos de DM2 ^{30,31} .
II. Riñón	Se pueden encontrar cualquiera de las siguientes lesiones: 1) afectación glomerular con tres patrones característicos: Glomerulosclerosis difusa, que es un aumento de la matriz laminar mesangial. Glomerulosclerosis nodular, se manifiesta con un síndrome nefrótico caracterizado por proteinuria, hipoalbuminuria y edema. Engrosamiento de la membrana basal capilar (figura 13). Tanto la forma nodular como la difusa producen la aparición de finas cicatrices en los riñones, haciendo que la superficie cortical adopte un patrón granular; 2) lesiones vasculares renales , principalmente aterosclerosis renal, que es el engrosamiento de los vasos sanguíneos del riñón, afectando a las arteriolas aferentes y eferentes; 3) pielonefritis , es la inflamación aguda o crónica de los riñones. La pielonefritis aguda tiene un patrón especial, la papilitis necrotizante ^{26,31} .
III. Nervios Periféricos	En estas lesiones se observa atrofia y pérdida axonal con signos de desmielinización segmentaria, separaciones axogliales y alteraciones en los procesos de regeneración neural. Paralelamente, existen signos de proliferación conectiva endoneural y afectación de los "vasa nervorum" (engrosamiento de la membrana basal) ^{27,31} .
IV. Retina	Se detectan capilares dañados con hemorragias, microaneurismas y exudados algodonosos que representan el escape de proteínas y lípidos ²⁸ .

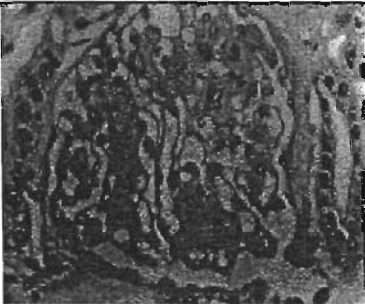


Figura 13. Glomérulo con ampliación de espacios mesangiales. Engrosamiento de la membrana basal glomerular²⁶.

2.5.8 TERAPEUTICA DE DM

El tratamiento de elección para la DM, consiste en una dieta, ejercicio y una terapia de reemplazo con insulina o hipoglucemiantes orales. Además, se deben eliminar las condiciones de riesgo cardiovascular como el tabaquismo, sedentarismo y sobrepeso e instruir al paciente en estrategias de autocuidado y vigilancia de la glucemia. Su objetivo es evitar las complicaciones mediante el control de los niveles de glucosa, dentro del rango normal (70 a 110 mg/dL)²².

2.5.8.1 HIPOGLUCEMIANTES ORALES

Existen seis grupos de medicamentos orales aprobados por ADA, para el tratamiento de los pacientes con DM2, que comprenden las sulfonilureas (tolbutamida, clorpropamida, glibenclamida, glipizida, glimepirida, gliclazida); los análogos de meglitinida (repaglinida); los derivados de fenilalanina (nateglinida); las biguanidas (metformina); las tiazolidinedionas (pioglitazona, rosiglitazona) y los inhibidores de α -glucosidasa (acarbose, miglitol).

Todas estas opciones están indicadas siempre y cuando las estrategias no farmacológicas (dieta y ejercicio) hayan resultado insuficientes para mantener controladas las concentraciones de glucosa en sangre. Los primeros tres grupos mencionados corresponden a fármacos que estimulan la secreción de insulina por parte de las células beta del páncreas y por lo tanto su uso entraña un riesgo variable de hipoglucemia, en tanto que los otros no producen tal alteración, razón por la cual reciben el nombre de antihiperoglucemiantes^{22,33}.

Terapia combinada con medicamentos orales

Debido a que actúan de diferentes maneras para reducir el nivel de glucosa en la sangre, los medicamentos mencionados pueden utilizarse de manera conjunta. Puesto que los mecanismos de acción de sulfonilureas y metformina son complementarios, la adición de la biguanida es una estrategia razonable para aquellos casos en los cuales hay resistencia secundaria a las primeras. Así mismo existen muchas combinaciones posibles²².

**Tabla 6. MEDICAMENTOS ORALES APROBADOS POR ADA
PARA EL TRATAMIENTO DE LA DM2²²**

Fármaco	Dosis/día (mg)	Características
Sulfonilureas (2ª generación)		Fármacos más utilizados para el control de la hiperglucemia ²² . Promueve la secreción de insulina en el páncreas e incrementan el número de receptores periféricos para la hormona ³² . Debido a su mayor seguridad (reducen el riesgo de hipoglucemia), se prefieren las de 2ª generación cuya acción puede extenderse hasta por 24 horas ³³ .
Glibenclamida	2.5-20	
Gliclazida	40-240	
Glipizida	5-40	
Glimepirida	1-8	
Biguanidas		Son antihiperoglucemiantes. Aumentan la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, disminuyen la absorción intestinal de glucosa e interfieren con la gluconeogénesis hepática; además, estimulan la utilización de glucosa y la lipogénesis en el tejido adiposo. Como no promueven la liberación de insulina, no causan hipoglucemia. Uno de los posibles efectos secundarios de la metformina es la diarrea, por ese motivo, se recomienda su administración con las comidas ^{32, 34} .
Metformina	500-2.500	
Tiazolidinedionas		Fármacos de más reciente desarrollo. Aumentan la sensibilidad periférica a la insulina en el músculo y grasa, también reducen la producción de glucosa en el hígado. Se administran una o dos veces por día, con las comidas. Pueden provocar un efecto poco frecuente, aunque grave en el hígado ^{22, 34} .
Pioglitazona	15-45	
Rosiglitazona	4-8	
Inhibidores de alfa glucosidasa		Reducen la hiperglucemia posprandial, al interferir con la absorción intestinal de disacáridos. Reducen el ritmo de descomposición de azúcares. Su acción reduce el aumento del nivel de glucosa en la sangre después de las comidas. Los efectos secundarios, incluyen flatulencia y diarrea ^{32, 33} .
Acarbosa	50-300	
Miglitol	75-300	
Análogos de meglitinida		Fármaco derivado del ácido benzoico, se une a un receptor diferente al de las sulfonilureas, incrementa la secreción de insulina. Es efectivo en la reducción de la glucemia postprandial cuando es administrado dentro de los 30 minutos previos a la ingesta de alimento ²² .
Repaglinida	0.5-16	
Derivado de fenilalanina		Tiene la capacidad de unirse al receptor para las sulfonilureas. La administración antes de los alimentos, disminuye la glucemia postprandial y la concentración sérica de hemoglobina glucosilada ²² .
Nateglinida	60-360	

2.5.8.1.1 GLIBENCLAMIDA

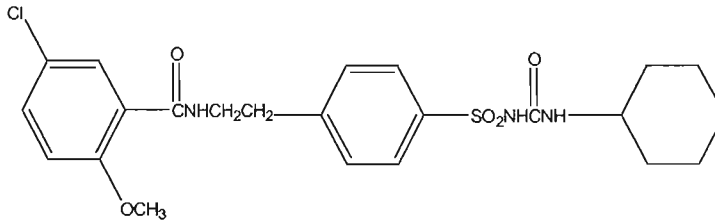


Figura 14. Estructura química de glibenclamida ³²

La glibenclamida se utiliza como complemento a la dieta para reducir los niveles elevados de glucosa en sangre en los pacientes con DM2. La acción hipoglucemiante de la glibenclamida se debe a la estimulación de las células β de los islotes pancreáticos lo que ocasiona un aumento de la secreción de insulina (Figura 15).³³ Para que el fármaco sea efectivo se requiere que exista un número mínimo de células β viables, lo que no ocurre en el caso de la DM1 o en casos severos de DM2. La prolongada administración de glibenclamida ocasiona efectos extrapancreáticos que contribuyen a su actividad hipoglucemiante, como son la reducción de la producción de glucosa hepática o la mejora de la sensibilidad a la insulina en los tejidos periféricos, debido a un aumento en el número de receptores insulínicos³⁴. También produce un efecto diurético leve sin afectar las concentraciones de ácido, se absorbe por el tracto digestivo y su efecto hipoglucemiante se manifiesta en 2 horas, alcanzándose un máximo a las 3-4 horas. Se metaboliza completamente en el hígado originando dos metabolitos, que son sólo débilmente activos. Los metabolitos y el fármaco sin metabolizar son eliminados por igual en la orina y en las heces. Su vida media es de aproximadamente 10 h y la duración del efecto hipoglucemiante es de 24 h en pacientes con función renal normal. Su uso está contraindicado cuando existe enfermedad hepática y han de administrarse con precaución en los sujetos con insuficiencia renal. El principal problema asociado a la utilización no vigilada de las sulfonilureas es la hipoglucemia, que puede prevenirse mediante una adecuada prescripción, un seguimiento juicioso del paciente y la educación del enfermo acerca de los riesgos y los signos de alerta de la

misma. La glibenclamida puede ser efectiva en pacientes que no responden a una o más sulfonilureas. La dosis recomendada en adultos es de 2.5-5 mg una vez al día, antes del desayuno, se aumenta progresivamente hasta estabilizar los niveles de glucosa. La dosis de mantenimiento oscila entre 1.25 y 20 mg/día, administrados en una o más dosis ^{32, 33}.

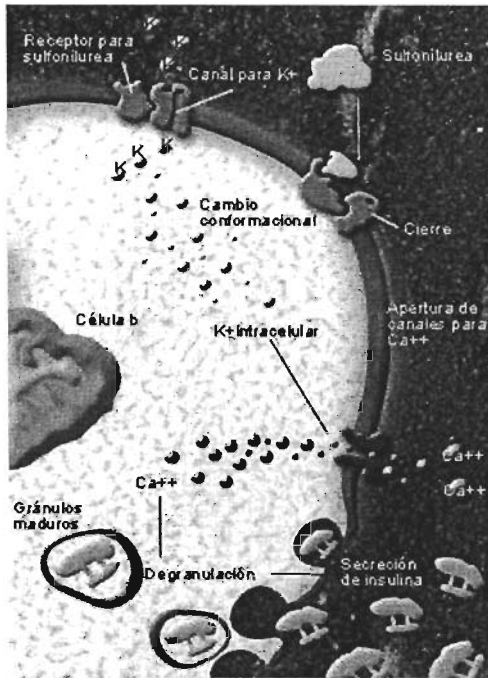


Figura 15. La glibenclamida se une a los receptores de los canales de K⁺ sensibles a ATP (adenosina trifosfato), induciendo el cierre de dichos canales y reduciendo su paso, en consecuencia, aumenta el contenido intracelular de K⁺, con el subsiguiente cambio del potencial eléctrico de la célula (originando la despolarización de la membrana). Esta despolarización estimula la apertura de los canales de Ca²⁺ sensibles al voltaje y permiten la entrada de Ca²⁺ aumentando su concentración intracelular, lo que induce, a su vez, la secreción de la insulina a partir de los gránulos maduros. Mientras que en los tejidos periféricos se incrementa la expresión de receptores para insulina ³⁴.

2.5.8.2 INSULINA

El uso de la insulina exógena está indicado para el tratamiento de todos los sujetos con DM1 y algunos con DM2 severa. Existen, tres regímenes conocidos para la administración de insulina, la terapia insulínica convencional, que implica la administración de una o dos inyecciones por día de un preparado de insulina con acción intermedia; el esquema de múltiples aplicaciones, en el cual se emplea una dosis única de insulina de acción intermedia en las tardes, acompañada de inyecciones de insulina regular antes de cada comida y la infusión subcutánea continua, por medio de un sistema de bomba que libera cantidades constantes de la hormona, a lo largo del día ²².

Hoy en día, la disponibilidad de la insulina humana recombinante, minimiza de manera considerable la frecuencia de reacciones alérgicas y de resistencia a la insulina mediada por mecanismos inmunológicos, que ocurren al utilizar insulinas de origen animal. El objetivo es que el paciente tenga un metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas cercano a la normalidad³⁴.

Las preparaciones de insulina las podemos clasificar según su especie en: Bovina, porcina y humana. Las insulinas de origen bovino y porcino se extraen del páncreas de dichos animales. Las insulinas humanas pueden obtenerse de dos maneras, por modificación de la insulina porcina (insulina humana semisintética) y por ingeniería genética, a partir de cultivos de bacterias u hongos, a los cuales se les introdujo información genética, para comenzar a producir insulina humana (insulina humana biosintética)²⁵.

También se pueden clasificar según su tiempo de acción (Tabla 7) en:

- A. Insulinas de acción ultrarápida: Análogos Aspart y Lispro (insulinas sintéticas). Estas insulinas, se absorben rápidamente y comienzan su acción de forma casi inmediata, son ideales para el tratamiento intensificado ya que se logran mejores controles glucémicos dos horas después de comer y se reduce el riesgo de hipoglucemias.
- B. Insulinas de acción rápida: deben inyectarse unos 20-30 minutos antes de las comidas, con el objetivo de adaptar la disponibilidad de la insulina a la absorción.
- C. Insulinas acción intermedia: Insulina NPH (Neutral Protamine Hagedorn) e Insulina Lenta. La NPH se absorbe de forma lenta debido a la adición de protamina a la insulina regular. La insulina lenta, por la adición de Zinc, tiene una acción ligeramente más duradera que la NPH.
- D. Insulinas de acción prolongada: La insulina ultralenta es absorbida muy lentamente. La insulina glargina, forma un precipitado en el tejido subcutáneo, de donde se libera de forma lenta y gradual en 24 horas^{22,32}.

*Tabla 7. Tipos de Insulina*²²

Tipos	Indicaciones	Administración	Inicio del Efecto	Acción Máxima	Duración del Efecto
Acción Ultrarápida		Subcutánea, intramuscular, intravenosa.	5 - 15 min	45 a 90 min	3 a 4 h.
Acción Rápida	DM1 DM2 no controlada. Acidosis y coma diabético. Hipertotasemia	Subcutánea, intramuscular	30 - 45 min	2 a 4 h.	6 a 8 h.
Acción Intermedia NPH		Subcutánea, intramuscular	1 - 3 h.	8 a 12 h.	12 a 24 h.
Acción Ultralenta		Subcutánea, intramuscular	4 - 6 h.	16 a 24 h.	24 a 36 h.


2.5.8.3 DIETA

Un buen plan de alimentación para las personas con DM2, es suficiente para lograr un control adecuado de los niveles de glucosa. Dicha estrategia contribuye, a normalizar las cifras de lípidos séricos, en especial cuando existe hipertrigliceridemia o dislipidemia mixta (hipercolesterolemia con hipertrigliceridemia). El paciente diabético debe recibir, entre 250 a 500 calorías menos que una persona sana. Debe ingerir fibra, en forma soluble (cereal o avena), es apropiado sustituir las grasas de origen animal (ricas en ácidos grasos saturados) por grasas insaturadas tales como los aceites de origen vegetal (de oliva o girasol) y promover el consumo de pescado o aves de corral y reemplazar el azúcar común por edulcorantes artificiales^{22, 23}. En la Figura 16, se presenta una guía de alimentación.

2.5.8.4 EJERCICIO

El ejercicio tiene varios efectos benéficos, a saber: mejora la sensibilidad periférica a la insulina, ayuda a disminuir los niveles elevados de glucosa dentro de un rango normal, reduce el peso corporal y el riesgo de eventos cardiovasculares, disminuye los requerimientos de insulina y, por último, es una efectiva medida profiláctica contra la enfermedad coronaria. Como cualquier herramienta terapéutica, sus efectos deben ser supervisados por el médico que lo está indicando;

desde un punto de vista práctico, los beneficios y los riesgos se deben evaluar en forma individual. Se debe cuidar el estado de hidratación, ya que esta puede afectar los niveles de glucosa sanguínea y la función cardiaca.³⁵



GUIA DE ALIMENTACIÓN

Recomendada a: _____
Elaboró: _____

Raciones de alimentos





































 <p>Leche entera 1 taza</p>	 <p>Leche en polvo 3 cuadas soperas</p>	 <p>Yogurt natural 1 taza</p>
Leche: 145 kcal		
 <p>Tortilla de maíz 1 pieza</p>	 <p>Bolillo ½ pieza</p>	 <p>Pan de caja 1 rebanada</p>
 <p>Cereal de caja sin azúcar ½ taza</p>	 <p>Galletas habaneras 3 piezas</p>	 <p>Aroz cocido ½ taza</p>
 <p>Camote ½ taza</p>	 <p>Medias noches ½ pieza</p>	 <p>Bollo para hamburguesa ½ pieza</p>
Cereales y tubérculos: 70 kcal		
 <p>1 Pierna 30 g</p>	 <p>Mariscos 30 g</p>	 <p>Machaca 10 g</p>
 <p>Queso 50 g</p>	 <p>Jamón 40 g</p>	 <p>Salchicha 1 pieza</p>
 <p>Huevo 1 pieza o dos claras</p>	 <p>Charales secos 10 g</p>	 <p>Sardina 1 grande o 2 medianas</p>
Carne y sustitutos: 75 kcal		
<p>Frijol cocido ½ taza</p>	<p>Lenteja cocida ½ taza</p>	<p>Haba seca cocida ½ taza</p>
<p>Garbanzo cocido ½ taza</p>	<p>Alverjón cocido ½ taza</p>	<p>Soya cocida ½ taza</p>
Leguminosas: 105 kcal		
 <p>Verduras grupo "A": (acelgas, apio, brócoli, calabacitas, col, coliflor, chayote, ejotes, espinacas, jitomate, lechuga, nopales, pepinos, rábanos, repollo, romeros, tomate); 1 taza = 28 kcal</p> <p>Verduras grupo "B": (betabel, calabaza de castilla, chícharo, cebolla dulce, nabo, zanahoria); 1 taza = 120 kcal</p> <p style="text-align: right; border: 1px solid black; padding: 2px;">Verduras: Grupo A= 28 kcal, Grupo B = 120 kcal</p>		
 <p>Fruta chica (ciruela, tejocote, guayaba, chabacano, higo, lima): 3 piezas</p>	 <p>Fruta mediana (durazno, manzana, naranja, pera, mandarina, tuna, Kiwi): 1 pieza</p>	 <p>Fruta especial (plátano, mango, chicozapote): ½ pieza</p>
 <p>Jugo ½ vaso</p>	Fruta: 40 kcal	
 <p>Margarina 1 cucharadita</p>	 <p>5 aceitunas</p>	 <p>Aguacate ½ pieza pequeña</p>
 <p>Aceite 1 cucharadita</p>	 <p>2 nueces completas</p>	 <p>1 cucharada sopera</p>
 <p>Cacahuete 6 semillas</p>	 <p>Almendra 10 semillas</p>	 <p>Crema 1 cucharada sopera</p>
 <p>Pepitas 1 cucharada sopera</p>	Grasa: 45 kcal	

Figura 16. Guía de alimentación para el paciente con DM2²³

2.5.9. MEDIDAS DE PREVENCIÓN.

Estudios de investigación han descubierto que si se hacen cambios en el estilo de vida se puede prevenir o retrasar la aparición de la DM. Las medidas preventivas para mantener la salud y calidad de vida son: educar a médicos y trabajadores de la salud para mejorar su eficiencia en el cuidado del paciente diabético, así como tomar en cuenta los factores principales que deben evitarse: obesidad, desnutrición, sedentarismo, consumo de alcohol, estrés severo y prolongado, uso injustificado de medicamentos que afectan al metabolismo de los carbohidratos (tiazidas, glucocorticoides, etc). Se debe realizar tamizaje a toda persona mayor de 25 años y mujeres embarazadas que acudan a consulta a las unidades de salud del sector público y privado, ya que es importante la detección temprana y el tratamiento oportuno de la DM a fin de retrasar cualquier tipo de complicación, como amputación, ceguera, enfermedades cardiovasculares, renales, etc. Es necesario promover en la población hábitos nutricionales adecuados, la realización de algún ejercicio físico y educación sobre DM ^{22,23}.

2.6 LOS MODELOS ANIMALES

En la época de los griegos se utilizaban animales para ensayos médico-científicos, con el propósito de comprender el funcionamiento del cuerpo, las posibles causas de enfermedades y su curación. Durante el Renacimiento, Leonardo da Vinci estudió diferentes animales para describir sus anatomías y compararlas con la humana. Sin embargo, fue en las últimas décadas del siglo XX que comenzó, el uso sistemático de animales en la experimentación científica, lo cual permitió el desarrollo de vacunas, antibióticos, la obtención de la insulina, dilucidación de la estructura del Ácido desoxirribonucleico (ADN) y avances en la investigación del cáncer, trasplantes de órganos, sida, etc ³⁶.

La experimentación con animales es fundamental, no solo para comprender los mecanismos celulares, sino también para favorecer el desarrollo de mejores métodos de prevención, diagnóstico y tratamiento de las enfermedades que afectan al ser humano y a los

animales. Su uso también es indispensable para las pruebas de potencia, alcance y seguridad de sustancias biológicas utilizadas en medicina y para la determinación de la toxicidad de los compuestos cuyo uso puede representar un riesgo para la salud. Un modelo animal es aquel que posee determinadas características que le permitan ser asociado con alguna patología humana y para su elección es importante tener en cuenta algunas características generales como el costo, disponibilidad, generalización de resultados, facilidad y adaptabilidad a la manipulación experimental, tiempo de vida, sexo (las hembras tienen una homeostasia menos estable por los ciclos hormonales, así que se opta por usar machos) y edad (la capacidad de reacción cambia con la edad, por lo tanto se trabaja con animales jóvenes y adultos).³⁶

2.6.1 MODELOS ANIMALES DE DM

Los animales con DM han contribuido para entender las causas, consecuencias y tratamiento de este síndrome metabólico, aunque no representen exactamente los aspectos de la enfermedad en el ser humano³⁷. Se caracterizan por adquirir una hiperglucemia inicialmente moderada, que con el tiempo se torna severa y se acompaña de hiperinsulinemia, pérdida de peso y en ocasiones, cetosis³⁸. La DM se puede presentar de forma espontánea o inducida por distintos métodos³⁹.

2.6.1.1 BIOMODELOS ESPONTÁNEOS

La DM ha sido estudiada en animales que la desarrollan por medio de dos factores patogenéticos (defectos inmunológicos y predisposición genética). Se presenta en varias especies de mamíferos (hamster chino, conejos Nueva Zelanda, perros y monos), los cuales no son lo suficientemente comparables con la DM en seres humanos (Figura 17). En este caso los modelos más representativos son las ratas BB (BioBreeding) y los ratones NOD (No obese diabetic). La incidencia de la DM también depende de los factores ambientales, como el contacto con agentes infecciosos (virus), por esto es necesario que los animales se críen en condiciones SPF (Libres de patógenos específicos) o VAF (Libres de anticuerpos virales). Otro tipo de factores pueden ser,

la dieta (alimentos enriquecidos con grasas saturadas o azúcares simples, que pueden desencadenar DM), el estrés crónico el cual afecta el metabolismo de la glucosa y las hormonas⁴⁰.

2.6.1.2 BIOMODELOS INDUCIDOS

Diversos son los métodos que permiten inducir la DM como se menciona a continuación:

- A. Manipulación genética. Las técnicas de manipulación genética han permitido obtener animales transgénicos y knockout, que son el mejor sistema para el estudio de las enfermedades humanas de origen genético.
- B. Procedimientos quirúrgicos. La pancreatometomía parcial crea un estado indistinguible de la DM en el humano, de esta forma se estudian los efectos colaterales como lesiones hepáticas, renales y de la médula ósea.
- C. Inducción hormonal. Excesivas dosis de hormonas contrarreguladoras, producen estados de hiperglucemia, como la administración de Dexametasona un glucocorticoide que en distintos períodos de la vida, afectan selectivamente la resistencia a la insulina en diferentes tejidos.
- D. Empleo de sustancias químicas. Existen fármacos que son capaces de provocar la diabetes en individuos no diabéticos. Algunas de estas sustancias pueden inducir a la resistencia insulínica o causar daño en las células β , provocando la enfermedad. Dentro de estas se encuentra la Estreptozotocina (STZ) que es un antibiótico de amplio espectro citotóxico. Otras sustancias capaces de causar diabetes crónica son el Alloxan que causa necrosis de las células β , pero no insulinitis, el Vacor es un rodenticida capaz de provocar severa insulinodeficiencia en seres humanos, agentes quelantes y otras que también son β destructoras, pero con un efecto menor que la STZ. También, la ingestión de nitrosamidas producen daño a las células β y finalmente diabetes^{38, 39}.



Figura 17. Ratón ICR. Modelo Inducido de DM³⁸.

2.7 ESTREPTOZOTOCINA

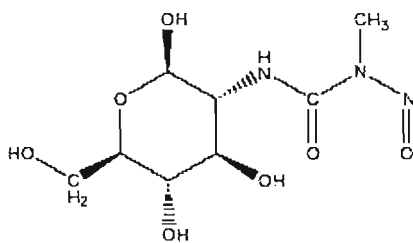


Figura 18. Estructura química de STZ (2-Deoxy-2-[[metil-nitrosoamino]carbonil]amino}D-glucopiranosas)

STZ (Derivado nitroso de glucosamina) es una mezcla de estereoisómeros α y β . Se encuentra en la naturaleza como cristales, o polvo amarillo pálido, es soluble en disolventes polares, el compuesto puro es sensible a la humedad y a la luz, se descompone a diazometano en soluciones alcalinas y con el calor, emitiendo gases tóxicos de óxido de nitrógeno. Es un antibiótico de amplio espectro extraído de *Streptomyces achromogenes* y también es sintetizado químicamente. Es una toxina de las células β pancreáticas que induce una rápida e irreversible necrosis de las células β . Es ampliamente usado para producir modelos experimentales de DM⁴¹.

La STZ entra en la célula β vía un transportador de glucosa (GLUT2) y actúa como un donador de óxido nítrico en las células pancreáticas que son particularmente sensibles al daño por óxido nítrico y radicales libres debido a sus bajos niveles de enzimas protectoras. Dando como

resultado la destrucción de las células β por necrosis.²⁸ También puede actuar como agente metilante del ADN⁴².

Se cree que la STZ es un carcinógeno humano debido a la evidencia que se tiene en animales de experimentación, ya que cuando se administra la STZ, induce un incremento en la frecuencia de tumores en riñón y pulmón en ratones de ambos sexos, además produce tumores uterinos en ratones hembra⁴³.

También es un potente agente antibacteriano, pero nunca ha sido usado comercialmente para este propósito.

La DM inducida por STZ se puede producir de dos formas diferentes. Por una dosis alta y única, que causa la muerte de las células β dentro de las primeras 24 horas, induciendo una severa insulinodeficiencia y cetosis o mediante dosis bajas y repetidas que al 5° día causan una parcial reducción de las células β , lo cual puede aprovecharse para producir un estado diabético sin tendencia a la cetosis. En la actualidad es el producto más utilizado como agente diabotogénico por su mayor acción citotóxica, la sensibilidad varía según la especie animal, línea, sexo, edad y estado nutricional, pero presenta el inconveniente de tener un elevado costo en el mercado³⁸.

2.8 TAMARINDO

Debido a que los tratamientos contra la DM, producen efectos adversos, se recurre al uso de sustancias alternativas de origen natural, como es el caso de el *Tamarindus indica* Linn.

2.8.1 GENERALIDADES

Nombre científico: *Tamarindus indica* Linn.

Nombres comunes en México: “tamarindo” que se deriva del árabe “tamar-u'l-Hind”, significa “dátil de la India”, en Yucatán es conocido como Pachuhul, Pachuhuk.

Sinónimos: tamarindus occidentalis, tamarindus officinalis, tamarinde, roka, humer, ardeib, indian date, hemor, tamarainer, tamarinde, indian tamarrind, tintiri, hitta, asam jawa, tamarindizio.

Familia: Leguminosae

Subfamilia: Caesalpinioideae

Tribu: Amherstieae

Genero: Tamarindus

Especie: indicus Linn

2.8.2 DESCRIPCIÓN

Tamarindus indica Linn Es un árbol de 20 a 25 m de altura, perennifolio, con diámetro del tronco de hasta 150 cm, posee una copa redondeada, esparcida y densa, con ramas bajas, hojas parapinadas y una corteza gruesa, gris y con fisuras profundas. La florescencia ocurre en sincronía con los nuevos brotes foliares, lo cual ocurre en la mayoría de las áreas durante la primavera y el verano. Las flores aparecen en agrupaciones pequeñas y vistosas de flores de color amarillo pálido con una venación de color rosa. Las flores individuales, miden aproximadamente 2.5 cm de diámetro, poseen tres estambres y tres pétalos de tamaño desigual, uno con vetas amarillas y rojas o anaranjadas, y los otros dos reducidos a unas escamas diminutas. El tamarindo comienza a producir fruta entre los 7 y los 10 años de edad, estabilizándose alrededor de los 15 años. Las frutas, de forma oblonga con una sección transversal, tienen de 8-15 cm de largo, de 1.9-2.5 cm de ancho, de 1- 1.6 cm de grueso, forma curva y protuberancias irregulares de color pardo (Figura 19). Las vainas maduras son de color pardo con un epicarpio quebradizo y contienen semillas (3 a 10) envueltas por una pulpa fibrosa y de color pardo oscuro. Las semillas son obovoides-orbiculares, comprimidas, de color pardo brillante, de aproximadamente 1.6 cm de largo, con alrededor de 850 a 1,000 semillas por kilogramo. La semilla del tamarindo esta constituida por proteínas, fibra, carbohidratos, almidón, ácidos grasos y taninos entre otros.⁴⁴

2.8.3 HÁBITAT

El tamarindo es nativo de las sabanas secas del África tropical. El árbol fue introducido a Egipto, el Medio Oriente y Asia por comerciantes árabes en tiempos antiguos. Este árbol se ha plantado y naturalizado extensamente en las regiones tropicales y subtropicales de América. El tamarindo llegó a México traído por los españoles, probablemente al principio de la Colonia, su cultivo se extendió rápidamente en las zonas tropicales de nuestro país, especialmente en la vertiente del Pacífico, en los estados de Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Chiapas e incluso Yucatán.

2.8.4 CLIMA

El tamarindo prospera en lugares con clima cálido y semiseco, pero se ha adaptado a regiones que poseen estaciones secas de larga duración. En regiones tropicales húmedas con un patrón de precipitación continua, los árboles tienden a crecer de manera pobre y por lo general no producen fruta. Las plántulas son muy sensibles a las heladas, pero pueden soportar las sequías. Las ramas, flexibles pero fuertes, rara vez se ven afectadas por el viento.

2.8.5 SUELOS Y TOPOGRAFÍA

El tamarindo requiere de suelos aluviales profundos, pero prospera en una variedad de suelos, incluyendo las arenas costeras y los suelos rocosos, aunque se ha reportado crecimiento pobre en sitios con capas inferiores sólidas, calcáreas y poco profundas.

2.8.6 COSECHA

Este importante fruto tiene su época de cosecha en nuestro país entre enero y abril, dependiendo de la región y del ejemplar, ya que no todos maduran a la vez, lo que representa una gran ventaja para su comercialización.⁴⁴

2.8.7 USOS

El tamarindo tiene propiedades nutritivas únicas, gracias a su contenido de ácido tartárico, cítrico y ascórbico (vitamina C), también, contiene azúcares, vitaminas y minerales. Es una fuente rica en calcio y tiene un altísimo contenido de fibra. Consumirlo es una manera natural de obtener los nutrientes que nuestro cuerpo necesita, por lo que se podría considerar como un excelente complemento alimenticio multivitamínico. La pulpa se usa extensamente en la cocina para la preparación de refrescos, confituras y helados. Las hojas, las flores y a veces las semillas se usan también en recetas de cocina. Las semillas molidas pueden ser preparadas para ser usadas en la estabilización de alimentos procesados y para la conversión de jugos de frutas en jaleas. Es un valioso recurso para la industria textil, y su madera se usa para leña, carbón, cimbras, pilares, muebles, etc. Las raíces son un abono natural para el suelo, ya que al ser una leguminosa

establece relaciones con bacterias fijadoras de nitrógeno. En la medicina tradicional y alternativa, se ha utilizado para el tratamiento de múltiples enfermedades. Por lo anterior hoy en día forma parte de la vasta herbolaria medicinal de nuestro país. Así, la pulpa se utiliza como laxante o purgante, en cocimiento contra las fiebres (antipirético), y la corteza como astringente. Se asegura que es efectivo contra el dolor de cabeza, quemaduras de azotadores, conjuntivitis, resfriados, tos, vómito, ictericia, hemorroides, llagas, inflamación, hemorragias e hipertensión, para el tratamiento de la disenteria, úlceras y piedras en la vejiga, además de sus cualidades como fungicida y antihelmíntico e incluso, como un eficaz remedio contra la resaca.⁴⁴ En México, el tamarindo es un fruto delicioso el cual es utilizado en la preparación de dulces y saborizantes. En la medicina tradicional como laxante debido a la propiedad que posee de retener líquido en el intestino, además, se sabe por tradición oral que en el estado de México y en otros países de África es utilizado en el tratamiento de la DM por su capacidad de reducir glucosa en sangre.⁴⁵



Figura 19. Fruto del árbol *Tamarindus indica* Linn

3.0 JUSTIFICACIÓN

La DM es un trastorno crónico, que afecta aproximadamente al 25% de la población mundial y en México al 10.9 % de la población mayor de 20 años². En la medicina actual no existe una terapia efectiva para curar la DM. Sin embargo, existe la terapia para mantener el control de la enfermedad. Esta terapia consiste en una dieta balanceada, ejercicio y medicamentos, pero en ocasiones dichos tratamientos no suelen ser efectivos por lo que tienen que ser combinados, además, el tratamiento con medicamentos tiene el inconveniente de producir efectos adversos, después de una administración crónica⁴. Por esta razón, en los últimos años se han intensificado los esfuerzos tratando de encontrar un tratamiento alternativo basado en productos de origen natural como las plantas o extractos de ellas, los cuales generalmente no presentan efectos tóxicos.

Desde hace cientos de años en las prácticas medicinales, por tradición han sido utilizadas muchas plantas como remedios para el control de la DM, varias de estas plantas son comestibles, lo cual es sumamente interesante debido a la unión que se obtiene de dos factores de control para la enfermedad (medicamentos y alimentación). Debido a la búsqueda de nuevos tratamientos para la DM, se ha incrementado el número de investigaciones clínicas dirigidas a la validación de las propiedades “antidiabéticas” que se atribuyen empíricamente a estos remedios⁴⁶. Los resultados de estos experimentos han demostrado que numerosas plantas poseen actividad hipoglucemiante y las diferencias entre estas es debido a los distintos mecanismos de acción por los que actúan⁴⁷. El *Tamarindus indica* Linn es usado tradicionalmente por la población mexicana como un remedio para la DM. El propósito de este trabajo es evaluar su actividad “antidiabética” y comparar los resultados con Insulina y Glibenclamida para tener una visión de su posible mecanismo de acción. Además, este trabajo es la base científica de futuros estudios por realizar con el fin de poder usarse como tratamiento alternativo para el control de esta enfermedad y de este modo mejorar la calidad de vida del paciente diabético.

4.0 HIPÓTESIS

Considerando que el extracto acuoso de *Tamarindus indica* Linn es utilizado en la medicina tradicional por individuos diabéticos, la hipótesis se plantea de la siguiente manera:

- 1) Si el extracto acuoso de semilla de *Tamarindus indica* Linn se utiliza en individuos diabéticos, sin un estudio científico, entonces en un estudio de este tipo, demostraremos tal efecto.
- 2) Si el extracto acuoso de semilla de *Tamarindus indica* Linn produce un efecto “antidiabético”, entonces, se espera que dicho efecto sea similar al obtenido con Insulina y Glibenclamida.

5.0 OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar y comparar la actividad “antidiabética” del extracto acuoso de *Tamarindus indica* Linn con Insulina y Glibenclamida en ratones.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener diferentes extractos a partir de la semilla de *Tamarindus indica* Linn y determinar cual extracto es el que presenta el mejor efecto hipoglucemiante en ratones íntegros.
- Realizar una curva de concentración glucosa contra tiempo en ratones íntegros y determinar el tiempo al cual estos presentan el mayor valor de la concentración de glucosa en 24 horas.
- Realizar una curva de concentración glucosa contra tiempo en ratones íntegros y diabéticos siguiendo un tratamiento con los extractos e insulina en 24 horas.
- Realizar un tratamiento comparativo del efecto del extracto de *Tamarindus indica* Linn con Insulina y Glibenclamida por 31 días⁴⁸.
- Dilucidar el posible mecanismo de acción del extracto acuoso de *Tamarindus indica* Linn.

6.0 METODOLOGÍA

6.1 MATERIAL

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

- Ratones machos cepa ICR (30 ± 2.5 g). Provenientes del Centro UNAM–Harlan. Los animales tuvieron acceso libre a el alimento y agua ad libitum. Con un ciclo diario de 12 h de luz y 12 h de oscuridad.

REACTIVOS

- Ácido Cítrico. Laboratorio Mallinckrof
- Citrato de Sodio. Laboratorio Mallinckrof
- Estreptozotocina. Mezcla anómera. Laboratorio Sigma Chemical Co.
- Extractos de *Tamarindus indica Linn* (Extractos obtenidos con ayuda de la Dra. Martha Albores Velasco. Fac. Química, División de Estudios de Posgrado, Edif. B Laboratorio 203)
- Insulina acción rápida 100 regular. Laboratorio Eli Lilly, Sol. Inyectable 100 UI/mL
- Glibenclamida (Insusym), tabletas 5 mg. Ultra Laboratorios.
- Tiras reactivas Accu-Check Sensor Comfort. Laboratorio Roche.
- Tiras reactivas Dextrostix II. Laboratorio Bayer

MATERIAL DE VIDRIO

- Agitador de vidrio
- Embudo Büchner
- Matraz volumétrico de 10 mL
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL
- Matraz Kitasato de 250 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Pipeta volumétrica de 5 mL
- Probeta 10 mL

-
- Vaso de precipitados de 200 mL
 - Vaso de precipitados de 50 mL
 - Vidrio de reloj

MATERIAL DIVERSO

- Cajas contenedoras.
- Espátula
- Hoja de bisturí.
- Jeringa para Insulina.
- Papel pH
- Rejilla de metal.
- Sonda para administración intra gástrica.

EQUIPO

- Balanza granataria . Básculas finas Casa Valles, S.A.
- Balanza analítica Mettler Toledo AG204
- Glucómetro ACU-Chek Sensor. Laboratorio Roche
- Parrilla Modelo PC-420. Corning
- Rotavapor Büchi Switzerland R-114

6.2 MÉTODOS

Determinación de la concentración de glucosa en 24 horas en ratones íntegros

Curva de glucosa en sangre

Para determinar el patrón de concentración de glucosa en sangre en ratones íntegros, se toman muestras de sangre cada 3 horas durante 24 horas. Los resultados se promedian y se grafican contra el tiempo. La metodología realizada fue la siguiente:

Se pesaron y marcaron 6 ratones íntegros. A cada uno se le cuantificó la concentración de glucosa por medio del glucómetro (ACU-Chek Sensor), que es un dispositivo electrónico utilizado para realizar el monitoreo de los niveles de glucosa en sangre.

Se toma al ratón y se introduce en un aparato de sujeción para mantenerlo inmóvil. Se coloca la cola del ratón sobre un vidrio de reloj y se realiza un corte transversal en el extremo, con una hoja de bisturí, se ejerce una ligera presión para inducir la salida de sangre. La gota de sangre se coloca sobre el borde lateral de la tira reactiva (zona amarilla), la sangre es aspirada automáticamente y el resultado de la prueba aparece en la pantalla del glucómetro después de 26 segundos. (Figura 20).

EXPERIMENTO 1

Obtención de los extractos acuosos de la semilla de *Til*

Se obtuvieron tres extractos acuosos (EA). El extracto acuoso no.1 (EA1) se preparó con la semilla molida en trozos pequeños, el extracto acuoso no.2 (EA2) con la completa y el extracto acuoso no.3 (EA3) con la cáscara de la semilla. La preparación de los extractos se describe a continuación. Se limpia y elimina la pulpa del tamarindo hasta dejar la semilla libre de residuos. Se tritura la semilla o se deja remojar hasta poder separar la cascarilla dependiendo del extracto a obtener. Se pesa el equivalente a 1.5 g de semilla, se coloca en un vaso de precipitados con 150 mL de agua destilada, se deja hervir hasta evaporar la mitad del volumen. Se deja enfriar y se

reconstituye con metanol. Se deja reposar y se filtra (eliminación del precipitado y residuos de la semilla). Se elimina el metanol por evaporación y se recupera el volumen con agua destilada⁴⁹.

Determinación del efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos

Se pesaron y marcaron 12 ratones íntegros, se formaron 4 Grupos (n=3). A cada ratón se le cuantificó la concentración de glucosa inicial y se les administró por vía esofágica el extracto correspondiente al grupo: Grupo I (Control) con administración de agua destilada, Grupo II administración de EA1, Grupo III administración de EA2 y Grupo IV administración de EA3. Todos a una dosis de 80 mg/Kg con concentración de 8 mg/mL. Después de cada administración, se esperan 30 minutos y se cuantifica la concentración de glucosa, después se toman muestras cada 3 horas, hasta finalizar la terapia tipo insulínica (dos administraciones por día cada 12 horas)²². Los resultados se promedian y se grafican contra el tiempo.

EXPERIMENTO 2

Curva comparativa entre el EA1, EA2 e Insulina siguiendo una terapia insulínica convencional de 24 horas en ratones íntegros.

Se pesaron y marcaron 12 ratones, se formaron 4 grupos (n=3). Se cuantificó la concentración de glucosa inicial de cada ratón y se administró de la siguiente forma: Grupo I (Control íntegro), administración de agua destilada por vía esofágica, Grupo II, administración del EA1, Grupo III, administración del EA2, ambos extractos a una dosis de 80 mg/Kg y Grupo IV (Control positivo), administración de 0.06 UI de Insulina por vía subcutánea (S.C). Después de cada administración (6:00 AM y 6:00 PM), se esperan 30 minutos y se cuantifica la concentración de glucosa, después se toman muestras cada 3 horas hasta finalizar la terapia (24 horas). Los resultados se promedian y grafican contra el tiempo.

EXPERIMENTO 3 (Piloto en ratones diabéticos)**Inducción de la DM**

La inducción de DM, se realizó mediante la administración de STZ durante 5 días continuos por vía intraperitoneal (IP)⁵⁰, a una dosis de 40 mg/Kg. La STZ se disuelve en buffer de Citrato de Sodio (0.1 M, pH 4), la preparación de debe realizar 15 minutos antes de su administración, debido a la inestabilidad de la STZ a la temperatura y al pH alcalino. Al 5° día se cuantifica la concentración de glucosa en sangre, para verificar que los ratones sean diabéticos.

Curva comparativa de 24 horas entre el EA1 e Insulina en ratones diabéticos (db).

Se pesaron, marcaron y dividieron 15 ratones, en 5 grupos (n=3). Se cuantificó la concentración de glucosa en sangre a las 6:30 PM, hora a la cual se encuentra su mayor concentración (Experimento 2). Se induce la DM en los grupos II, III, IV y V. Al 6° día se inició un estudio de 24 h, realizando un tratamiento con el EA1 e Insulina en db. Se cuantificó la concentración de glucosa inicial y se administró de la siguiente forma: Grupo I (Control íntegro), administración de agua destilada, Grupo II administración del EA1 (4 mg/mL), Grupo III administración del EA1 (10 mg/mL) y Grupo V (Control db), administración de buffer de Citrato de Sodio (0.1 M, pH 4). Todos los anteriores administrados por vía esofágica y los EA a una dosis de 80 mg/Kg. Grupo IV (Control positivo) administración de 0.06 UI de Insulina por vía S.C. Después, de la primera administración (6:30 AM), se toman muestras cada 3 horas, durante 12 horas para repetir la administración correspondiente por grupo (6:00 PM), se esperó una hora y se cuantificó la concentración de glucosa, después se toman muestras cada 3 horas, hasta finalizar las 24 horas del tratamiento. Los resultados se promedian y grafican contra el tiempo.

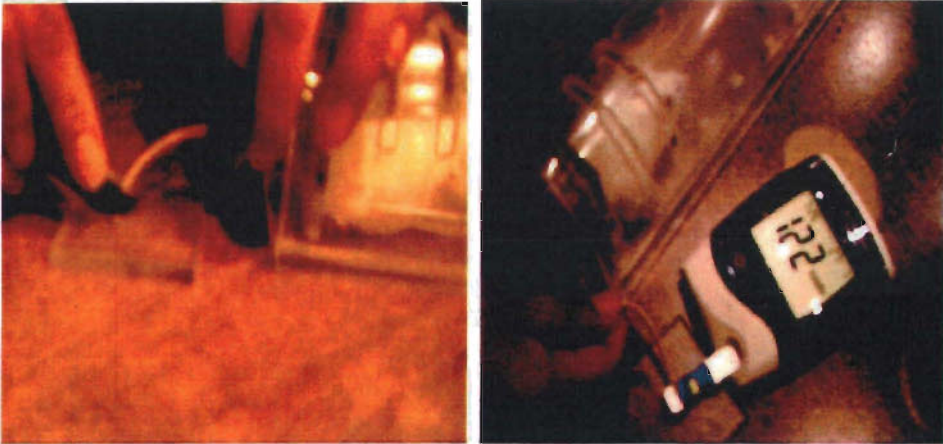


Figura 20. Cuantificación de la concentración de glucosa por medio del glucómetro digital.



Administración vía esofágica



Administración vía intraperitoneal

Figura 21. Se muestran las diferentes vías de administración usadas en los experimentos.

EXPERIMENTO 4

Tratamiento comparativo de EA de *TiL* con Insulina y Glibenclamida.

Se marcan y pesan 36 ratones, se separan aleatoriamente en cajas contenedoras en 6 grupos (n=6). Se induce la DM con STZ a los grupos I, II, III, IV y V, de la misma forma que el Experimento 3. Se cuantificó la concentración de glucosa al inicio (día 1) y al final de la inducción (día 5), a las 18:00 h. Al 6º día se inició el tratamiento con Insulina, Glibenclamida y el EA1, de la siguiente forma: Grupo I (Vehículo db) se le administró agua destilada por vía esofágica, Grupo II (Control positivo) se le administró 0.04 UI de Insulina por vía S.C, Grupo III se le administró el EA1 (4 mg/mL) vía esofágica, Grupo IV (Control positivo) se le administró Glibenclamida (2.5 mg/Kg), Grupo V se le administró el EA1 (4 mg/mL), Grupo VI (Control íntegro) se le administró agua destilada; los anteriores se administraron por vía esofágica. Ambos EA a una dosis de 80 mg/Kg. La Insulina y el EA1 fueron administrados 2 veces al día cada 12 horas (6 AM y 6 PM). La Glibenclamida se administró una vez cada 24 horas (6 PM). Este tratamiento se realizó durante 26 días en los cuales se cuantificó la concentración de glucosa cada tercer día a las 18:00 horas. También, se cuantificó el alimento, el agua y el peso de los ratones por grupo cada tercer día durante los 31 días que duró el tratamiento.

Al finalizar el tratamiento se tomó un ratón de cada grupo y se extirpó hígado, riñón y páncreas, estos órganos se mandaron al Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia con el fin de obtener un diagnóstico histopatológico.

7.0 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Para analizar los datos se usaron las siguientes pruebas estadísticas: Para evaluar la diferencia significativa entre el grupo control y los tratamientos se usó la prueba t de Student independiente y para el análisis por tratamiento se usó la prueba t de Student para muestras dependientes^{51,52}. Los resultados se presentan como el $\bar{X} \pm D.S.$ Los valores promedio fueron considerados significativamente diferentes si $P < 0.05$.

8.0 RESULTADOS

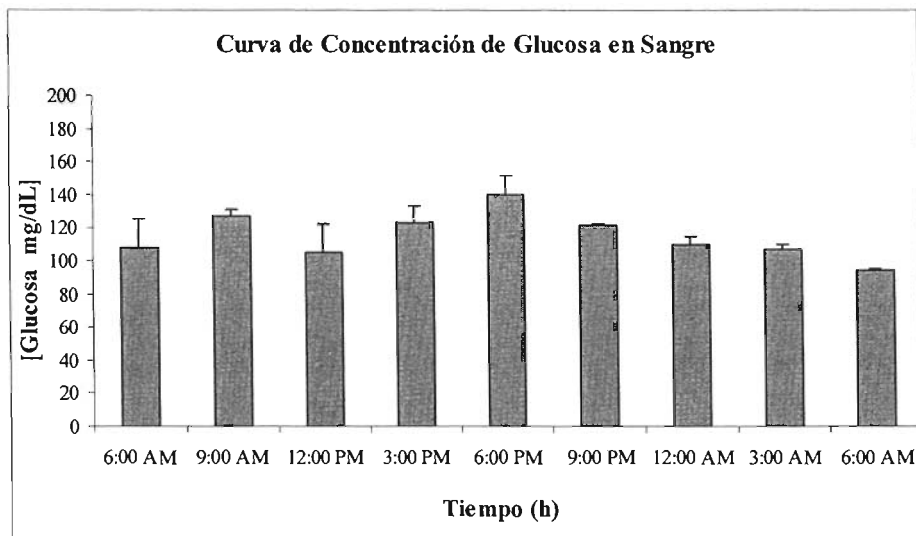
CURVAS DE CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA

Para determinar el efecto hipoglucemiante de los extractos de *TiL*, es necesario conocer previamente la [glucosa] en sangre para obtener una referencia de los valores glucosa que presentan los ratones íntegros a lo largo del día. En la Tablas 8, se muestran los resultados obtenidos en la determinación de la [glucosa]. El seguimiento de la [glucosa] se lleva a cabo durante 24 horas.

En la gráfica 1, se observa que los valores de glucosa oscilan en el transcurso del día, donde el valor más alto de la [glucosa] es de 139.5 mg/dL a las 6:00 PM y el valor más bajo es de 94 mg/dL a las 6:00 AM.

Tabla 8. Segunda Curva temporal de [glucosa] en ratones íntegros

Concentración de glucosa (mg / dL)								
6:00 AM	9:00 AM	12:00 PM	3:00 PM	6:00 PM	9:00 PM	12:00 AM	3:00 AM	6:00 AM
108±17	126±4.6	104±15	122±9.5	139.5±11	119±1.6	112±4	106±2.9	94±0.8



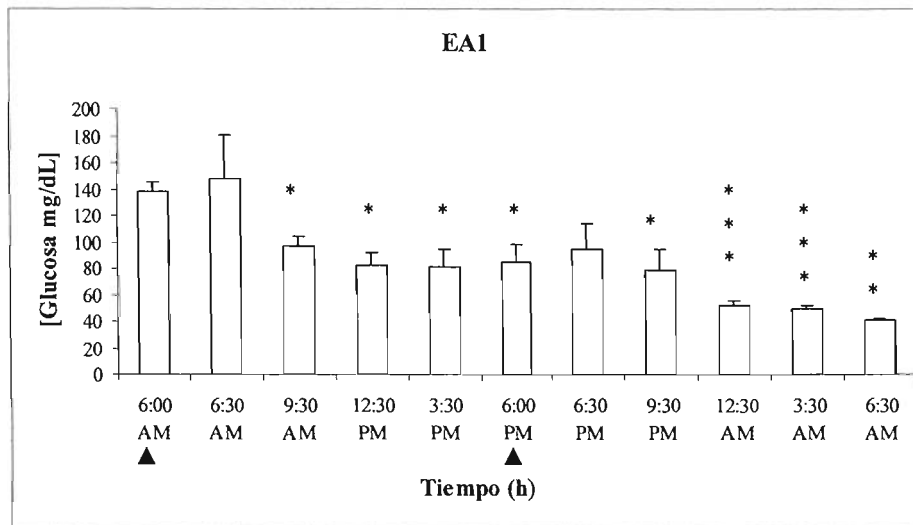
Gráfica 1. Se observan cambios en la [glucosa] en los ratones íntegros, existiendo oscilación en los valores de la misma en un lapso de 24 horas, donde el pico mas alto es de 139.5 mg/dL a las 6:00 PM y el punto mas bajo es de 94 mg/dL a las 6:00 AM.

EXPERIMENTO 1

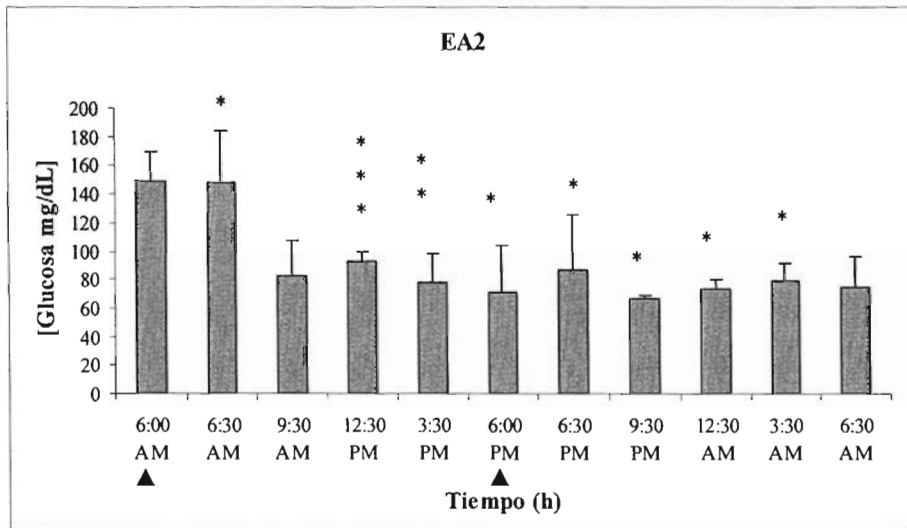
Para conocer cual de los componentes de la semilla de *TiL* es el que posee mayor actividad hipoglucemiante, se obtuvieron tres extractos acuosos (EA), dos de la semilla y uno de la cáscara de la semilla. Los EA se administraron a cada ratón íntegro 2 veces al día, cada 12 h (terapia tipo insulínica) y se cuantificó la [glucosa] cada 3 horas, para determinar si producen un efecto hipoglucemiante. Los resultados muestran que la administración de los EA disminuyen significativamente los valores de la [glucosa], por lo tanto, presentan actividad hipoglucemiante (tabla 9 y gráficas 2, 3, 4, 5, 6, 7).

Tabla 9. Resultados de la administración de los tres EA de *TiL* expresados en $\bar{X} \pm DS$

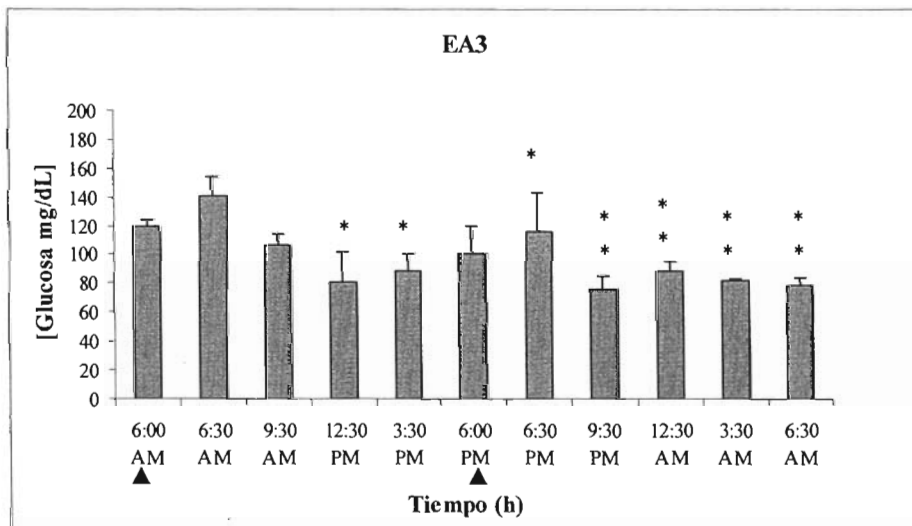
Grupo	Concentración de glucosa (mg/dL)										
	6:00 AM	6:30 AM	9:30 AM	12:30 PM	3:30 PM	6:00 PM	6:30 PM	9:30 PM	12:30 AM	3:30 AM	6:30 AM
Control	126±10	136±6	122±9	136±10	146±17	139±12	147±6	132±10	122±4	88±10	86±5
EA1	138±7	147±33	97±7	82±10	81±13	85±14	95±19	79±16	52±4	49±3	41±2
EA2	149±20	148±36	83±25	92±7	78±21	71±33	87±39	66±2	73±8	79±13	74±21
EA3	119±5	141±14	106±8	80±22	89±12	101±19	115±28	76±10	88±7	81±2	78±7



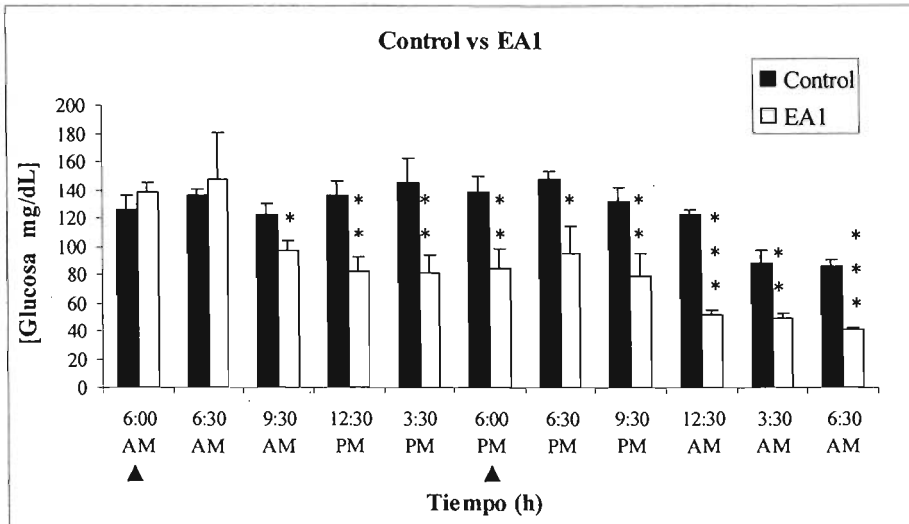
Gráfica 2. Se muestra la comparación de la [glucosa] al inicio y final de la curva con la administración del EA1 en ratones íntegros cada 12 horas (▲). Se observa que hay oscilación de los valores en el transcurso del tiempo. A partir de las 9:30 AM hay disminución significativa en la [glucosa]. Después de la 2ª administración, la disminución de la [glucosa] es mayor. Los resultados se analizaron con la prueba de "t" Student pareada y se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



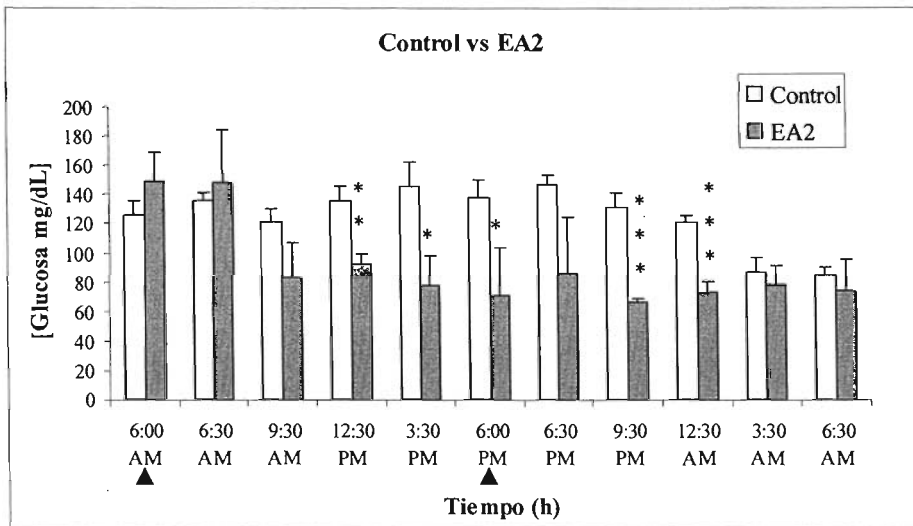
Gráfica 3. Se muestra la comparación de la [glucosa] al inicio y final de la curva con administración del EA2 en ratones íntegros cada 12 horas (▲), con la prueba de “t” Student pareada. Se observa que oscilación entre los valores de la [glucosa] en el transcurso del tiempo. Después, de la 1ª administración hay disminución significativa en la [glucosa]. Los resultados se se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



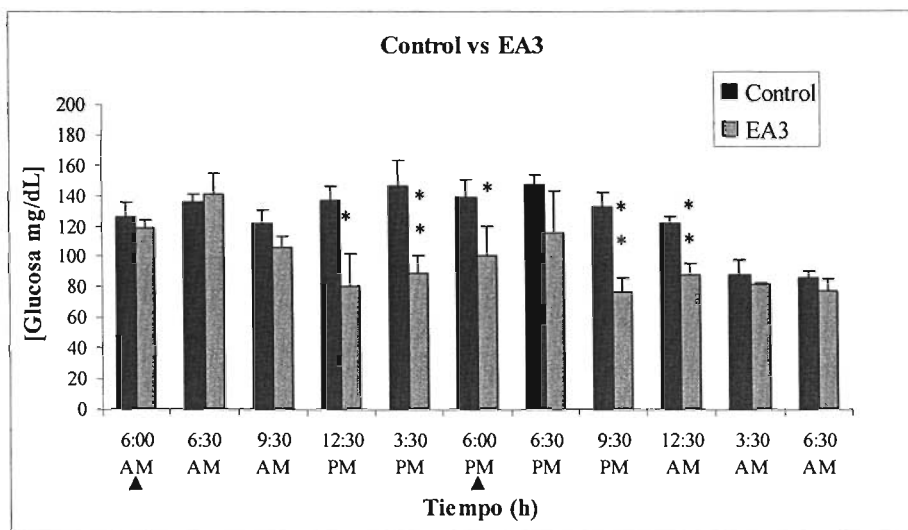
Gráfica 4. Se muestra la comparación de la [glucosa] antes y después de la administración del EA3 en ratones íntegros cada 12 horas (▲), con la prueba de “t” Student pareada. Se observa oscilación de los valores en el transcurso del tiempo. Después, de las 12:30 PM hay disminución significativa de la [glucosa]. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 5. Se muestra el \bar{X} de la [glucosa] cada 3 horas, antes y después de la administración del EA1 cada 12 horas (▲) durante 24 horas. Después de las 9:30 AM, se observa que hay disminución significativa de la [glucosa] comparada con el control. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 6. Las barras muestran los cambios en la [glucosa] cada 3 horas, antes y después de la administración del EA2 cada 12 horas (▲) por 24 horas. Después, de las 12:30 AM, se observa que hay disminución significativa de la [glucosa] hasta las 12:30 AM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



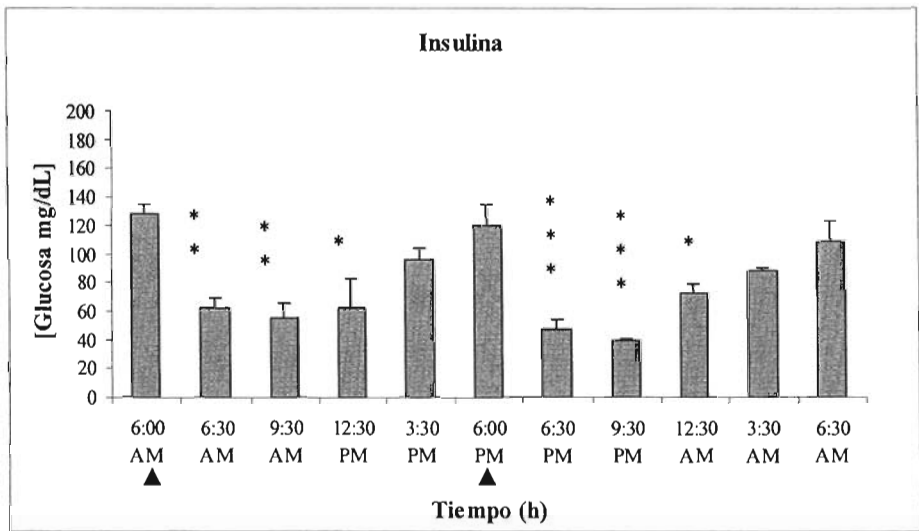
Gráfica 7. Las barras muestran los cambios en la [glucosa] cada 3 horas, antes y después de la administración del EA3 cada 12 horas (▲) durante 24 horas. Se observa disminución significativa de la [glucosa] a partir de las 12:30 PM hasta las 12:30 AM, los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

EXPERIMENTO 2

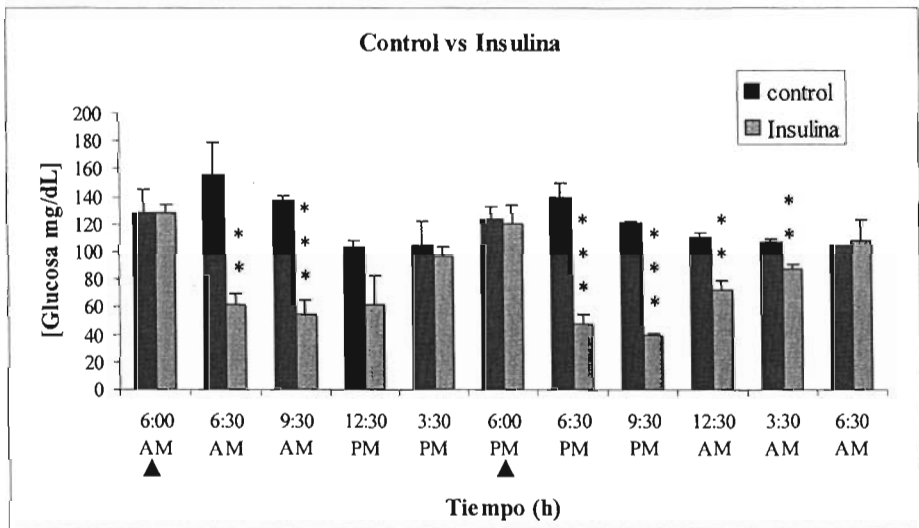
Se obtuvo una curva de concentración de glucosa siguiendo una terapia insulínica convencional de 24 horas en ratones íntegros con Insulina. Las determinaciones de la [glucosa] se realizaron cada 3 horas. Los resultados son comparados contra el EA1 y EA2 como se muestra en la tabla 10 y gráficas 8, 9, 10 y 11.

Tabla 10. Concentración de glucosa por tratamiento, expresada como el $\bar{X} \pm DS$.

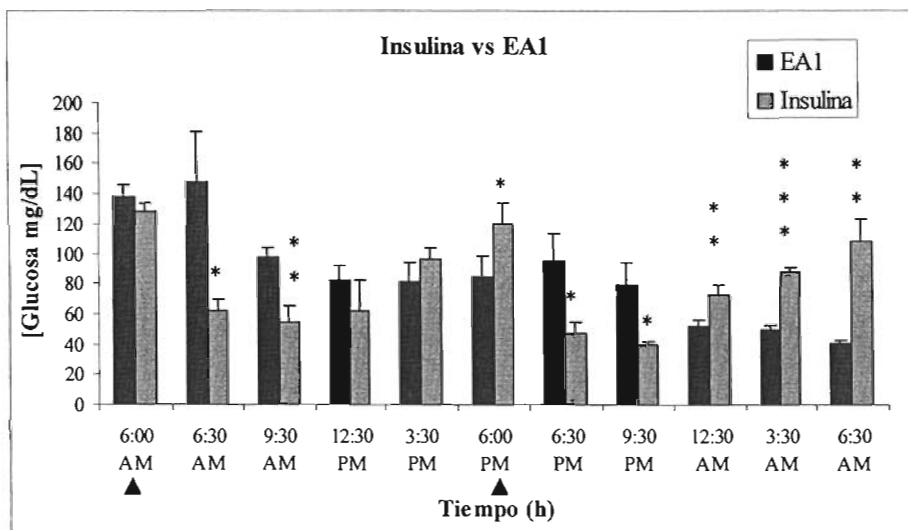
Grupo	Concentración de glucosa (mg/dL)										
	6:00 AM	6:30 AM	9:30 AM	12:30 PM	3:30 PM	6:00 PM	6:30 PM	9:30 PM	12:30 AM	3:30 AM	6:30 AM
Control	128±17	156±23	137±4	104±5	105±17	123±10	140±11	121±1	110±4	107±3	104±0.7
EA1	138±7	147±33	97±7	82±10	81±13	85±14	95±19	79±16	52±4	49±3	41±2
EA2	149±20	148±36	83±25	92±7	78±21	71±33	87±39	66.3±2	73±7.5	79±13	74±21
Insulina	128±6	62±7.6	55±10	61.7±21	96±8	119.3±15	47±7	40±1.5	727±7	88±3	108±15



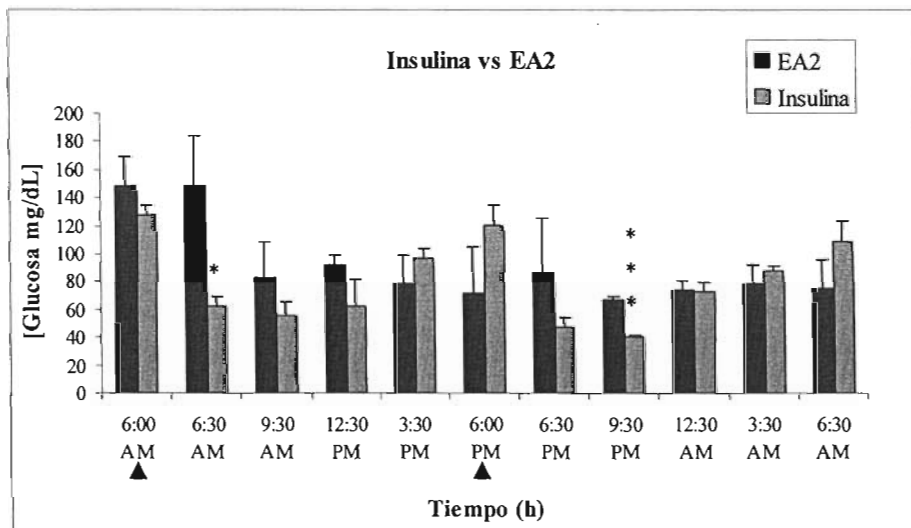
Gráfica 8. Las barras muestran los cambios de la [glucosa], al inicio y final de la curva con administración de Insulina cada 12 horas (▲) durante 24 horas. Después de la 1ª y 2ª administración los valores de la [glucosa] disminuyen significativamente, los cuales regresan a un valor normal después de 9 horas. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 9. Las barras muestran los cambios de la [glucosa], después de la administración de la insulina en ratones íntegros cada 12 horas (▲) durante 24 horas. Después de las dos administraciones, los valores de la [glucosa] disminuyen significativamente con respecto al control. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 10. Las barras muestran los cambios de la [glucosa], después de la administración del EA1 e Insulina cada 12 horas (▲) en ratones íntegros. Se observa que después de las administraciones el efecto de la insulina es inmediato existiendo diferencia significativa con el EA1, cuyo efecto es tardío. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 11. Las barras muestran los cambios de la [glucosa], después de la administración del EA2 e Insulina cada 12 horas (▲) en ratones íntegros. Se observa que hay diferencia significativa de la [glucosa] entre los tratamientos a las 6:30 AM y 9:30 PM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.001$ (***)

EXPERIMENTO 3

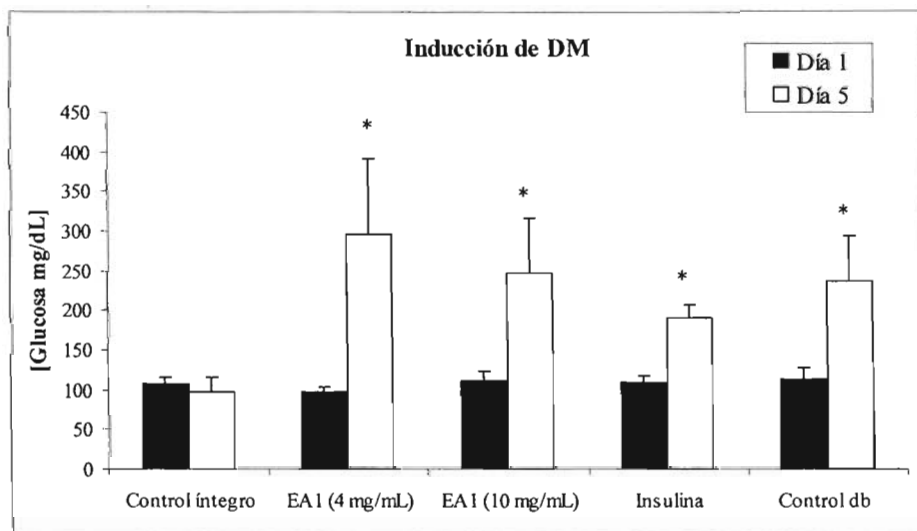
Piloto en ratones diabéticos.

Para realizar este experimento es necesario inducir la DM con STZ en los animales de estudio, con el fin de comparar el efecto “antidiabético” del EA1 e Insulina, en los animales con DM. Los resultados se muestran en la tabla 11 y gráfica 12.

Tabla 11. Promedio de la concentración de glucosa al inicio y al final de la inducción de DM.

Grupo	Concentración de Glucosa (mg/dL)	
	<u>Pre-administración de STZ</u>	<u>Post-administración de STZ</u>
	Día 1	Día 5
Control íntegro*	108.3*	98.0*
EA1 (4 mg/mL)	97.7	296.0
EA1 (10 mg/mL)	112.3	248.0
Insulina	109.7	189.7
Control db	113.7	237.7

* El grupo control íntegro no fue administrado con STZ.

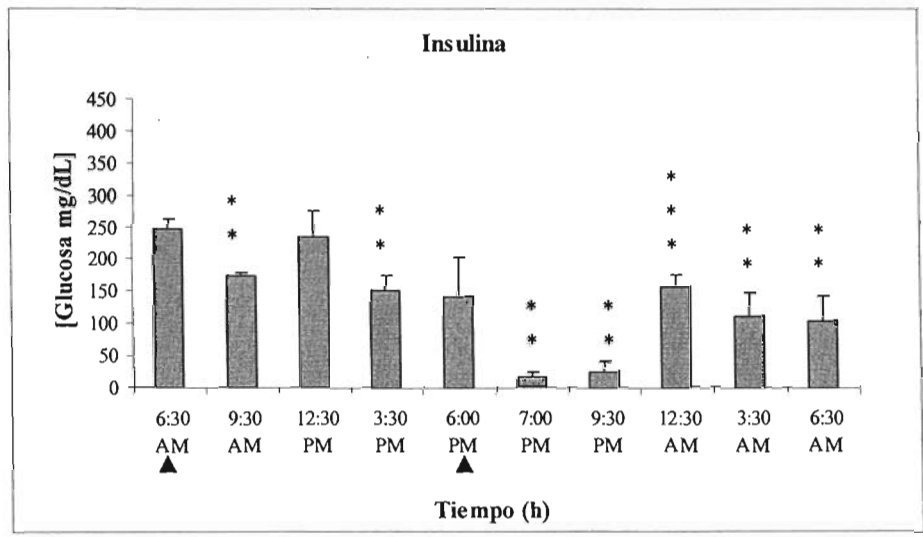


Gráfica 12. Después de la administración continua de STZ por 5 días se observa un incremento significativo de la [glucosa], con excepción del grupo íntegro, en el cual no se indujo la DM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).

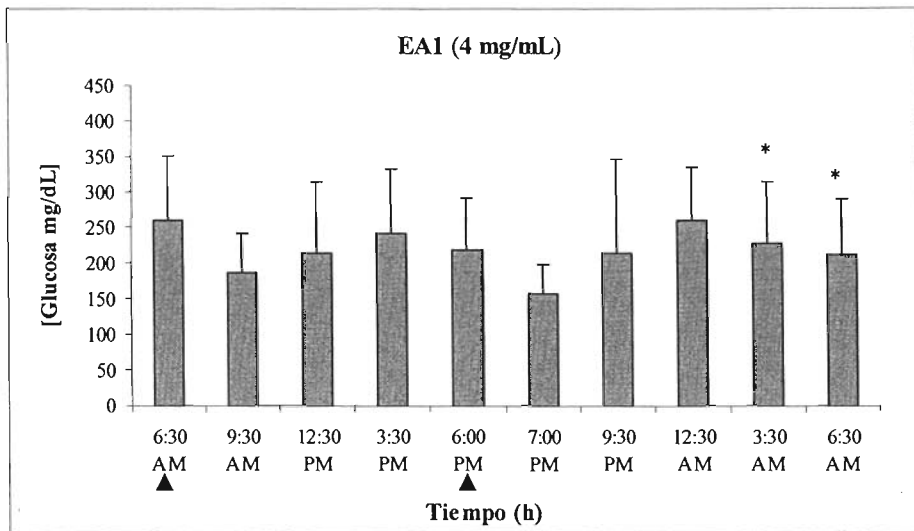
Después de la inducción, al 6° día, se realizó una curva comparativa de 24 horas entre el EA1 con dos concentraciones diferentes (4 y 10 mg/mL) e Insulina en ratones diabéticos, los resultados obtenidos se muestran en la tabla 12 y gráficas 13-19.

Tabla 12. Concentración de glucosa por tratamiento, expresada como el $\bar{X} \pm DS$.

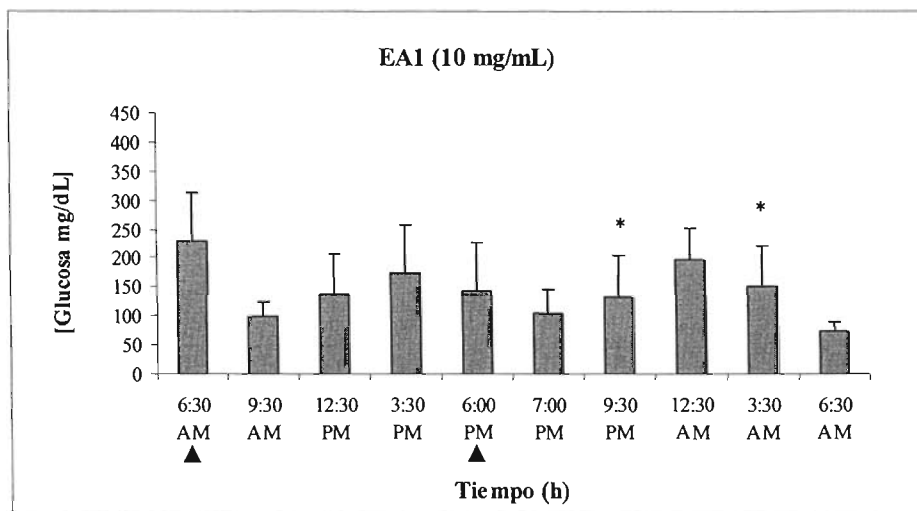
Grupo	Concentración de Glucosa (mg/dL)									
Control íntegro	88±15	98±17	111±11	100±8	89±7	77±7	92±10	88±15	85±24	83±30
EA1 (4 mg/mL)	260±90	187±54	214±100	241±91	218±72	156±43	214±131	303±95	270±102	252±95
EA1 (10mg/mL)	229±85	98±25	138±69	175±82	144±83	104±41	131±73	195±57	150±71	72±17
Insulina	247±15	174±6	233±40	150±24	142±59	15±7	25±15	157±16	111±36	103±38
Control db	255±49	303±46	329±57	358±87	308±68	264±41	221±44	262±83	205±39	227±51



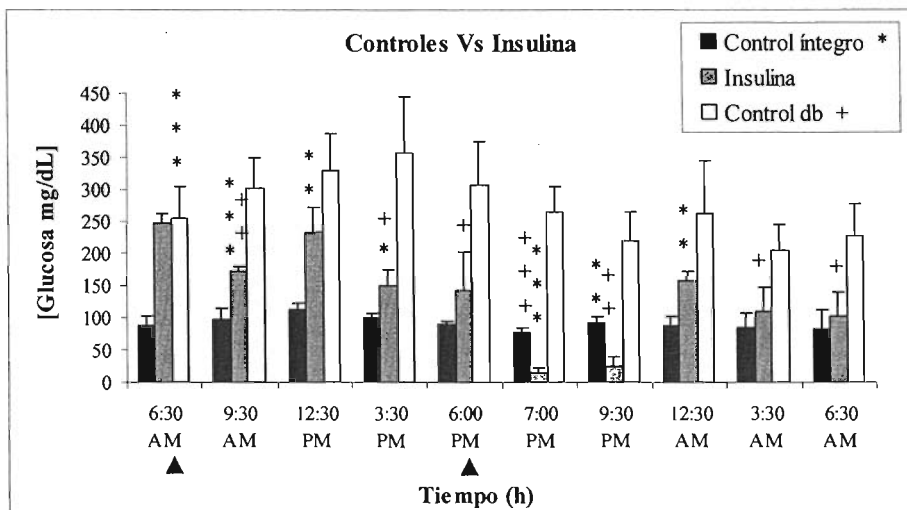
Gráfica 13. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con Insulina, existe disminución de estos a las 9:30 AM. Después de la 2ª administración se observa una caída drástica de los valores de la [glucosa] hasta las 9:30 PM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)



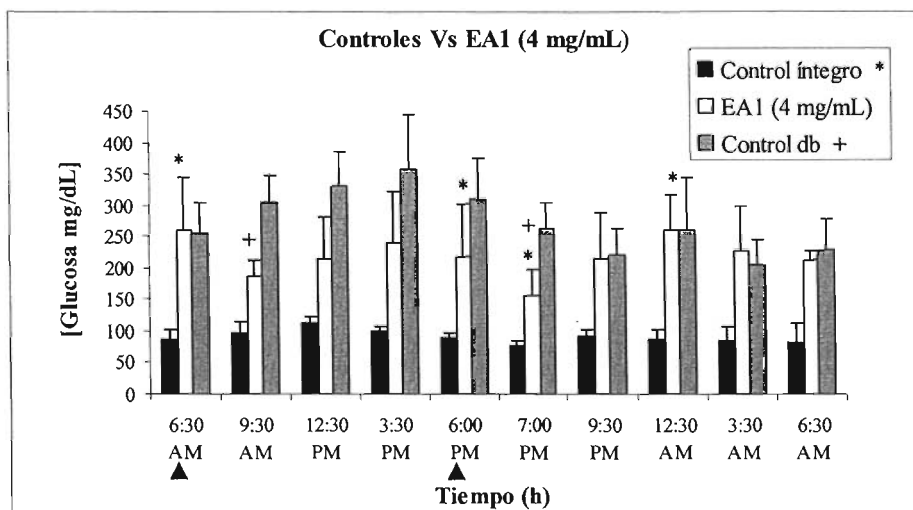
Gráfica 14. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con el EA1 (4 mg/mL), se observa oscilación en los valores de [glucosa], hay una disminución significativa de los valores después de las 3:30 AM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).



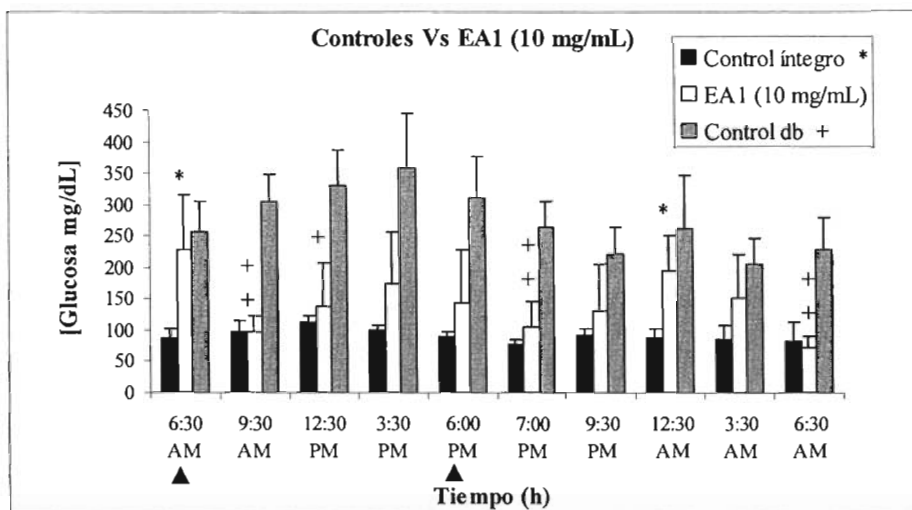
Gráfica 15. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con el EA1 (10 mg/mL), hay una disminución significativa de los valores de [glucosa] a las 9:30 PM y 3:30 AM. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).



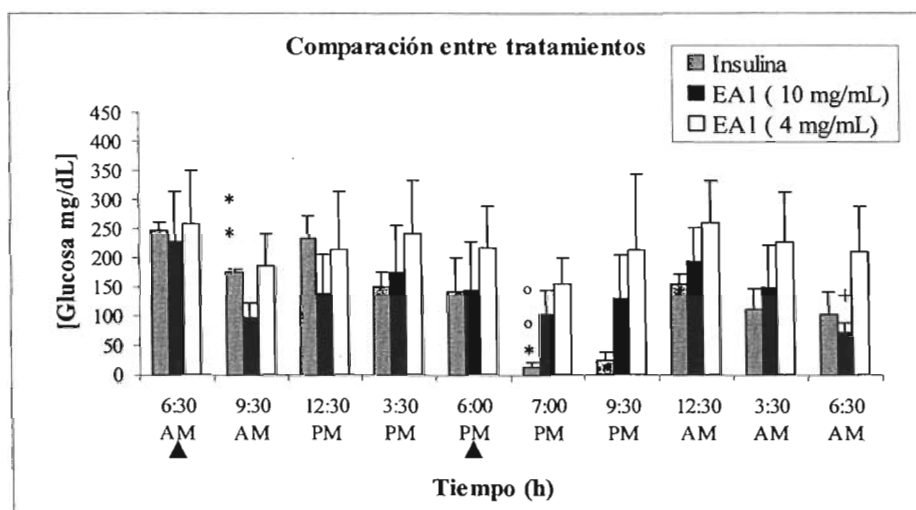
Gráfica 16. Las barras muestran los resultados obtenidos en el tratamiento con Insulina comparados con los controles. Después de la 1ª administración se observa una disminución significativa de los valores de [glucosa], se presenta diferencia con el control íntegro y el control db, después de la 2ª administración, existe una caída drástica de la [glucosa], sin embargo, a las 6 horas la [glucosa] se incrementa, manteniéndose dentro de los valores normales. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (**, ++), $P < 0.001$ (***, +++).



Gráfica 17. Resultados obtenidos con EA1 (4 mg/mL), comparado con los controles. Después de la 1ª y 2ª administración se observa un decremento significativo de los valores de [glucosa]. Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +)



Gráfica 18. Resultados obtenidos con EA1 (10 mg/mL), comparado contra los controles. Después de 1ª y 2ª administración hay diferencia significativa con el control db, debido a la disminución de los valores de [glucosa]. Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (+, +).



Gráfica 19. Se muestra la comparación entre los tratamientos. Hay diferencia significativa entre el EA1 (4 mg/mL) vs EA1 (10 mg/mL) (+) a las 6:30 AM. A las 7:00 PM hay diferencia significativa entre EA1 (4 mg/mL) vs Insulina (○). A las 9:30 AM y 7:00 PM hay diferencia significativa entre EA1 (10 mg/mL) vs Insulina (*). Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (**, ○○).

EXPERIMENTO 4

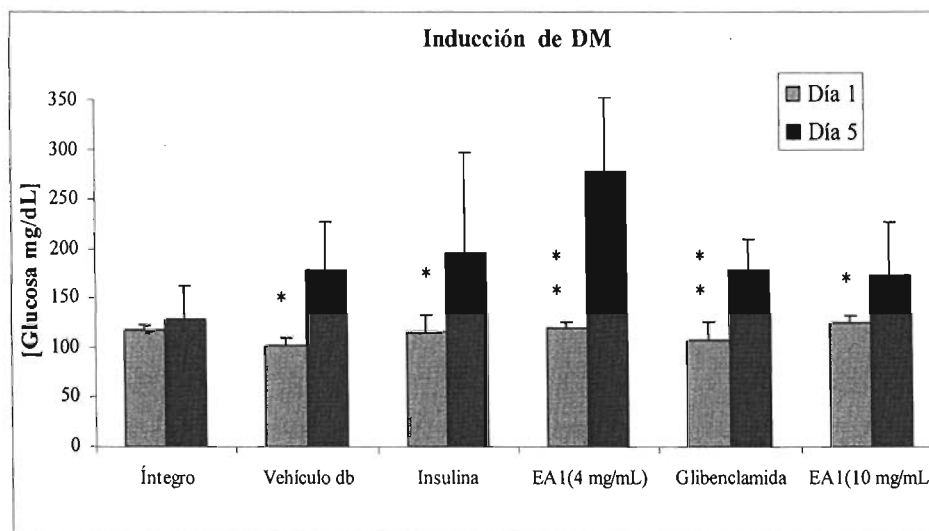
Tratamiento comparativo de EA de TiL con Insulina y Glibenclamida.

Para realizar este experimento es necesario inducir la DM en los animales a tratar, con el fin de comparar el efecto “antidiabético” del tratamiento con el EA1, Insulina y Glibenclamida. Los resultados se muestran en la tabla 13 y gráfica 20.

Tabla 13. Promedio de la concentración de glucosa antes y después de la inducción de DM.

Grupo	Concentración de Glucosa (mg/dL)	
	Pre-administración de STZ	Post-administración de STZ
	Día 1	Día 5
Íntegro*	116.7*	127.7*
Vehículo db	100.8	177.8
Insulina	115.2	196.7
EA1(4 mg/mL)	117.0	270.0
Glibenclamida	106.3	178.8
EA1 (10 mg/mL)	125.0	173.7

* El grupo íntegro no fue administrado con STZ.

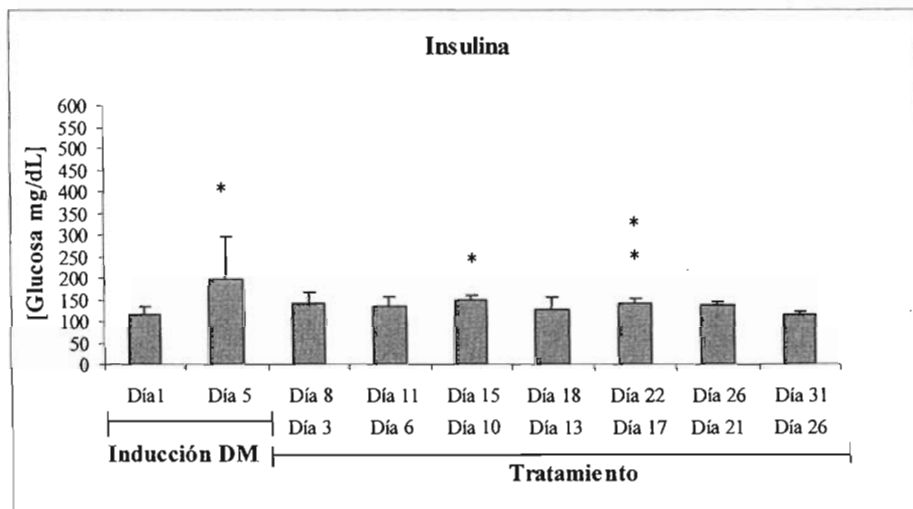


Gráfica 20. Después de la administración continua de STZ por 5 días hay incremento significativo en la [glucosa], con excepción del grupo íntegro. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**).

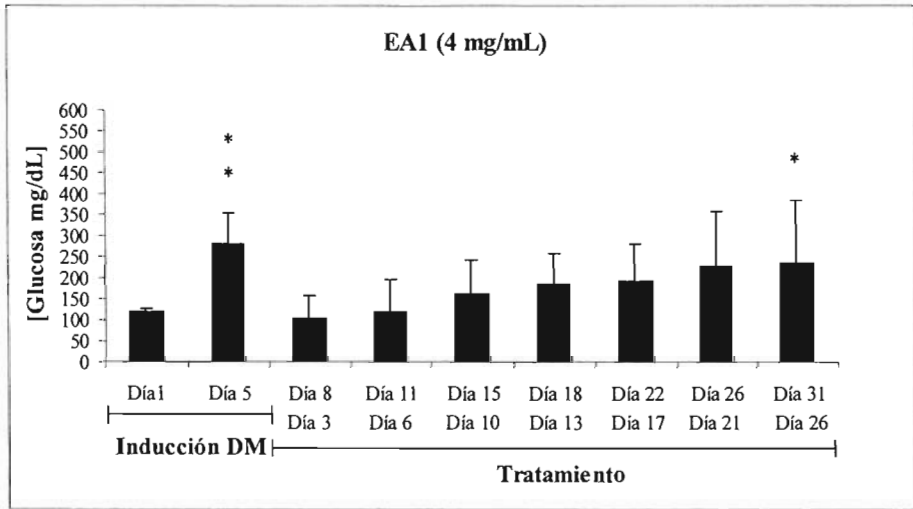
Después de la inducción, al 6° día, se inició el tratamiento con Insulina, Glibenclamida y el EA1 con dos concentraciones diferentes (4 y 10 mg/mL) en ratones diabéticos. El tratamiento tuvo una duración de 26 días, en los cuales se cuantificó la concentración de glucosa cada tercer día. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 14 y gráficas 21-29.

Tabla 14. Concentración de glucosa antes y durante el tratamiento, expresada como el $\bar{X} \pm DS$.

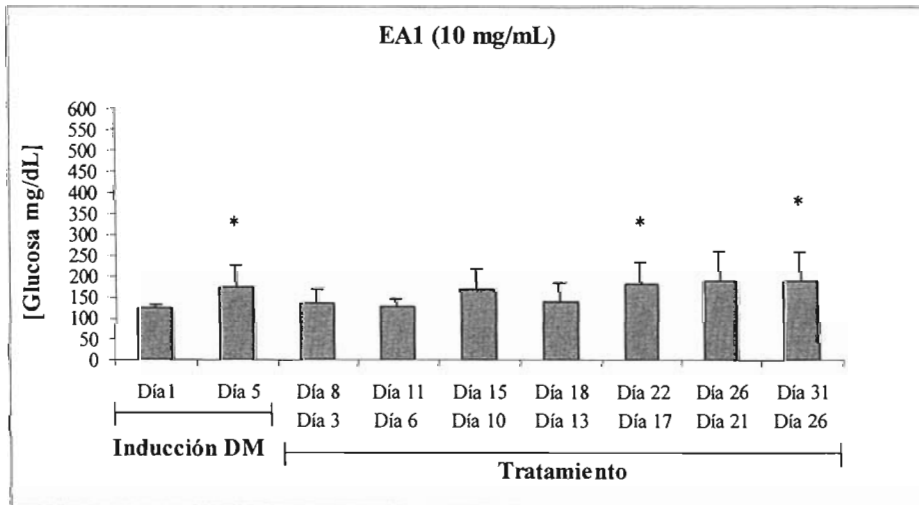
Grupo	Concentración de Glucosa (mg/dL)								
	Inducción de DM		Tratamiento						
	Día 1	Día 5	Día 8	Día 11	Día 15	Día 18	Día 22	Día 26	Día 31
			Día 3	Día 6	Día 10	Día 13	Día 17	Día 21	Día 26
Íntegro	117±12	128±13	122±14	123±17	112±13	111±10	121±13	109±12	98±6
Vehículo db	101±9	178±49	200±126	213±125	278±104	337±109	369±71	470±94	467±85
Insulina	115±17	197±101	141±26	134±20	147±10	126±28	142±9	136±7	115±9
EA1 (4 mg/mL)	119±8	279±75	103±55	120±75	161±81	184±75	194±87	226±131	233±152
Glibenclamida	106±20	179±31	299±51	316±165	403±47	452±33	427±26	514±29	537±66
EA1 (10mg/mL)	125±6	174±55	133±37	128±17	170±49	140±44	179±57	190±71	189±68



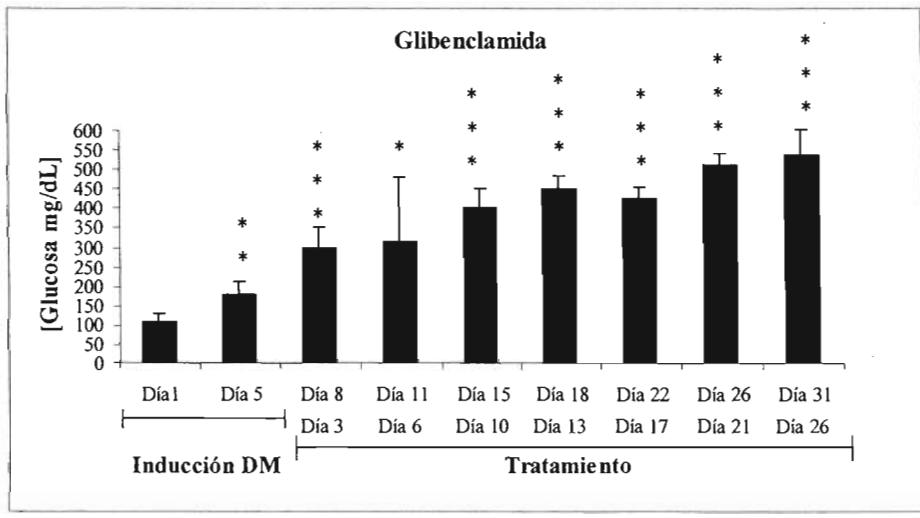
Gráfica 21 Las barras muestran la comparación de los valores de la glucosa al inicio y final del tratamiento con Insulina, existe disminución de la [glucosa] desde el tercer día del tratamiento en el día 10 y 17 del tratamiento, existe un incremento de los valores de glucosa, después de esto, se mantienen los niveles constantes. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**).



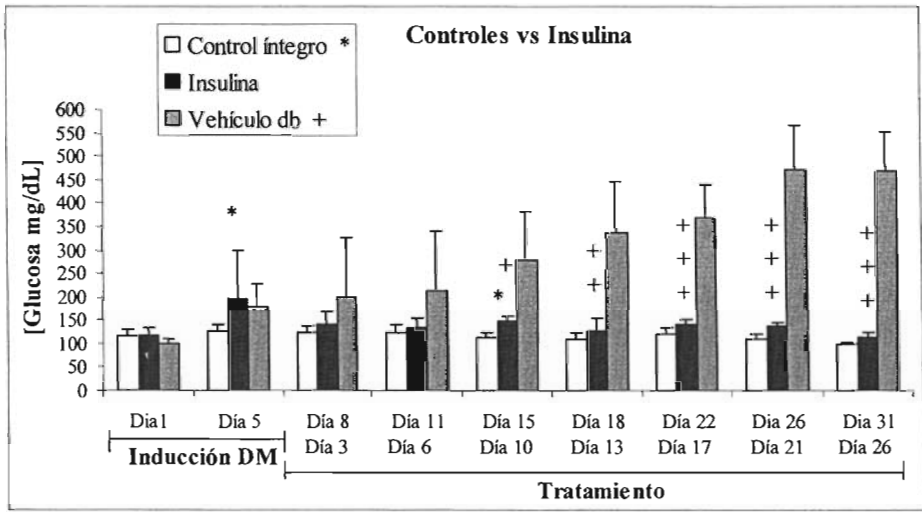
Gráfica 22. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con el EA1 (4 mg/mL), se observa que los valores de glucosa aumentan con el transcurso del tiempo. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).



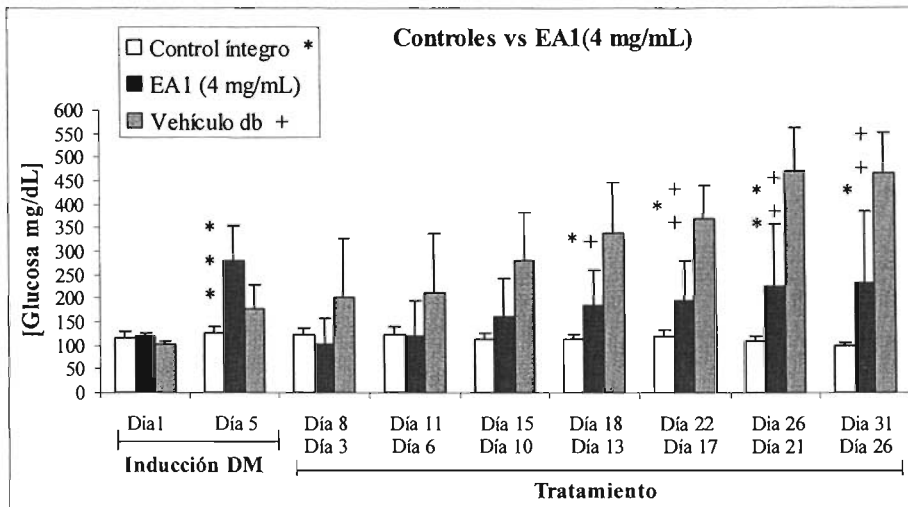
Gráfica 23. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con el EA1 (10 mg/mL), existe diferencia significativa al 5° día, pero a partir del tercer día del tratamiento, los valores de glucosa permanecen constantes, hasta los últimos días en donde existe un aumento. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).



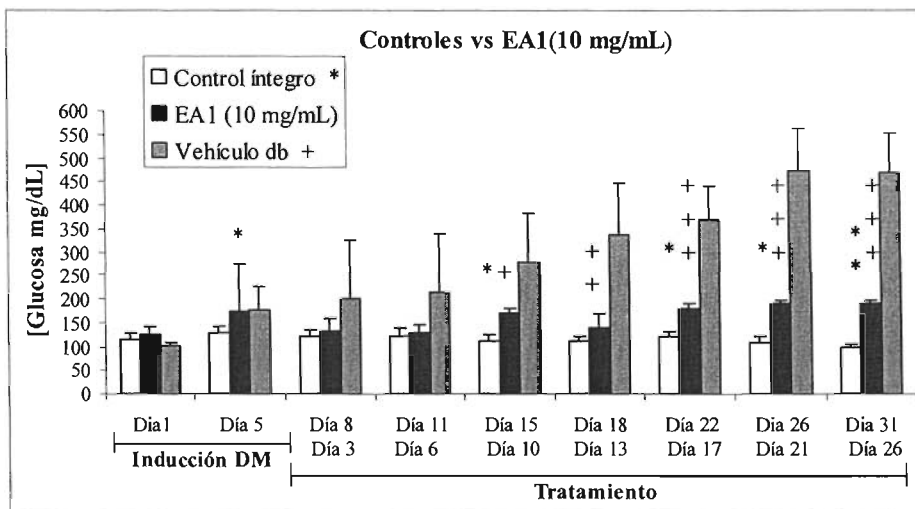
Gráfica 24. Comparación de la [glucosa] al inicio y final del tratamiento con la Glibenclamida, se observa que los valores de glucosa aumentan en el transcurso del tiempo. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*).



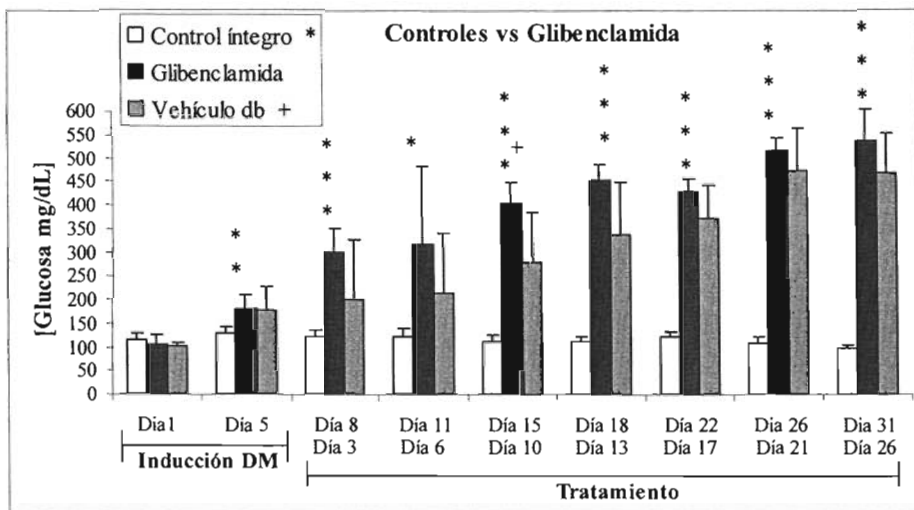
Gráfica 25. Las barras muestran los resultados obtenidos en el tratamiento con Insulina comparados con los controles. En el día 5, se observa un incremento en la [glucosa], a partir del tercer día del tratamiento, no existe diferencia significativa con el control íntegro, se observa que en el día 10 hay un incremento de la [glucosa], pero después del día 13 los valores se mantienen constantes y dentro de los valores normales. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (++) , $P < 0.001$ (+++).



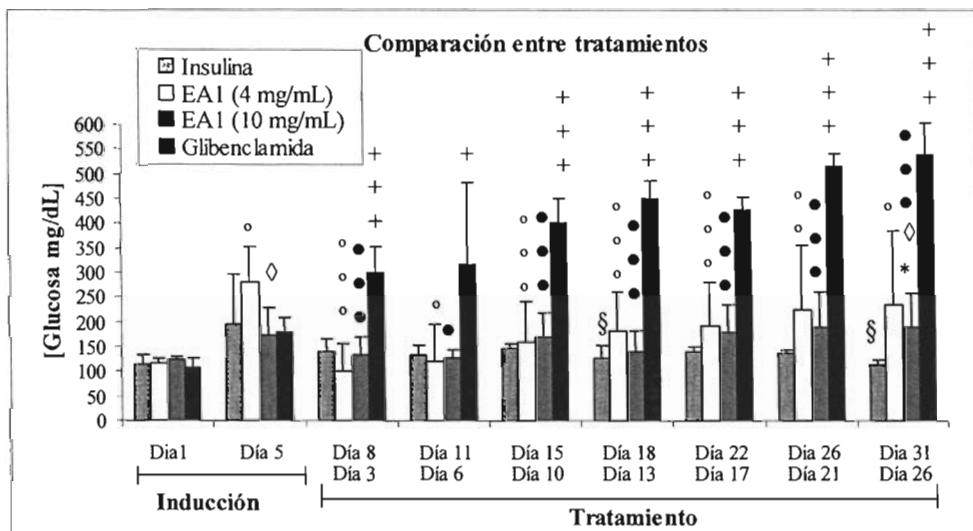
Gráfica 26. Las barras muestran los resultados del tratamiento con el EA1 (4 mg/mL), comparados con los controles. En el día 5, se observa un marcado incremento en la [glucosa], al tercer día del tratamiento, hay disminución de los valores de glucosa, sin embargo en el transcurso del tiempo aumenta gradualmente la [glucosa]. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (**, ++), $P < 0.001$ (***)



Gráfica 27. Resultados obtenidos del tratamiento con el EA1 (10 mg/mL), comparados con los controles. En el día 5, existe diferencia significativa con el control íntegro, al tercer día del tratamiento, hay disminución de la [glucosa], sin embargo, a partir del día 10, hay incremento significativo de la [glucosa]. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (**, ++), $P < 0.001$ (+++)



Gráfica 28. Resultados obtenidos del tratamiento con Glibenclamida, comparados con los controles. Al 5° día, hay diferencia significativa con el control íntegro, a partir del tercer día del tratamiento, hay incremento gradual de la [glucosa]. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

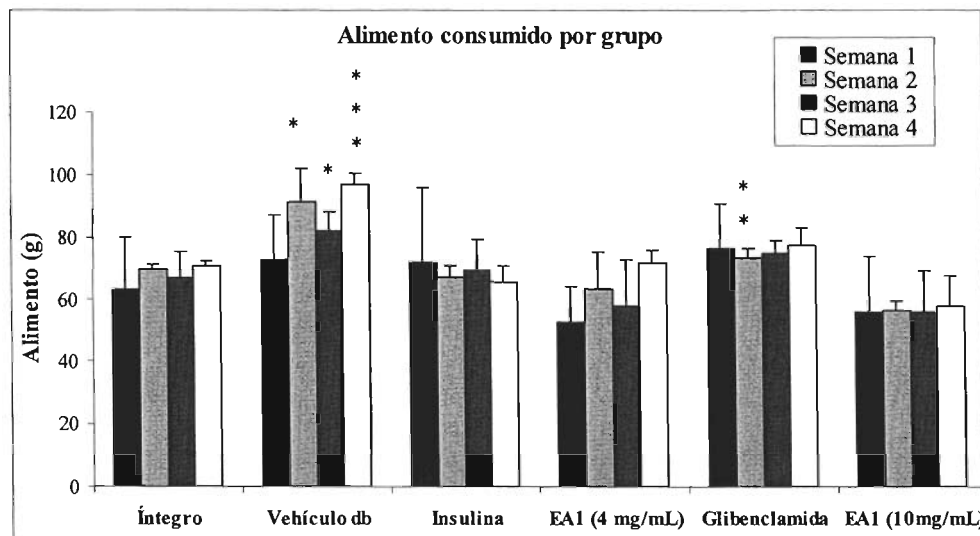


Gráfica 29. Se muestra la comparación de resultados entre los tratamientos. EA1 (4 mg/mL) vs EA1 (10 mg/mL) (◊), EA1 (10 mg/mL) vs Glibenclamida (●), EA1 (4 mg/mL) vs Glibenclamida (○), Glibenclamida vs Insulina (+), EA1 (10 mg/mL) vs Insulina (*), EA1 (4 mg/mL) vs Insulina (§). Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*, +, o, ●, ◊, §), $P < 0.01$ (○○), $P < 0.001$ (+++, ○○○, ●●●).

Se cuantificó el alimento, agua y el peso de los ratones por grupo cada tercer día durante los 31 días que duró el tratamiento. Los resultados se presentan en las tablas 15, 16, 17 y en las gráficas 30, 31 y 32.

Tabla 15. Alimento consumido por grupo durante las cuatro semanas de estudio. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$.

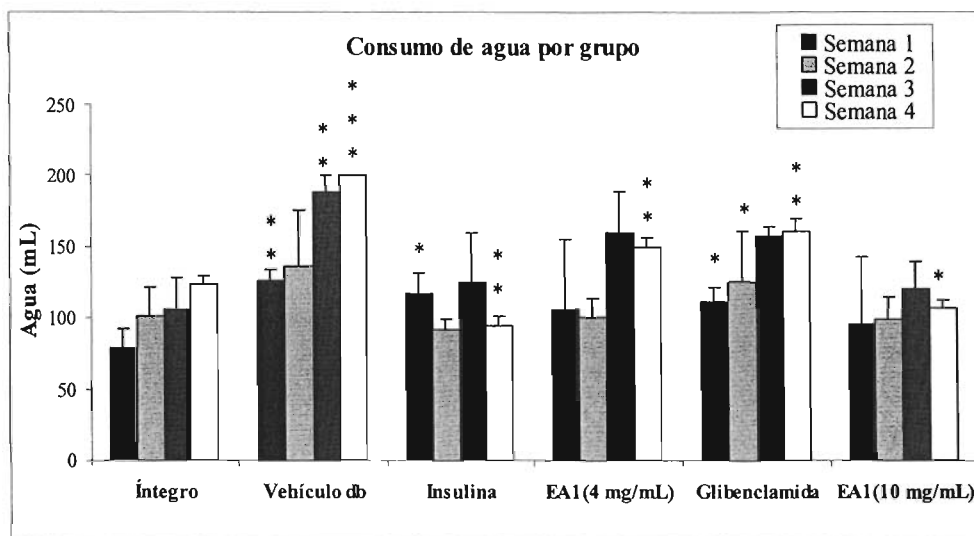
Grupo	Alimento (g)			
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Íntegro	62.8±17	69.7±1	66.3±9	70.6±1
Vehículo db	72.7±14	91.1±11	81.9±6	97.0±3
Insulina	71.5±24	66.9±4	69.2±10	65.3±5
EA1 (4 mg/mL)	52.6±12	63.1±12	57.8±15	71.4±4
Glibenclamida	76.2±15	73.4±3	74.8±4	77.3±6
EA1 (10mg/mL)	55.5±18	56.2±3	55.8±13	57.5±10



Gráfica 30. Consumo de alimento de todos los grupos comparados con el grupo íntegro. Las barras muestran que el grupo íntegro consumió aproximadamente la misma cantidad de alimento durante las 4 semanas, el vehículo db, muestra un aumento significativo en el consumo de alimento a partir de la 2ª semana. El grupo de Insulina, EA1 (4 y 10 mg/mL) se comportaron de forma similar al íntegro, en el grupo con Glibenclamida hay un aumento significativo en el consumo de alimento en la 2ª semana del tratamiento. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

Tabla 16. Consumo de agua por grupo durante las cuatro semanas de estudio, los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$.

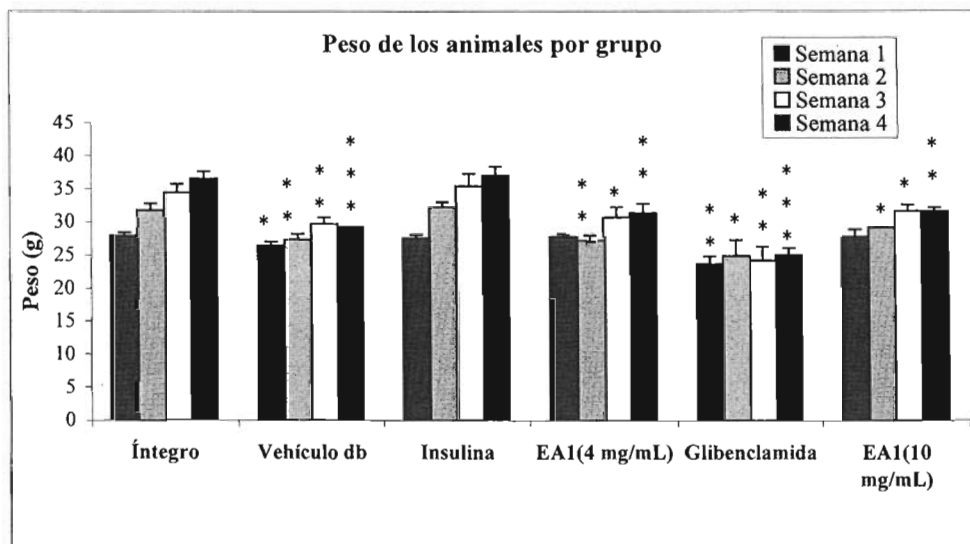
Grupo	Agua (mL)			
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Íntegro	78.67±14	101±21	106±22	124±5
Vehículo db	126±8	136±40	188.3±13	200
Insulina	116.67±15	91.7±8	124.7±35	94.3±7
EA1 (4 mg/mL)	106.33±49	100±14	160±29	150±7
Glibenclamida	111.67±9	125.3±36	157.3±7	161.3±9
EA1 (10mg/mL)	95.67±48	98.7±16	120.7±19	107.3±6



Gráfica 31. Consumo de agua de todos los grupos, comparados con el grupo íntegro. Las barras muestran que el grupo íntegro aumentó el consumo de agua de forma gradual en el transcurso de las 4 semanas, el vehículo db, presenta un aumento significativo, el grupo de Insulina presenta una disminución significativa en la 4ª semana, en el grupo EA1 (4 mg/mL) hay un aumento significativo en la 4ª semana, con Glibenclamida se observa aumento significativo a partir de la 2ª semana, el grupo EA1 (10 mg/mL) hay un aumento significativo en la 4ª semana. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

Tabla 17. Promedio del peso corporal durante las cuatro semanas de estudio, los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$.

Grupo	Peso (g.)			
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4
Íntegro	27.9±0.5	31.7±1	34.4±1	36.5±1
Vehículo db	26.4±0.6	27.3±0.9	29.7±0.9	29.3
Insulina	27.4±0.6	32.1±0.9	35.4±2	37.0±1
EA1 (4 mg/mL)	27.5±0.4	27.0±0.9	30.6±2	31.3±1
Glibenclamida	23.6±1	24.9±2	24.2±2	25.0±1
EA1 (10mg/mL)	27.5±1	28.9±0.1	31.6±1	31.6±0.6



Gráfica 32. Peso promedio de los animales por grupo, comparados con el control íntegro. Se muestra que en el grupo íntegro el peso aumenta normalmente durante el transcurso del tratamiento, en el vehículo db se muestra una disminución del peso significativa en las 4 semanas del tratamiento, el grupo de Insulina tiene un comportamiento similar al grupo íntegro, en el grupo del EA1 (4 mg/mL), Glibenclamida y EA1 (10 mg/mL) hay una disminución significativa del peso durante el tratamiento. Los resultados se expresan como el $\bar{X} \pm DS$. $P < 0.05$ (*), $P < 0.01$ (**), $P < 0.001$ (***)

RESULTADOS DE DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

Los resultados de diagnóstico histopatológico de los tejidos muestran lo siguiente:

Grupo íntegro. Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

Grupo vehículo db. Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

Grupo con Insulina. Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

Grupo con EA1 (4 mg/mL). Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

Grupo con EA1 (10 mg/mL). Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

Grupo con Glibenclamida. Diagnóstico Morfológico. Hígado, páncreas y riñones: Sin alteraciones.

9.0 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

CURVA DE CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA

Esta curva, se realizó para obtener una referencia de los valores de glucosa sanguínea que presentan los **ratones íntegros** a diferentes horas del día (gráfica 1). La cuantificación de la concentración de glucosa se realizó mediante el uso del glucómetro ACU-Chek Sensor. En esta gráfica, se observa una variación cíclica entre los datos obtenidos lo que demuestra que la [glucosa] varía de acuerdo a la hora del día, como lo hacen otras variables fisiológicas, por ejemplo la presión arterial. Estos resultados concuerdan con lo reportado en estudios previos (Kalkech Cordero, 2002).

Cabe mencionar que se realizó al mismo tiempo otra curva de concentración de glucosa mediante el uso de Tiras reactivas Dextrostix II para la cuantificación de la concentración de glucosa. En esta curva se observó oscilación en los valores de glucosa, sin embargo los datos obtenidos no son confiables ya que las lecturas se obtuvieron mediante el uso de una escala de colores, la cual solo maneja rangos de concentración (20, 40, 70, 110, 140, 180, 250, 400, 800 mg/dL) y en ocasiones el color de la tira se puede observar entre dos cuadros de color, teniendo que estimar el resultado, por lo tanto los datos obtenidos con este método no son “precisos”. El uso del glucómetro es mejor, comparado con el método de tiras reactivas ya que este método es práctico, preciso, rápido y eficaz. Además, los resultados no necesitan ser comparados con ninguna escala de colores, la cual puede ser difícil de interpretar por lo parecidas que pueden llegar a ser las coloraciones de las lecturas obtenidas. Por esta razón, en todos los experimentos se utilizó el glucómetro para determinar los valores de glucosa en sangre.

EXPERIMENTO 1

Se analizaron tres EA de TiL con el fin de encontrar cual de ellos es el que presenta mayor actividad hipoglucemiante en ratones íntegros.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante la prueba estadística de “t” de Student para muestras dependientes (gráficas 2, 3 y 4).

En la gráfica 2 (curva del EA1) se observa oscilación de los valores en el transcurso del tiempo. En la gráfica 3 (curva del EA2) se muestra el mismo comportamiento que con el EA1, lo que indica que el EA2 también es útil para el control de la [glucosa]. Con el EA3 (gráfica 4) se observa el mismo efecto que con el EA1 y EA2.

Posteriormente los resultados se compararon con el grupo control (gráficas 5, 6 y 7). En la gráfica 5 (Control Vs EA1), hay diferencia significativa a partir de las 9:30 AM (3 horas después de la 1ª administración), hasta el final de la curva, reportándose un efecto de **21 horas** de duración, en las cuales la concentración de glucosa se mantuvo por debajo de los valores que presentan los animales del grupo control.

En la gráfica 6 (Control Vs EA2), hay un comportamiento similar al presentado por el EA1, hay diferencia significativa con respecto al grupo control a partir de las 12:30 PM (6 horas después de la 1ª administración), hasta las 12:30 AM, teniendo el efecto **12 horas** de duración.

En la gráfica 7 (Control Vs EA3), el comportamiento que muestra es muy similar al del EA2, iniciando su efecto hipoglucemiante a partir de las 12:30 PM, hasta las 12:30 AM.

De acuerdo a lo encontrado anteriormente, se comprueba que los tres extractos poseen actividad hipoglucemiante. Donde el EA1, es el que presenta efecto 3 horas antes que los otros dos. Los efectos de los EA se caracterizan por presentarse en el horario de 12:30 PM a 12:30 AM. De esta forma se obtuvo un horario al cual se podría sugerir que se ingiera el EA de la semilla de *TiL* para el control de la DM en los pacientes con esta enfermedad.

Los resultados obtenidos indican que el EA1, es el más potente de los tres, debido a que su efecto se presenta tres horas antes que con los otros dos extractos, además, produce una mayor disminución de los valores de glucosa (diferencia significativa en su mayoría del 99 al 99.9 %) y la duración de su efecto es de **21 horas**.

En base a los resultados anteriores, se eligió al EA1, para realizar los siguientes experimentos y el tratamiento comparativo con Insulina y Glibenclámda.

EXPERIMENTO 2

Una vez obtenidas las curvas de 24 horas en ratones íntegros con la administración de los EA, obtuvimos la curva para Insulina (gráfica 8), donde se observa el clásico efecto de la disminución de la [glucosa], el cual es significativo durante las 24 horas, presentándose en 5 tiempos que no hay diferencia significativa, lo que permite plantear que el efecto de insulina es de menor duración (**6 horas**) comparado con el EA1 (21 horas).

Con los datos obtenidos en el experimento 1 se realizó una curva comparativa con Insulina y el grupo control (gráfica 9). Se observa que el punto inicial y final de ambas curvas convergen y que los puntos intermedios muestran oscilación que concuerda con los datos obtenidos previamente (gráfica 1). Hay reducción significativa de los valores de glucosa después de la 1ª administración (6:30 AM), hasta las 9:30 AM, la diferencia es del 99 al 99.9%, después de las 12:30 PM, la concentración de glucosa no presenta diferencia significativa, después de la 2ª administración, existe diferencia significativa a partir de las 6:30 PM hasta las 3:30 AM, lo que indica un efecto hipoglucemiante de 9 horas de duración. Comparando estos resultados con los del experimento anterior, gráfica 5 (Comparación del EA1 vs Control) y gráfica 6 (EA2 vs Control), se obtiene que en los tres casos existe efecto hipoglucemiante, con respecto al Control y que la duración del efecto es mayor con el EA1 (21 horas). La glucosa disminuye cada vez que la Insulina es administrada, sin embargo, después, de 6 a 9 horas el efecto desaparece, regresando a los valores normales.

Comparando el efecto entre tratamientos se observa que existe diferencia significativa entre Insulina y el EA1, a partir de las 6:30 AM hasta las 9:30 AM, en donde la [glucosa] se reduce rápidamente con la administración de Insulina, lo que no sucede con el EA1 (gráfica 10). El efecto del EA1 aparece de 3 horas después de su administración, disminuyendo

significativamente la [glucosa], efecto que se mantiene por 21 horas, en cambio con la Insulina, después de su administración se presenta el efecto inmediatamente, disminuye la [glucosa], por 6 horas y después de este tiempo, se incrementan los valores de glucosa.

En la gráfica 11, se muestran las diferencias significativas entre Insulina y el EA2 después de la 1ª administración de Insulina (6:30 AM) y a las 3 horas de la 2ª administración. Se observa que la tendencia de la [glucosa] es similar a la de la gráfica 10, pero con [glucosa] mayores a las presentadas con el EA1.

Cabe mencionar que se realizaron al mismo tiempo dos curvas más con el EA1 y EA2 simultáneamente a la curva de Insulina reportada en este experimento, estas dos curvas sirvieron para demostrar la estabilidad de los EA.

De acuerdo a los resultados obtenidos con esta serie de experimentos, se decidió utilizar el EA1 como el EA con mejor efecto hipoglucemiante y entonces procedemos a demostrar si este efecto, también es antidiabético.

EXPERIMENTO 3

Retomando el objetivo, decidimos realizar un estudio piloto con la administración del EA1 e Insulina en ratones diabéticos. Esta DM se indujo con STZ. En la gráfica 12, se observa que los valores de glucosa aumentan considerablemente, existiendo diferencia significativa entre los valores de glucosa del Día 1 (antes de la administración de STZ) y el día 5 (después de la administración de STZ por 5 días continuos), con lo cual se comprueba que los ratones son diabéticos. En el caso del grupo control íntegro, se observa que no existe diferencia significativa, por lo tanto este grupo de animales no es diabético. Una vez que se tienen los ratones diabéticos, se inicia la curva comparativa de 24 horas entre el EA1 e Insulina. En este experimento se evaluaron diferentes concentraciones del EA1 (4 y 10 mg/mL), con objeto de estudiar el efecto “antidiabético” que ambas concentraciones producen.

Se observa en las gráficas 13, 14 y 15 la comparación de los valores de glucosa al inicio y al final del tratamiento realizado. En el tratamiento con Insulina, se comienza teniendo un promedio de los valores de glucosa de 247 mg/dL, después de la 1ª y 2ª administración existe una disminución de los valores, obteniéndose al final del tratamiento una concentración de glucosa de 103 mg/dL. En el tratamiento con EA1 (4 mg/mL) se inicia con valores de 260 mg/dL de glucosa que disminuyen gradualmente hasta las 7:00 PM, sin embargo, a partir de las 9:30 PM, existe un aumento de la concentración de glucosa, obteniéndose al final del tratamiento valores de 252 mg/dL. En el tratamiento con EA1 (10 mg/mL), la concentración de glucosa inicial es de 229 mg/dL, durante el transcurso del tratamiento los valores oscilan, pero disminuyen, manteniéndose dentro de los valores normales, al final del tratamiento la concentración de glucosa es de 72 mg/dL.

En la curva con Insulina comparada con el control íntegro y db (gráfica 16), se observa que hay diferencia significativa al inicio del tratamiento con respecto al grupo control íntegro, después de la 1ª administración, se observa disminución significativa de la [glucosa] comparada con el control db, sin embargo, los valores de glucosa aun están por arriba de los valores normales (Control íntegro), después de la 2ª administración se observa una caída drástica de los valores de glucosa provocando hipoglucemia en todos los ratones del grupo, los cuales presentaron nerviosismo e incluso uno de ellos presentó convulsiones, a este último se le administró solución de glucosa anhidra al 5% para elevar los valores de glucosa. Después de 6 horas de la 2ª administración, aumentan los valores de glucosa.

Concluyendo con esta gráfica se observa que el control db presenta una [glucosa] más elevada al del grupo con Insulina el cual disminuyó significativamente los valores de glucosa, por último el grupo íntegro no presenta cambios significativos en la [glucosa].

En la curva del EA1 (4 mg/mL) comparada con los controles (gráfica 17), al inicio no existe diferencia significativa con el grupo db y si existe con el grupo íntegro, se observa, que la [glucosa] con el EA1 (4 mg/mL) disminuye, pero no de la misma forma que con la Insulina.

En la curva del EA1 (10 mg/mL) comparada con los controles (gráfica 18), se observa disminución significativa de los valores glucosa, después de la 1ª y 2ª administración, permaneciendo dentro de los valores “normales”.

En la gráfica 19, se muestra la comparación entre tratamientos, se observa que existe diferencia significativa entre el EA1 (4 mg/mL) y el EA1 (10 mg/mL) a las 24 horas del tratamiento, el EA1 (10 mg/mL) produce un decremento de la concentración de glucosa, permaneciendo dentro de los valores normales a diferencia del EA1 (4 mg/mL) con el cual los valores de glucosa permanecen por arriba de los valores normales. Comparando el tratamiento con Insulina y el EA1 (10 mg/mL), existe diferencia significativa después de la 1ª y 2ª administración, debido a que el efecto producido por la Insulina es rápido, comparado con el efecto que producen los extractos y además, es más potente, ya que en el tratamiento con Insulina los valores de glucosa disminuyen significativamente, alcanzando valores muy bajos (15 a 25 mg/dL), un efecto similar se observa al comparar el tratamiento de Insulina con el EA1 (4 mg/mL) después de la 2ª administración.

Debido al efecto hipoglucemiante producido por la Insulina en los animales, se decidió modificar la dosis de Insulina durante el tratamiento final, para proteger a los animales de estudio y evitar así el riesgo de hipoglucemia. Por otro lado se obtuvo que el efecto observado con el EA1 (4 mg/mL) es menor, comparado con los otros dos tratamientos.

EXPERIMENTO 4**Tratamiento comparativo del EA de *TiL* con Insulina y Glibenclamida.**

Para realizar este estudio, fue necesario inducir la DM en los ratones. Se observa en la tabla 13 y gráfica 20, que hay aumento significativo de los valores de glucosa entre el Día 1 (pre-administración de STZ) y el día 5 (post-administración de STZ) en todos los grupos, excepto el grupo íntegro (Sin inducción de DM), con estos resultados se comprueba que los ratones son diabéticos (excepto el grupo íntegro). Cuando los ratones fueron diabéticos (6° día), se inició un tratamiento comparativo del EA de *TiL* (4 y 10 mg/mL) con Insulina y Glibenclamida.

En la tabla 14 se muestra la concentración de glucosa cuantificada cada tercer día a las 18:00 horas durante el tratamiento de 26 días. En las gráficas 21, 22, 23 y 24 se observan los resultados obtenidos con el uso de la prueba t de Student pareada, en estas gráficas se observa la comparación de los valores de la glucosa al inicio y final de cada tratamiento. En la gráfica 21 (Insulina), se observa que al final del tratamiento la glucosa se mantiene dentro de los valores normales. En las gráfica 22 del EA1 (4 mg/mL) y gráfica 23 del EA1 (10 mg/mL), se observa que al final del tratamiento los valores de glucosa poseen diferencia significativa con respecto al inicio del tratamiento, es decir en ambos tratamientos la concentración de glucosa se encuentra por arriba de los valores iniciales. En la gráfica 24 (Glibenclamida), los valores de glucosa aumentaron en el transcurso del tiempo y al final del tratamiento existe una diferencia significativa del 99.9%.

En las graficas 25, 26, 27 y 28 se realiza la comparación de los tratamientos contra los controles (íntegro y vehículo db). En la gráfica 25 se observa la comparación del tratamiento con Insulina, se muestra un incremento en la concentración de glucosa en el día 5, después, de la inducción de la diabetes, donde se comprobó que los ratones son diabéticos. A partir del tercer día de tratamiento, hay una disminución de los valores de glucosa estando estos dentro de los valores normales, en el día 10 hay incremento de concentración de glucosa, pero después del día

13 los valores disminuyen gradualmente con el tiempo y se mantienen dentro de los valores normales, existiendo diferencia significativa con el vehículo db. En la gráfica 26 se muestran los resultados del tratamiento con el EA1 (4 mg/mL), comparados con los controles, se observa al tercer día del tratamiento, una disminución de los valores de glucosa, sin embargo, a partir del día 13 hasta el final del tratamiento, aumentan gradualmente existiendo diferencia significativa con el control íntegro y el Vehículo db, es decir los valores se encuentran dentro de un rango que esta por arriba de los valores “normales”, pero por debajo de los valores obtenidos con el Vehículo db. Por lo tanto, se obtiene que el EA1 (4 mg/mL) disminuye los valores de glucosa, pero no lo suficiente para mantenerse dentro de los valores “normales”. En la gráfica 27 se muestran los resultados del EA1 (10 mg/mL), comparados con los controles, se observa que al tercer día del tratamiento, hay disminución de los valores de glucosa, sin embargo, estos aumentan gradualmente con el tiempo y a partir del día 10 hasta el final del tratamiento, existe diferencia significativa con el control íntegro y con el vehículo db. Por lo tanto el EA1 (10 mg/mL) disminuye los valores de glucosa, sin llegar a los valores normales, pero se obtienen valores de glucosa al final del tratamiento más bajos que con el EA1 (4 mg/mL). En la grafica 28 se muestran los resultados del tratamiento con Glibenclamida comparado con el control íntegro y el Vehículo db, se observa que los valores de glucosa aumentan gradualmente con el tiempo y a partir del tercer día hasta el final de tratamiento existe diferencia significativa con el control íntegro. La Glibenclamida fue utilizada como control positivo debido a la capacidad que tiene de estimular a las células β pancreáticas para secretar insulina. Al inducir la DM con STZ, se promueve la necrosis parcial e irreversible de las células β con el fin de producir los síntomas de la enfermedad. Por lo tanto se esperaba que la Glibenclamida actuara sobre las células β que no sufrieron necrosis, sin embargo para que el fármaco sea efectivo se requiere que exista un número mínimo de células β viables, lo que no ocurrió en nuestro estudio, debido a que no se observó efecto hipoglucemiante con este fármaco. Por lo anterior se demuestra que la DM inducida fue

muy agresiva causando la necrosis total de las células β , cuando no existen células β viables existe DM1 o casos severos de DM2.

En la gráfica 29 se muestra la comparación de resultados entre los tratamientos, se observa que el EA1 (4 mg/mL) vs EA1 (10 mg/mL), presentan diferencia significativa el día 26 (final del tratamiento), por lo tanto, ambos se comportaron de forma similar, sin embargo, el EA1 (10 mg/mL) posee un mayor efecto en la disminución de los valores de glucosa que el EA1 (4 mg/mL). Al comparar EA1 (10 mg/mL) vs Insulina existe diferencia significativa solo al final del tratamiento (día 26), por lo tanto, el EA1 (10 mg/mL) se comporto de forma similar a la Insulina, durante el transcurso del tratamiento, pero la Insulina presenta mayor disminución de los valores de glucosa que el EA1 (10 mg/mL). Al comparar el EA1 (4 mg/mL) vs Insulina existe diferencia significativa en el día 13 y 26 del tratamiento, por lo tanto, EA1 (4 mg/mL) se comporto de forma similar a la Insulina, pero esta, presenta un mayor efecto hipoglucemiante que el EA1 (4 mg/mL), al comparar el efecto de la Glibenclamida contra la Insulina, EA1 (10 mg/mL) y EA1 (4 mg/mL), se observa que existe diferencia significativa durante los 26 días que duró el tratamiento, por lo tanto, la Glibenclamida no presento ningún efecto para disminuir los valores de glucosa.

Durante el transcurso del tratamiento se cuantificó el alimento, el agua y el peso de los animales por grupo cada tercer día, los resultados se muestran en las tablas 15, 16, 17 y en las gráficas 30, 31 y 32. Analizando las graficas se observa que el grupo íntegro consumió aproximadamente la misma cantidad de alimento y el consumo de agua aumento gradualmente, al igual que su peso durante el transcurso de las 4 semanas de tratamiento. Este es el comportamiento que deben seguir los animales “normales”.

Con el vehículo db, se observa que la cantidad de alimento consumido aumentó significativamente en comparación con el grupo íntegro, esto concuerda con uno de los síntomas característicos de los pacientes con DM, la polifagia. El consumo de agua en este grupo también aumentó significativamente y concuerda con otro síntoma característico de la diabetes, la

polidipsia. El peso de los animales de este grupo disminuyó significativamente en comparación con el grupo íntegro, lo que concuerda con otro síntoma clásico de DM, la pérdida de peso inexplicado, a pesar de consumir una cantidad mayor de alimento. Con esto se demuestra que nuestro modelo de DM, posee características similares a las presentadas en humanos.

Con el grupo de Insulina, se observa que el consumo de alimento y el peso de los animales no hay diferencia significativa en comparación con el grupo íntegro, solo en el consumo de agua hay una disminución significativa al inicio y al final del tratamiento. Por lo tanto, en el tratamiento con Insulina, los síntomas de polifagia y pérdida de peso corporal no se presentan.

Se observa que con el EA1 (4 mg/mL) y con el EA1 (10 mg/mL), que el comportamiento es similar, el consumo de alimento, de agua y el peso corporal disminuyeron en comparación con el grupo íntegro, por lo tanto, se observa que en el tratamiento con EA1 (4 mg/mL y 10 mg/mL), no se presentó polifagia ni polidipsia, solo la pérdida de peso corporal.

Con Glibenclamida, se observa que el consumo de alimento aumentó, hay diferencia significativa del consumo de agua en comparación con el grupo íntegro y el peso de los animales disminuyó significativamente, por lo tanto en este grupo se presentaron tres síntomas diabéticos polifagia, polidipsia y pérdida de peso. Por lo tanto, con este tratamiento no se observa diferencia con los animales que no tuvieron tratamiento (vehículo db).

RESULTADOS DE DIAGNÓSTICO HISTOPATOLÓGICO

Los estudios histopatológicos no revelaron el daño a los tejidos (Hígado, Páncreas y Riñones). A pesar de que estos estudios no mostraron cambios aparentes en los tejidos. Los ratones diabéticos (Grupo vehículo db y grupo con Glibenclamida) en las dos últimas semanas del tratamiento, mostraron diversos cambios físicos y de conducta. Los animales se mostraban agresivos, su pelaje se puso de un color amarillento y con piloerección, además, la pérdida de peso era evidente, sus ojos se tornaron opacos. Definitivamente su aspecto era de animales muy enfermos.

En México, existe un gran número de plantas descritas como agentes hipoglucemiantes en la medicina tradicional, sin embargo de este número, solo un pequeño grupo de ellas han sido estudiadas científicamente. El efecto hipoglucemiante del EA de *TiL* descrito en la medicina tradicional es confirmado mediante este estudio. El efecto farmacológico es menos potente que el de la Insulina pero con una mayor duración que el presentado por la Insulina. El mecanismo por el cual esta planta disminuye los valores de glucosa, parece ser independiente de la secreción de Insulina. Por lo tanto, nuestro estudio indica que el EA de *TiL*, posee un efecto hipoglucemiante significativo, en ratones normales y diabéticos. Además no muestra efectos tóxicos en las dosis usadas en este estudio. Para comprender mejor la actividad farmacológica se requieren hacer más estudios para conocer el mecanismo de acción e identificar los constituyentes activos, responsables del efecto.

10. CONCLUSIONES

- Se determinó la [glucosa] en ratones íntegros y diabéticos en el curso de 24 horas.
- El EA1 de semilla de *TiL* disminuye significativamente los valores de la [glucosa] en sangre a una dosis de 80 mg/kg con concentración de 10 mg/mL en ratones normales y diabéticos, este efecto fue similar al de la Insulina.
- Estos resultados sugieren que el EA de *TiL*, puede actuar siguiendo el mecanismo de la Insulina.
- Debido a la presencia nula de células β pancreáticas, la Glibenclamida no presentó efecto antidiabético.
- La ingesta de agua en ratones diabéticos, concuerda con lo reportado en la literatura para humanos.
- El consumo de alimento en ratones diabéticos, muestra que hubo polifagia, como la reportada en los humanos.
- Hubo disminución significativa del peso corporal como en humanos.

11. GLOSARIO

Ácido desoxirribonucleico (ADN). Proteína de doble hélice, compuesto por una serie de bases: timina, adenina, guanina y citosina, un azúcar furanoso y un grupo fosfato. En el ADN, se encuentra almacenada la información genética de los organismos.

Acidosis. Descenso del pH sanguíneo.

Animales Knockout. Modelos animales derivados de la eliminación dirigida de un gen concreto. La herramienta esencial para la aplicación de esta técnica deriva del empleo de las células embrionarias troncales, aisladas a partir de embriones durante las etapas iniciales de su desarrollo.

Animales Transgénicos. Modelos animales derivados de manipulación genética, El método utilizado es la microinyección pronuclear. Es una transferencia génica por inyección directa de ADN extraño (transgen), en un plásmido, el cual por microinyección se transfiere en un cigoto obtenido por fecundación "in vitro", posteriormente, el óvulo es implantado en los oviductos de hembras pseudopreñadas. El ADN microinyectado se integrará al azar en el genoma y se transmitirá a la descendencia del animal.

Ayuno. Ninguna ingesta calórica en por lo menos 8 horas.

Cetonemia Aparición de cuerpos cetónicos en sangre.

Cetonuria. Aparición de los cuerpos cetónicos en orina.

Cetosis. Es el exceso de cuerpos cetónicos en el organismo.

Cuerpos Cetónicos. Es el resultado de la transformación de los ácidos grasos durante la lipólisis. Los cuerpos cetónicos son ácido acetoacético, β -hidroxibutírico y acetona.

Edema. Aumento de volumen por retención de líquidos.

Glucemia. Es aparición de glucosa en sangre.

Gluconeogénesis. Síntesis de glucosa a partir de aminoácidos, glicerol, ácidos láctico o pirúvico.

Glucogenogénesis. Síntesis de glucógeno en el hígado y músculos estriados.

Glucogenólisis. Liberación de glucosa a partir del glucógeno.

Glucólisis. Proceso que tiene lugar en el citoplasma celular. Consiste en una serie de reacciones, que permiten la oxidación de una molécula de glucosa a dos de ácido pirúvico.

Glucosuria. Eliminación de glucosa a través de la orina.

Hemostasia. Es la respuesta del cuerpo humano a las lesiones de los vasos sanguíneos y a la hemorragia. Implica un esfuerzo coordinado entre las plaquetas y numerosas proteínas de la coagulación sanguínea (o factores), incluyendo al factor tisular, dando como resultado la formación del coagulo de la sangre.

Hiperfagia. Aumento de apetito, hambre excesiva.

Hiperglucemia. Concentración de glucosa en sangre por arriba de los niveles normales.

Hipertensión Arterial. Elevación de la presión arterial.

Hipertrigliceridemia o dislipidemia o hipercolesterolemia. Término empleado para referirse a los trastornos en los cuales hay un aumento en la cantidad de lípidos del organismo, como son el colesterol y los triglicéridos.

Hiperinsulinemia: Aumento de la concentración de insulina en sangre.

Hipoalbuminemia. Disminución de la concentración de albúmina en sangre.

Hipoglucemia. Valores de glucosa sanguínea.

Hipoglucemiante. Sustancias que producen una disminución de los valores de glucosa por debajo de los niveles normales.

Hipovolemia. Decremento de la cantidad de líquidos en el organismo. Deshidratación por diarrea, vómito, sudoración excesiva, hemorragias.

Lipogénesis. Síntesis de grasas neutras o triglicéridos en el tejido celular subcutáneo y adiposo.

Lipólisis. Hidrólisis de triglicéridos en ácidos grasos libres y glicerol.

Ocasional. Cualquier hora o día.

Polidipsia. Sed intensa.

Polifagia. Aumento de apetito.

Poliuria. Pérdida de agua y de electrolitos del fluido tubular, por lo que existe incremento en la frecuencia de orinar.

Uremia. Incremento de los valores de urea en sangre.

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Robbins, S.L, Cotran S.R. Patología estructural y funcional Vol.II, 4ª Ed. Madrid, Interamericana-McGraw-Hill Interamericana 1991 pp. 1046-1060.
2. Secretaría de Salud. Programa de Acción:Diabetes Mellitus 1ª Ed. México, D.F 2001 pp.7-34.
3. Instituto Mexicano del Seguro Social. Calidad de vida en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo2. Rev. Med IMSS 2004; 42 (2): 109-116.
4. R Maiti, D. Jana, U.K. Das. Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of Tamarindus indica in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 92 (2004) 85-91
5. Cristian, H.A. Patología Médica Fundamental y Práctica. Ed. Kraff Buenos Aires, 1948 pp. 1119.
6. Figuerola Daniel. Diabetes 2ª Ed. Salvat Editores, S.A. Barcelona, 1990; pp. 1-5, 93-96.
7. Landeros Olvera, Erick Alberto. El panorama epidemiológico de la Diabetes Mellitus. Revista Mexicana de Enfermería Cardiológica 2000; 8 (1-4): 56-59.
8. Rubin E, Farber J. Patología. Ed. Médica Panamericana. México 1990 pp.733, 1050-1058.
9. Greenspan, F.S, Baxter, J.D. Endocrinología Básica y Clínica. Ed. El Manual Moderno México 1995 pp. 661-701.
10. Medline Medical. Encyclopedia Diabetes and Endocrinology. 2003.
11. Lehninger Albert, Nelson David. Principles of Biochemistry 3ª Ed. Library of Congress Cataloging-in-Publicatio Data. USA 2000. pp 882-885.
12. Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. Harrison's Principles of Internal Medicine, 13ª edición. Mc-Graw-Hill, 1995: 1.979-1.999.
13. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2000;23(suppl 1):S4-S19.
14. Gavin JR Alberti KG Davidson MB y cols. Reporte del comité de expertos en diagnóstico y clasificación de Diabetes Mellitus. Diabetes Care 2003; 26(1) S5 – S20.
15. Avances en la comprensión y el manejo de la Diabetes Mellitus.
<http://www.iladiba.com.co/upr/1997/No31997/HTM/diabe.asp>
16. Clasificación y diagnóstico de la Diabetes Mellitus. CETIFAC Bioingeniería.
<http://pcvc.sminter.com.ar/cvirtual/cvirtesp/cientesp/epesp/epm0009c/cruizm/cruizm.htm>

17. Diagnostico y clasificación de la Diabetes Mellitus tipo 1 y 2.
<http://www.diabetesjuvenil.com>
18. Mancillas L.G, Gómez F.J, Rull Rodrigo J.A. Diagnostico y clasificación de la Diabetes Mellitus, conceptos actuales. Revista de Endocrinología y Nutrición. 2002; 10 (2): 63-68.
19. Villanueva Víctor José. Complicaciones Agudas de la Diabetes Mellitus. Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina, Agosto 2003; 130: 19-24.
20. Guyton-Hall. Fisiología médica. Editorial: McGraw-Hill Interamericana 1997 pp.736.
21. S.C. Anderson y S. Cockayne. Química Clínica, Interamericana McGraw-Hill. 1995. pp. 148, 149, 152, 161, 162, 287.
22. The American Diabetes Association. Diagnostico y tratamiento de la Diabetes Mellitus.
<http://www.diabetes.org/>
23. Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-1994, Para la Prevención, Tratamiento y Control de la Diabetes Mellitus.
24. Bressler R, Johnson DG. Pharmacological regulation of blood glucose levels in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Archives of Internal Medicine, 1997;157:836-848.
25. Isselbacher, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. Harrison Principios de Medicina interna, 12ª edición. Mc-Graw-Hill, 1995: 2030-2036.
26. Benítez Llanes Orestes, Gómez Barry Hilario, Castañer Moreno Juan. Nefropatía diabética como forma de presentación de la Diabetes Mellitus. Rev Cubana Med 2000; 39(3):195-8.
27. Masahiko, Kazunori, Hidenori, Mayumi, Yasuhito. Diabetes alters neurite regeneration from mouse retinal explants in culture. Neuroscience Letters 275 (1999) 175-178.
28. Halim Eshrat M. Ali Hussain. Reversal Of Diabetic Retinopathy In Streptozotocin Induced Diabetic Rats Using Traditional Indian Anti-Diabetic Plant, Azadirachta Indica (L.). Indian Journal of Clinical Biochemistry, 2002, 17 (2) 115-123.
29. Lima Gómez Virgilio, Mora Pérez Elizabeth. Causas de deficiencia visual en pacientes diabéticos mexicanos. Revista de Endocrinología y Nutrición 2001:9(4) Oct-Dic.176-180.
30. Cotran - Kumar – Collins. Patología estructural y funcional. Editorial. McGraw-Hill Interamericana. Sexta edición. Mexico 1998.
31. Murray Robert-Mayes Peter-Granner. Bioquímica de Harper. Editorial: El manual moderno. México 1997 pp.968.
32. Goodman Gilman Alfred. Goodman & Gilman's Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica. 8ª Ed. McGraw-Hill Interamericana . Mexico 1996 pp. 1603-1607.

33. Mayer B. Davidson. *Diagnosis and Treatment*. 4ª Edición. Editorial. Library of Congress Cataloging In Publication Data. USA 1998 pp.127-132.
34. Belchetz p, Hammond P. *Mosby's Color Atlas and Text of Diabetes and Endocrinology*. Editorial Mosby. España 2003. pp. 37-44.
35. Oviedo Mota Mario Alberto, Espinosa Larrañaga Francisco, Reyes Morales Hortensia, Trejo y Pérez Juan Antonio. Guía clínica para el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med IMSS* 2003; 41 (Supl): S27-S46 MG.
36. Slobodanka Klein. El uso de animales en la investigación biomédica. *Revista de Divulgación Científica y Tecnológica de la Asociación Ciencia Hoy*. Instituto de Oncología A. H. Roffo, UBA; Vol. 10 - Nº 55 - Febrero/Marzo 2000.
37. Alberti KGMM. El diagnóstico y la clasificación de la diabetes mellitus. *Diabetes Voice* 1999;44(2):35-41.
38. Hugues Hernandorena Beatriz, Rodríguez González Julio César, Marrero Rodríguez Ma.Teresa. Animales de de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. Instituto Nacional de Endocrinología. *Rev Cubana Endocrinol* 2002;13(2):160-8
39. Boney A, Gulliam DJ. Animals models of IDDM. En: Pickup C, Williams G. *Textbook of diabetes*. 2d ed. Blackwell Science, 1998:16.1-16.16.
40. Hugues Hernandorena Beatriz, Rodríguez González Julio César, Rodríguez García Julio César. Animales de laboratorio en la endocrinología: Biomodelos de la diabetes mellitus tipo 1. Instituto Nacional de Endocrinología. *Rev Cubana Endocrinol* 2001;12(3):168-77.
41. Mikio Ito, Yoichi Kondo, Akiko Nakatani, Koji Hayashi, Atsuhiko Naruse. Characterization of low dose streptozotocin-induced progressive diabetes in mice. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 9 (2001) 71-78.
42. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznan, Poland. *Physiol Res*. 2001; 50(6):537-46.
43. IARC. International Agency of Research on Cancer. *IARC Monographs on Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*. Chemicals, Industrial Processes and Industries Associates with Cancer Humans. Supplement 4. pp.292. Lyon, France: IARC, 1982
44. Parrotta, John A. *Tamarindus indica L. Tamarind*. SO-ITF-SM-30. New Orleans, 1990 Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. pp.519-523.
45. México desconocido No. 315 Mayo 2003.
46. Roman Ramos R, Flores Saenz F. J,Alarcón Aguilar F.J. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Journal of Ethnopharmacology* 48(1995) 25-32.

47. Syiem D; Syngai G; Khup P.Z. Hypoglycemic effects of *Potentilla fulgens* L. in normal and alloxan-induced diabetic mice. Journal of Ethnopharmacology 83 (2002) 55-61.
48. Kalkech Cordero Yazmín G. Evaluación del efecto hipoglucemiante de los extractos de *Tamarindus indica* Linn en ratones. Tesis de la Facultad de Química. UNAM 2002.
49. Explicación directa de la Dra. Martha Albores Velasco. Facultad de Química, División de Estudios de Posgrado, Edif.B Laboratorio 203
50. Chun-ling Ye ,Bing Shen, Xian-da Ren, Rong-jing Luo. An increase in opening of BK_{Ca} channels in smooth muscle cells in streptozotocin-induced diabetic mice. Acta Pharmacol Sin 2004 Jun; 25 (6): 744-750
51. Castilla Serna L, Cravioto J. Estadística Simplificada para la Investigación en Ciencias de la Salud. Editorial Trillas. 1ª Ed. México, 1991. pp. 241-251
52. Marqués de Cantú, María José. Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas. Editorial McGraw-Hill. México, 1991. pp. 195, 233, 361-371, 558, 567, 570