



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

---

---

## FACULTAD DE CIENCIAS

Efecto hipoglucemiante de *Equisetum  
myriochaetum* en ratas diabéticas

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**B I O L O G A**

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

**GRACIELA QUEZADA TOVAR**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**DRA. MARIA CRISTINA REVILLA MONSALVE**



FACULTAD DE CIENCIAS  
UNAM

2006



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## **DEDICATORIA**

A Dios.

A mi madre, Regina, por tu gran ejemplo y dedicación.

A mi padre, porque te siento a mi lado en todo momento.

A mis hermanos: Elizabeth, Patricia, Antonio, Regina, Maria de la Luz y Rosa.

A mis sobrinos: Montserrat, Jorge Antonio, Abigail y Mariana.

A mi querida amiga Morelia González Osornio por ser siempre mi ayuda y mi apoyo.

A Guadalupe Sánchez Rocha por su apoyo incondicional.

## AGRADECIMIENTOS.

Al Dr. Sergio Islas Andrade y a la Dra. Maria Cristina Revilla Monsalve por permitirme formar parte de su equipo.

A la Dra. Maria Cristina Revilla Monsalve por su dedicación, por brindarme siempre tu apoyo, tu tiempo y tus consejos para la elaboración de este proyecto.

A los sinodales que revisaron este trabajo, Dr. Adolfo Andrade-Cetto por su valiosa contribución en este trabajo. M en C. Abigail Aguilar Contreras por sus sabias opiniones para mejorar este trabajo. M en C. Miguel Ángel Palomino Garibay por su apoyo incondicional durante toda la carrera, como profesor y como compañero y amigo, y por sus valiosas contribuciones en este documento. A la Bióloga. Elidia Loredo Núñez por las correcciones realizadas.

Al Medico- Actuario Pedro Martín Hernández Quiroz por su ayuda en la realización del método y análisis estadístico.

Al Ingeniero Químico Jorge Best por ser mi amigo en los buenos y los malos momentos y por su apoyo en la realización de este trabajo.

A mis compañeros de laboratorio, Mareo, Libo, Ana Polanco, Ale Contreras y a la niña Yaz, y a los niñas del taller: Iris y Elena.

A mi amiga Maria Eli por correr por todos lados tratando siempre de ayudarme a finalizar este trabajo.

A Roberto Sierralta Leal por ser mi amigo y ayudarme a combatir el stress en los momentos difíciles.

<b>INDICE</b>	<b>PAG</b>
1. ANTECEDENTES	1
1.1 DIABETES MELLITUS	1
1.2 CONCEPTO	1
1.3 PREVALENCIA DE LA DIABETES MELLITUS	1
1.4 CLASIFICACION	2
1.5 FACTORES QUE CONDICIONAN LA APARICION DE DIABETES MELLITUS	6
1.6 COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS	8
1.6.1 COMPLICACIONES AGUDAS	8
1.6.2 COMPLICACIONES CRÓNICAS	10
2. FISILOGÍA DEL PÁNCREAS	13
2.1 ANATOMIA DEL PÁNCREAS	15
2.2 ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA GLUCOSA	15
2.2.1 RECEPTORES DE GLUCOSA	18
2.3 ESTRUCTURA Y FUNCIÓN DE LA INSULINA	22
2.3.1 TRANSPORTADORES DE INSULINA	27
3. COLESTEROL Y TRIGLICÉRIDOS	29
4. DIABETES EXPERIMENTAL	31
4.1 MODELOS DE DIABETES ESPONTÁNEA	32
4.2 MODELOS ANIMALES DE DIABETES INDUCIDA	32
4.2.1 INDUCCIÓN QUIRÚRGICA	37
4.2.2 INDUCCIÓN POR VIRUS	37
4.2.3 INDUCCIÓN POR HORMONAS	39
4.2.4 INDUCCIÓN QUÍMICA	39
4.2.4.1 ESTREPTOZOTOCINA	41
4.2.4.2 DOSIS Y VIA DE ADMINISTRACIÓN DE LA ESTREPTOZOTOCINA	42
4.2.4.3 POSIBLES MECANISMOS DE ACCION DE LA ESTREPTOZOTOCINA	43
5. TRATAMIENTO MEDICO DE LA DIABETES	45
5.1 METFORMINA	46
5.2 GLIBENCLAMIDA	47
6. LA DIABETES Y LA MEDICINA TRADICIONAL EN MÉXICO	47
6.1 <i>Equisetum</i> .	50
7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	54
8. HIPÓTESIS	54
9. OBJETIVO GENERAL	54
9.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS	55
10. MATERIAL Y METODO	55
11. DIAGRAMA DE FLUJO	56
12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	58
13. RESULTADOS	59
13.1 GLUCOSA	59
13.2 PESO	61
14. DETERMINACIONES SÉRICAS	64
14.1 GLUCOSA	64
14.2 COLESTEROL	66
14.3 TRIGLICÉRIDOS	66
15. DISCUSIÓN	68
16. CONCLUSIÓN	70
17. BIBLIOGRAFÍA	71

## RESUMEN.

Se determinó el efecto hipoglucemiante de *Equisetum myriochaetum* en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina (STZ).

Se utilizaron 41 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley con peso entre 300-380 gramos. A 28 ratas se les inyectó intraperitonealmente (ip) a dosis única 50 mg/kg de peso de STZ, se consideraron diabéticas aquellas con niveles de glucosa  $\geq$  de 200 mg/dl a las 48 horas después de la inyección.

Se dividieron aleatoriamente en 4 lotes: 7 ratas diabéticas tratadas con *Equisetum myriochaetum* a una dosis de 3.5 mg/ml en solución salina (Dc/E); 6 ratas diabéticas tratadas con glibenclamida a una dosis de 2.85 mg/ml de solución salina (Dc/G); 7 ratas tratadas con metformina a 2.85 mg/ml de solución salina (Dc/M); 8 ratas diabéticas sin tratamiento (Ds/T).

13 ratas no diabéticas fueron inyectadas ip con amortiguador de acetatos 0.1 M pH 4.3 formándose aleatoriamente dos lotes de ratas no diabéticas: 3 ratas tratadas con *E. myriochaetum* (NDc/E); 10 ratas no diabéticas sin tratamiento (NDs/T).

Todas las ratas recibieron tratamiento durante 33 días, administrado entre las 8 y 10 de la mañana, se les determinó glucosa sanguínea y peso corporal cada tercer día.

El día 33 de la experimentación se sacrificaron todas las ratas por dislocación cráneo cervical se obtuvo sangre total para la determinación de los parámetros bioquímicos de glucosa, colesterol y triglicéridos.

Los resultados obtenidos muestran que el efecto hipoglucemiante que ejerció el extracto acuoso del *Equisetum myriochaetum* en ratas diabéticas fue mayor que el ejercido por los fármacos glibenclamida y metformina.

En el promedio de los niveles de triglicéridos, el lote de ratas diabéticas tratado con extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* presentó niveles estadísticamente significativos mas bajos en comparación con los lotes de ratas diabéticas tratadas con glibenclamida, metformina y con el lote de ratas diabéticas sin tratamiento. Al comparar los resultados en los niveles de triglicéridos de las ratas diabéticas que recibieron tratamiento con extracto acuoso de *E. myriochaetum* con los resultados obtenidos de ratas no diabéticas que recibieron el extracto acuoso y no diabéticas sin tratamiento, se pudo apreciar que no existió diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Los niveles más altos de triglicéridos los presentó el lote de ratas diabéticas que recibieron tratamiento con metformina.

El colesterol no presentó diferencias significativas entre los diferentes grupos de ratas, tanto diabéticas como no diabéticas con y sin tratamiento.

Cabe mencionar que aunque el extracto acuoso del *Equisetum myriochaetum* ejerció un efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas, no provocó hipoglucemia a las ratas no diabéticas tratadas con extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* (NDc/E). Al comparar el lote de ratas no diabéticas que recibieron tratamiento con extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* (NDc/E) con el lote de ratas no diabéticas sin tratamiento (NDs/T) no se observa diferencia estadísticamente significativa.

Los resultados obtenidos demuestran que el extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* ejerció efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas mayor que el ejercido por los hipoglucemiantes orales metformina y glibenclamida, sin efecto en ratas no diabéticas.

## **1. ANTECEDENTES.**

### **1.1. DIABETES MELLITUS.**

### **1.2. CONCEPTO.**

La diabetes mellitus es una enfermedad determinada genéticamente en la que el sujeto que la padece tiene alteraciones del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, aunado a una relativa o absoluta deficiencia en la secreción de insulina. Cuando la enfermedad alcanza pleno desarrollo, se caracteriza por hiperglucemia en ayunas y, en la mayoría de los pacientes con larga evolución de la enfermedad, por complicaciones microangiopáticas, en especial renales y oculares, así como macroangiopáticas con afección de arterias coronarias, enfermedad vascular periférica y neuropatía (1,2)

Actualmente se sabe que la diabetes no sólo es una simple elevación de glucosa en sangre, sino un trastorno heterogéneo que implica varias anormalidades. Esta heterogeneidad significa que hay diferencias genéticas, ambientales e inmunológicas entre grupos de pacientes en cuanto a etiología y patogenia, así como en la historia natural y en la respuesta al tratamiento. Por lo tanto, la diabetes no es una simple enfermedad sino un síndrome que debe enfocarse desde el punto de vista integral (1,2).

### **1.3. PREVALENCIA DE LA DIABETES MELLITUS.**

La prevalencia se define como el riesgo de estar enfermo en un momento dado. La prevalencia se incrementa con la edad y se ve afectada por la incidencia, es decir la velocidad con la que un individuo o una población transita del estado de ausencia de enfermedad al estado de enfermedad y su duración (3).

De acuerdo a la organización mundial de la salud (OMS), la diabetes mellitus afecta a 176 millones de personas en el mundo, la OMS estima que en México el número de pacientes diabéticos en el año 2002 era de 2 millones y para el año 2030 se incrementará a 6 millones (4,5).

Para México los cálculos resultan alarmantes, ya que la prevalencia de esta enfermedad que era de 7.7% en 1995 se incrementará a 12.3% para 2025 lo que significa que 11.7 millones de mexicanos serán diabéticos (4,5,6).

México es uno de los países con mayor prevalencia de diabetes mellitus tipo 2; se calcula que ocupa el décimo lugar por el número de diabéticos a nivel mundial y que tan solo en 20 años más ocupará el séptimo (5,6,7).

## 1.4 CLASIFICACION.

En mayo de 1997 se reunió el Comité Internacional de Expertos con el aval de la Asociación Americana de Diabetes (American Diabetes Association) y decidió realizar cambios en el diagnóstico y en la clasificación obteniendo como resultado ventajas sobre las anteriores clasificaciones ya que actualmente se clasifica de acuerdo a la etiología de la enfermedad (1,9). Lo cual permite identificar más tempranamente a los pacientes con diabetes mellitus (2,8).

En base a lo anterior se tienen cuatro tipos de diabetes. (cuadro 1).

**Diabetes tipo 1.** Esta representa a cerca del 10% de todos los diabéticos del mundo occidental, es de origen autoinmune, provocada por una reacción del organismo contra sus propios tejidos, en este caso contra las células beta del páncreas. Esto trae como consecuencia la deficiencia absoluta de insulina, por lo tanto, existe dependencia de la misma la cual debe ser administrada a este tipo de pacientes para prevenir la cetosis espontánea, estado de coma y muerte. Este tipo de diabetes se presenta principalmente en niños y adultos jóvenes. Los factores de riesgo de este tipo de diabetes incluyen factores autoinmunes, genéticos y ambientales (1,8).

**Diabetes tipo 2.** Este tipo de diabetes se presenta en casi el 90% de todos los diabéticos del mundo occidental. También tiene bases genéticas que se expresan por una mayor ocurrencia familiar. Es un desorden metabólico que se produce por la incapacidad del organismo para producir suficiente insulina o para usarla de manera adecuada. Los factores ambientales y el estilo de vida influyen en forma importante en el desencadenamiento y evolución de esta enfermedad. Por lo regular comienza con resistencia a la insulina, pero a medida que aumenta la necesidad de insulina, el páncreas pierde paulatinamente su capacidad de producirla. La diabetes mellitus tipo 2 está relacionada con antecedentes familiares, antecedentes de diabetes gestacional, disminución de tolerancia a la glucosa, falta de actividad física y raza/origen étnico. La mayor parte de los individuos que padecen diabetes mellitus tipo 2 son obesos y la obesidad, especialmente la obesidad central, por sí sola causa resistencia a la insulina (1,8).

Una subclase de diabetes mellitus tipo 2 incluye familias con diabetes que puede reconocerse en niños, adolescentes y adultos jóvenes y se define como diabetes tipo MODY y se hereda con carácter autosómico dominante (1,8).

**Otros tipos de diabetes.** Incluye entidades secundarias asociadas con ciertas alteraciones o síndromes, o bien, secundaria a la administración de ciertos fármacos como diuréticos, preparaciones a base de estrógenos, infecciones, etc. También puede relacionarse a la diabetes con defectos génicos de los receptores de insulina, bien por el número o en la afinidad de estos (1,8).

**Diabetes gestacional.** Este tipo de diabetes se presenta en algunas mujeres durante el embarazo y generalmente desaparece al concluir éste. Una mujer con diabetes gestacional tiene la posibilidad de hasta un 90% de recurrencia en los embarazos posteriores. Además puede presentar diabetes mellitus tipo 2 entre los 5 y 10 años después del parto, con una variación de acuerdo con el grado de anormalidad de la curva de tolerancia a la glucosa. Si son obesas, la posibilidad aumenta considerablemente (1,8,9).

Cuadro 1:

## **CLASIFICACION ETIOLOGICA DE LA DIABETES MELLITUS**

(Comité de Expertos de la American Diabetes Association, 1997) (1,8).

I. Diabetes tipo 1\*. (Destrucción de células  $\beta$  que conduce a una deficiencia absoluta de insulina):

- A. Mediada por mecanismos inmunológicos
- B. Idiopática

II. Diabetes tipo 2\*. (Con variación desde la resistencia a la insulina predominante con deficiencia relativa de insulina al defecto en la secreción predominante con resistencia a la insulina)

III. Otros tipos específicos:

A. Defectos genéticos de la función de la célula  $\beta$  en:

1. Cromosoma 12, HNF-1  $\alpha$  (MODY 3)
2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2)
3. Cromosoma 20, HNF-4  $\alpha$  (MODY 1)
4. Acido desoxirribonucleico mitocondrial
5. Otras

B. Defectos genéticos en la acción de la insulina

1. Resistencia a la insulina tipo A
2. Lepracaunismo
3. Síndrome de Rabson-Mendenhall
4. Diabetes lipoatrófica
5. Otras

C. Enfermedades del páncreas exócrino

1. Pancreatitis
2. Traumatismo/pancreatectomía
3. Neoplasia
4. Fibrosis quística
5. Hemocromatosis
6. Pancreatopatía fibrocalculosa
7. Otras.

D. Endocrinopatías

1. Acromegalia
2. Síndrome de Cushing
3. Glucagonoma
4. Feocromocitoma
5. Hipertiroidismo
6. Somatostatinaoma
7. Aldosteronoma
8. Otras

- E. Sustancias químicas o fármacos capaces de inducir diabetes:
  - 1. Pentamidina
  - 2. Acido nicotínico
  - 3. Glucocorticoides
  - 4. Hormona tiroidea
  - 5. Diazóxido
  - 6. Agonistas adrenérgicos  $\beta$
  - 7. Tiacidas
  - 8. Difenilhidantoína
  - 9. Interferón- $\alpha$
  - 10. Otras.
- F. Infecciones
  - 1. Rubéola congénita
  - 2. Citomegalovirus
  - 3. Otras.
- G. Formas poco comunes de diabetes mediada inmunológicamente:
  - 1. "Síndrome del hombro rígido"
  - 2. Anticuerpos contra el receptor de insulina
  - 3. Otras.
- H. Otros síndromes que a veces se acompañan de diabetes:
  - 1. Síndrome de Down
  - 2. Síndrome de Klinefelter
  - 3. Síndrome de Turner
  - 4. Síndrome de Wolfram
  - 5. Ataxia de Friedreich
  - 6. Corea de Huntington
  - 7. Síndrome de Lawrence-Moon-Beidel
  - 8. Distrofia miotónica
  - 9. Porfiria
  - 10. Síndrome de Prader-Willi
  - 11. Otras.

#### IV. Diabetes Mellitus Gestacional

\*Los pacientes con alguna de estas formas pueden requerir tratamiento con insulina en alguna etapa de la enfermedad. El uso de insulina no clasifica por sí solo al paciente (1,8).

## 1.5 FACTORES QUE CONDICIONAN LA APARICION DE DIABETES MELLITUS.

En la diabetes los principales factores de riesgo se encuentran asociados a la carga genética del individuo y al estilo de vida del mismo. (Cuadro 2)

Existe una fuerte predisposición genética, es decir, que la ocurrencia de la diabetes se incrementa si los padres padecen la enfermedad. En la población mexicana se ha observado que la prevalencia de diabetes es de 5.9% si ninguno de los padres la padece, de 10.2% si uno de ellos la presenta y de 19.5 si ambos progenitores son diabéticos.

La edad es otro factor de riesgo, a mayor edad, la probabilidad de desarrollar diabetes es mayor. En lo referente a la aparición de la enfermedad relacionada al sexo, se tienen estudios que demuestran que la aparición de la enfermedad puede predominar en el sexo femenino, pero en México la ocurrencia es similar en hombres y mujeres.

Con referencia al grupo étnico o raza, existe evidencia de que los procesos de aculturación u occidentalización de los estilos de vida han propiciado un incremento en la ocurrencia de diabetes, sobretodo en las poblaciones donde la diabetes era prácticamente desconocida en años previos de aculturación <sup>(11)</sup>.

Cuadro 2.

### **Factores de riesgo para diabetes mellitus tipo 2** <sup>(11)</sup>.

---

- Edad > 45 años
- Índice de masa corporal > 25 Kg/m<sup>2</sup>
- Circunferencia de la cintura ≈ 90 cm
- Familiares en primer grado con diabetes
- Inactividad física habitual
- Pertenecer a un grupo étnico de alto riesgo (estadounidense de origen africano, latinos, estadounidenses nativos, indios Pima, habitantes de las islas del Pacífico Sur)
- Identificación previa de prediabetes (Intolerancia a la glucosa o intolerancia a la glucosa en ayunas).
- Antecedente de diabetes mellitus gestacional o haber tenido un hijo con un peso corporal >4 kg al nacer
- Hipertensión arterial sistémica
- Lipoproteínas de alta densidad-colesterol > 35 mg/100 dl, triglicéridos > 250 mg/100 dl o ambos
- Ovarios poliquísticos
- Antecedente de enfermedad vascular cerebral o cardiovascular
- Acantosis nigricans
- Esteatosis hepática no grasa.

Cuando la enfermedad aparece puede ser diagnosticada con la presencia de hiperglucemia en ayunas en forma reiterada, o bien cuando la intolerancia a la glucosa alcanza un nivel crítico, es decir, cuando la glucosa plasmática en ayunas es de 100 a 125 mg/100 ml y dos horas después es de 140 a 199 mg/100 ml. (Cuadro 3).

Otra de las características que indican la presencia de diabetes tipo 2 es la resistencia a la insulina, la cual se manifiesta con niveles normales o elevados de la misma a nivel plasmático y sus efectos a nivel celular no se manifiestan en forma proporcional, dicho en otras palabras, cuando el páncreas incrementa la secreción de insulina en respuesta a la demanda aumentada con la disminución en la sensibilidad de ella o la pérdida de capacidad de la molécula para actuar, lo cual se ve reflejado en hiperinsulinemia, donde se ven involucrados varios factores a nivel de receptores celulares y transportadores.

La resistencia a la insulina para la utilización de la glucosa es una característica en la patogénesis de la obesidad, la dislipidemia, la hipertensión y la intolerancia a la glucosa (1,11).

### **Límites para el diagnóstico de la diabetes y grados de alteraciones de la glucosa**

Cuadro 3. American Diabetes Association, noviembre 2003, enero 2004)<sup>(11)</sup>.

<b>Categoría</b>	<b>Glucosa plasmática en ayunas</b>	<b>Glucosa a las 2 h</b>
Normal	< 100 mg/100 ml (< 5.6 mmol/L)	< 140 mg/100 ml (< 7.8 mmol)
Intolerancia a la glucosa en ayunas	100 a 125 mg/100 ml (5.6 a 6.9 mmol/L)	-----
Intolerancia a la glucosa	-----	140 a 199 mg/100 ml (7.8 a 11 mmol/L)
Diabetes*	≥ 126 mg/100 ml (≥ 7.0 mmol/L)	≥ 200 mg/100 ml (≥ 11.1 mmol/L)

### **1.6 COMPLICACIONES DE LA DIABETES MELLITUS.**

La frecuencia con la que aparecen complicaciones en el paciente diabético está en relación directa con la edad y la duración de la enfermedad.

La diabetes puede presentar complicaciones agudas y crónicas (12). (Cuadro 4).

### 1.6.1 COMPLICACIONES AGUDAS.

Las complicaciones agudas que se pueden presentar en los pacientes diabéticos son:

- Cetoacidosis diabética
- Estado de hipertonicidad no cetósica
- Hipoglucemia

**CETOACIDOSIS.** La cetoacidosis diabética (CAD) es un trastorno metabólico grave, causado por una deficiencia casi absoluta de insulina, que provoca hiperglucemia, hipercetonemia, acidosis metabólica y alteraciones hidroelectrolíticas.

La deficiencia de insulina provoca hiperglucemia debido a la disminución en la utilización periférica de glucosa y por el incremento en la producción hepática de la misma a través de la gluconeogénesis y glucogenólisis.

Existe un incremento de cuerpos cetónicos a partir de ácidos grasos libres. Esta complicación generalmente aparece en pacientes con diabetes mellitus tipo 1, aunque también puede aparecer en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, las causas más frecuentes para la aparición de la CAD son infecciones y la suspensión o reducción de la dosis de insulina.

Las manifestaciones de la CAD no son súbitas, por lo general es de evolución progresiva. La poliuria, polidipsia, taquipnea, anorexia, vómitos, deshidratación, pérdida de peso, astenia, parestesias y alteraciones neurológicas son síntomas que se presentan en el paciente como resultado de las alteraciones bioquímicas de esta complicación (12).

**HIPERTONICIDAD NO CETOSICA.** Esta complicación puede presentarse como primera manifestación de la diabetes mellitus tipo 2 y en otras ocasiones como resultado de factores desencadenantes en cualquier paciente diabético descontrolado.

Es un síndrome que puede aparecer por diversas causas como supresión inadecuada de hipoglucemiantes orales, insulina o ambos, infecciones concomitantes, infarto agudo del miocardio, accidente vascular cerebral, pancreatitis, tromboembolia pulmonar, quemaduras, cirugía, diálisis peritoneal y hemodiálisis, alimentación parenteral o enteral, fármacos como diuréticos tiacídicos, glucocorticoides, difedinilhidantoína, propranolol, etc. La hipertonicidad indica un aumento en la concentración de solutos osmóticamente efectivos en plasma y líquido extracelular; por lo tanto, la consecuencia de la hipertonicidad es la deshidratación celular por agotamiento del líquido intracelular que pasa al espacio extracelular con la finalidad de igualar la tonicidad (12).

**HIPOGLUCEMIA.** Es la concentración baja de glucosa plasmática con presencia de síntomas típicos como manifestaciones adrenérgicas y datos neurológicos que mejoran con la administración de glucosa. La falta de glucosa para el trabajo muscular induce fatiga y debilidad en grado variable.

Las causas de hipoglucemia en los pacientes diabéticos pueden ser sobreinsulinizaciones, ejercicio inesperado, omisión de un alimento, pero también ocurre sin que se conozca la causa que la desencadenó o como efecto secundario del uso de hipoglucemiantes orales (sulfonilureas) (12).

### **1.6.2. COMPLICACIONES CRONICAS** (13,14).

A largo plazo, el paciente diabético puede presentar 2 tipos de complicaciones vasculares: microangiopatía y macroangiopatía (aterosclerosis). (Cuadro 4).

Cuadro 4.

#### **VASCULARES**

- **Macrovasculares**

- Aterosclerosis coronaria acelerada
- Aterosclerosis cerebrovascular acelerada
- Vasculopatía periférica acelerada

- **Microvasculares**

- Retinopatía
- Nefropatía

- **Neuropáticas**

Neuropatía sensoriomotora

- Bilateral simétrica en extremidades inferiores (más común)
- Bilateral simétrica en extremidades superiores
- Mononeuropatía
- Úlcera neuropática
- Amiotrofia diabética
- Caquexia neuropática

Neuropatía autónoma

- Gastroparesia
  - Diarrea
  - Vejiga neurógena
  - Impotencia
  - Reflejos cardiovasculares alterados
- Enfermedades vasculares y neuropáticas combinadas.
- Ulceras de piernas
  - Ulceras de pies

## **MACROVASCULARES.**

La diabetes es un factor de riesgo independiente para enfermedad vascular aterosclerosa y enfermedad arterial coronaria, cerebrovascular y periférica.

Las complicaciones vasculares ocurren más frecuentemente en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que en los pacientes con diabetes tipo 1.

La diabetes mellitus tipo 2 también se asocia con otros factores de riesgo cardiovascular que incluyen hipertensión arterial, obesidad, obesidad central, hiperinsulinemia e hiperlipidemias.

Los cambios ateroscleróticos en los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 se caracterizan por incremento en la cantidad de tejido conjuntivo, como la fibronectina, las glucoproteínas y la colágena, así como también por incremento de las cantidades de calcio en la capa media de la pared arterial. La calcificación de la capa media es una condición que conduce al endurecimiento de las fibras elásticas de la pared arterial, pero, en contraste con lo que sucede cuando se calcifica la íntima, no obstruye la luz arterial. Existe evidencia en varios estudios de la eficacia del buen control de la diabetes para reducir o retrasar las complicaciones cardiovasculares (15,16).

### **ATEROSCLEROSIS CORONARIA ACELERADA**

La enfermedad cardiovascular, en muchos casos, es causada por aterosclerosis, que es una acumulación en exceso de placa en la pared interior de un vaso sanguíneo grande, lo cual restringe el flujo de sangre. La cardiopatía es la causa principal de las muertes relacionadas con la diabetes. Las personas con diabetes que padecen una cardiopatía tienen una probabilidad de 2 a 4 veces más alta de morir que las personas sin diabetes (14,15,16).

### **ATEROSCLEROSIS CEREBROVASCULAR ACELERADA**

Accidentes cerebrovasculares.

## **VASCULOPATIA PERIFERICA ACELERADA**

Gangrena en extremidades inferiores.

## **MICROVASCULARES.**

Al comienzo la microangiopatía presenta alteraciones funcionales reversibles, más tarde se producen alteraciones morfológicas cuya estabilización o regresión solo es posible en las etapas iniciales de este proceso mediante el la optimización del control metabólico. La frecuencia y la severidad de la microangiopatía guardan cierta correlación con la duración y el control de la enfermedad. La hiperglucemia desempeña un papel fundamental.

Morfológicamente, la microangiopatía diabética se caracteriza por el engrosamiento difuso de las membranas basales capilares, sobretodo en piel, músculo esquelético, retina, glomérulo renal y médula renal. La aterosclerosis comienza a aparecer en la mayoría de los diabéticos, de cualquier edad, a los pocos años de desencadenarse la enfermedad (14,15,16).

## **RETINOPATIA DIABETICA.**

Es una causa que lleva a la pérdida de la visión provocando ceguera. La diabetes mellitus está asociada con el daño en los pequeños vasos sanguíneos en la retina, resultando en la pérdida de la visión. Estudios realizados concluyen que es posible que después de 15 años de evolución de diabetes, aproximadamente el 2% de las personas pierden la vista, mientras cerca del 10% desarrollan severa disminución de la vista. Pérdida de la visión debido a ciertos tipos de glaucoma y cataratas pueden también ser más comunes en personas con diabetes que en las que no la padecen (14,15).

## **DAÑO RENAL.**

La diabetes es también causa del daño renal, pero esta frecuentemente varía entre poblaciones y está relacionada con la severidad y el tiempo que lleva la enfermedad. Existen muchas medidas para disminuir el progreso del daño renal, estas incluyen el control de la glucosa en sangre, control de la presión sanguínea, administración de medicamentos en los estados tempranos de la enfermedad renal y restricción de proteínas en la dieta (15).

## **NEUROPATIA.**

Es probablemente la complicación más común de la diabetes. Hay estudios que sugieren que más del 50% de personas con diabetes están afectadas en diferente grado. El principal factor de riesgo es el nivel de glucosa en sangre y el tiempo de duración. La neuropatía puede llevar a la pérdida sensorial y daño en las extremidades, ésta es también la principal causa de impotencia en el hombre diabético (14, 15).

## **PIE DIABETICO.**

Es el proceso infeccioso, isquémico o ambos que se presenta en los tejidos que conforman el pie y que abarca desde una pequeña lesión cutánea hasta la gangrena extensa con pérdida de la extremidad.

Las dos lesiones básicas que se presentan en alguna etapa de la evolución de la diabetes son: la neuropatía (pié indoloro) y la angiopatía (pie sin pulso) tanto en la macrocirculación como en la microcirculación, éstas son el origen de las complicaciones isquémicas e infecciosas que se presentan el pie de los pacientes diabéticos (14, 15, 16, 17).

## 2. FISILOGIA Y ANATOMIA DEL PANCREAS

El páncreas es una glándula mixta de secreción interna y externa.

La glándula es alargada de derecha a izquierda y de abajo hacia arriba, aplanada en sentido anteroposterior, en humanos adultos tiene un peso aproximado de 60 a 140 gramos y una longitud de 15 centímetros, aproximadamente y se compone de cabeza, cuerpo y cola.

El páncreas surge embriológicamente del duodeno en forma de una yema dorsal y otra ventral más pequeña. La fusión de ambas da lugar a la cabeza compuesta, y la evaginación dorsal es el origen primario del cuerpo y la cola. Los conductillos del sistema de drenaje se anastomosan y al fusionarse el conducto ventral con la parte distal del conducto dorsal, se forma el conducto pancreático definitivo o conducto de Wirsung, la porción proximal del conducto dorsal persiste como conducto accesorio de Santorini (18,19). Figura 1.

El páncreas se relaciona, por su proximidad inmediata, con el duodeno, la ampolla de Vater, el colédoco, la arteria mesentérica superior, la vena porta, el bazo y sus vasos, el estómago, el colon transversal, el lóbulo izquierdo del hígado y los recesos inferiores de la cavidad del epiplón menor. Es un órgano rosado con lobulaciones gruesas y bien definidas, causadas por los tabiques de colágeno que subdividen el parénquima en lóbulos macroscópicos (18, 19).

El páncreas secreta entre 1.5 y 3 litros diarios de un líquido alcalino que contiene enzimas y protoenzimas (cimógenos). La secreción se ajusta al volumen y a la naturaleza del contenido intestinal. Su regulación es un proceso complejo en el que intervienen factores hormonales y nerviosos (18,19).

El páncreas exócrino es una glándula acinolobular muy ramificada donde se encuentran las células secretoras en forma piramidal que están agrupadas dentro de acinos y cada acino posee un conducto excretor para el jugo pancreático, el cual contiene enzimas proteolíticas, como la tripsina, pepsina y quimiotripsina que desdoblan proteínas, la carboxipeptidasa que desdobla péptidos, desoxirribonucleasa, ribonucleasa que desdoblan desoxirribonucleoproteínas y ribonucleoproteínas; amilasa que hidroliza el almidón y otros carbohidratos, la lipasa que hidroliza la grasa neutra para dar glicerol y ácidos grasos, y la colesterolesterasa que desdobla los ésteres de colesterol para dar colesterol y ácidos grasos, enzimas que se activan sólo después de alcanzar la luz del intestino delgado (19, 20).

El páncreas endócrino está formado por islotes pancreáticos o de Langerhans, representa al 2% del total de las células de este órgano, se calcula que existen 2 millones de islotes en el páncreas humano los que se encuentran dispersos por todo el páncreas exócrino y está constituido por 4 tipos celulares:

Las **células  $\beta$** , encargadas de la producción de insulina y amilina, en menor proporción, son el tipo celular más numeroso de los islotes de todas las especies.

El almacenamiento y liberación de nutrientes son regulados de manera importante por las hormonas producidas en los islotes pancreáticos, la concentración de glucosa en sangre estimula a las células  $\beta$  a secretar insulina, la cual promueve la entrada de glucosa en diversos tipos celulares del organismo denominadas células blanco.

**Células  $\alpha$**  encargadas de la producción de glucagón, en la mayoría de las especies las células  $\alpha$  se encuentran en la corteza de los islotes pancreáticos, estas contienen gránulos secretores heterogéneos, que producen el glucagón que es una pequeña proteína que se libera cuando disminuye la concentración de glucosa en sangre actuando como contrareguladora de la insulina.

**Células  $\delta$**  encargadas de la secreción de somatostatina, la cual es efectiva en la supresión de insulina y glucagón.

**Células PP** producen polipéptido pancreático que en humanos se encuentra exclusivamente en el páncreas; se libera al comer y por otros estímulos vagales pero tiene muy pocos efectos metabólicos o gastrointestinales y su función es todavía un enigma. Las células PP se localizan en la periferia de los islotes pancreáticos, en los ductos y acinos ( donde tiene lugar la producción de células endocrinas pancreáticas) (19,20,21).

Las células endócrinas que más abundan en el páncreas son las células  $\beta$  constituyendo el 70%, mientras que a las  $\alpha$  les corresponde 20%, a las  $\delta$  entre 5 y 10%, siendo las células PP las menos abundantes con sólo el 2% del tejido endócrino pancreático (22).

## 2.1 ANATOMIA DEL PANCREAS (18,19).

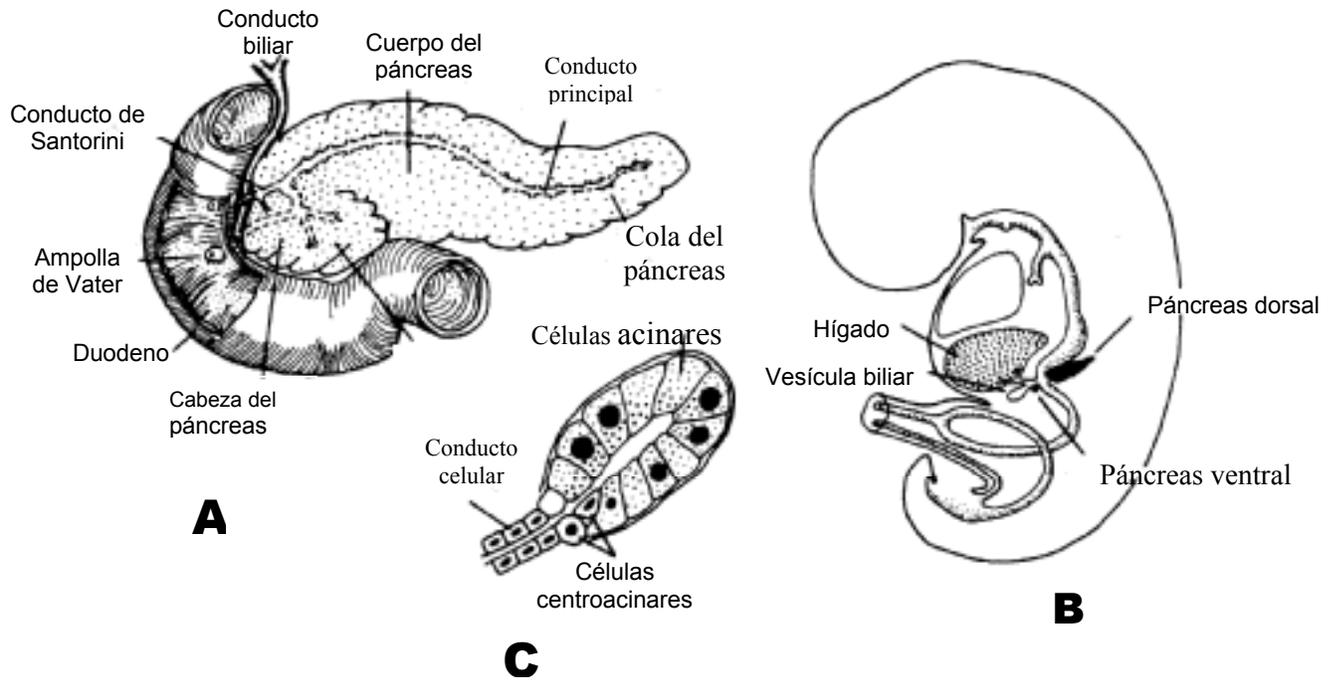


Figura 1.

- ⇒ **A.** Anatomía del páncreas de adulto humano.
- ⇒ **B.** Localización de la yema dorsal y ventral del páncreas en embrión humano de aproximadamente 36 días.
- ⇒ **C.** Histología de acino pancreático.

## 2.2 ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA GLUCOSA.

Los carbohidratos se encuentran ampliamente distribuidos en vegetales y animales, realizan importantes funciones estructurales y metabólicas. La glucosa se sintetiza a partir del dióxido de carbono y del agua por medio de la fotosíntesis en los vegetales, y se almacena en forma de almidón, o bien se utiliza para sintetizar celulosa de la estructura vegetal. Los animales sintetizan carbohidratos a partir del glicerol de los lípidos y de los aminoácidos. La glucosa es el carbohidrato más importante; la mayoría de los carbohidratos se absorbe al torrente sanguíneo como glucosa; otros azúcares se convierten en glucosa en el hígado. La glucosa es el combustible metabólico más importante de los mamíferos (excepto los rumiantes), y un combustible universal para el feto. Es el precursor de la síntesis de todos los otros carbohidratos en el cuerpo, incluidos el glucógeno para el almacenamiento, la ribosa y desoxirribosa en los ácidos nucleicos, y la galactosa en la lactosa de la leche, en glucolípidos, y en combinación con las proteínas en las glucoproteínas y los proteoglicanos. Las enfermedades que se relacionan con el metabolismo de los carbohidratos incluyen diabetes mellitus, galactosemia, enfermedades del almacenamiento del glucógeno e intolerancia a la lactosa (23, 24,25).

Los monosacáridos son aquellos carbohidratos incapaces de hidrolizarse en carbohidratos más simples, se subdividen en triosas, tetrosas, pentosas, hexosas o heptosas dependiendo de la cantidad de átomos de carbono y como aldosas o cetosas por la presencia del grupo aldehído o del grupo cetona (23,24). (Cuadro 5).

Cuadro 5. **Clasificación de azúcares importantes**

	<b>ALDOSAS</b>	<b>CETOSAS</b>
TRIOSAS ( $C_3H_6O_3$ )	Glicerosa	Dihidroacetona
TETROSAS ( $C_4H_8O_4$ )	Eritrosa	Eritrulosa
PENTOSAS ( $C_5H_{10}O_5$ )	Ribosa	Ribulosa
HEXOSAS ( $C_6H_{12}O_6$ )	Glucosa	Fructosa

Los disacáridos son productos de condensación de dos unidades de monosacáridos.

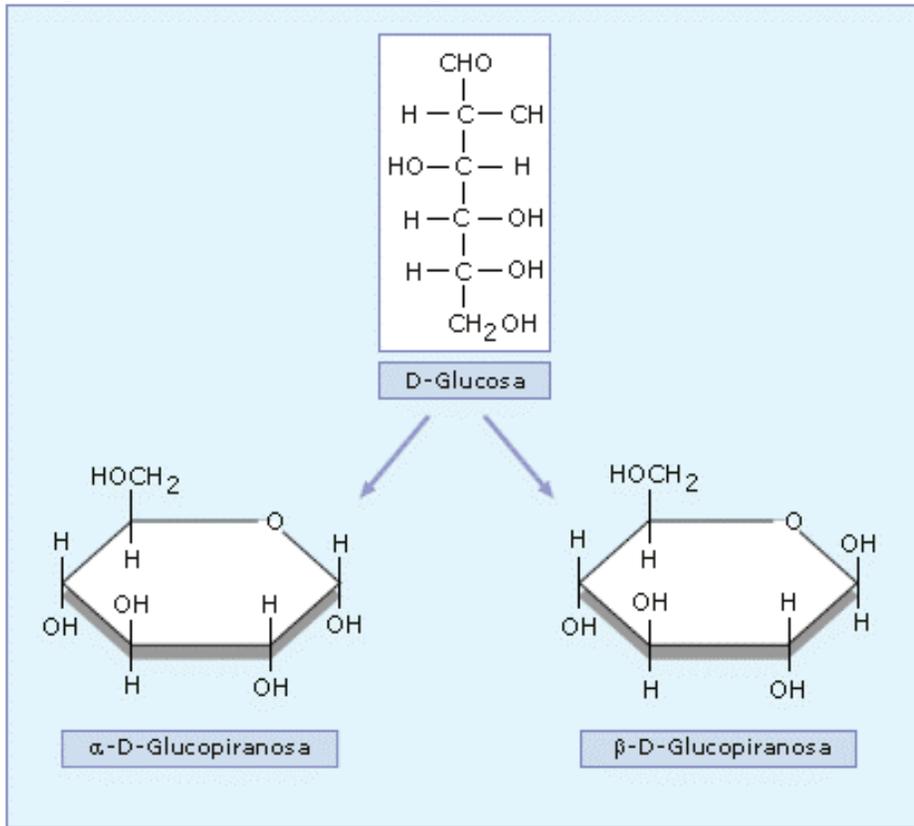
Los oligosacáridos son producto de la condensación de 2 a 10 monosacáridos.

Los polisacáridos son producto de la condensación de más de 10 monosacáridos.

La estructura de la glucosa se puede representar de tres maneras.

La fórmula estructural de cadena recta puede explicar algunas de las propiedades de la glucosa, pero desde el punto de vista termodinámico se prefiere la estructura cíclica que explica el resto de sus propiedades químicas. En la mayor parte de los casos es posible representar la fórmula estructural como un anillo simple en perspectiva (24,26). (Figura 2).

Figura 2. Estructura de la glucosa.



Es el principal combustible del cerebro que consume alrededor de 140 g de glucosa al día. Si este nivel desciende, como en los casos de ayuno prolongado, utiliza como fuente de energía los cuerpos cetónicos procedentes de la oxidación de ácidos grasos en el hígado.

Cuando la glucosa llega a las células es degradada por el proceso de glucólisis, con ayuda del oxígeno, cuya principal función es la combustión de la glucosa. Dando como resultado agua y anhídrido carbónico.

Este es el modo principal de obtener energía para realizar todas las actividades que la requieran. Cuando falta este glúcido, las proteínas esenciales se metabolizan para convertirse en energía a través de la gluconeogénesis.

El consumo de alimentos y bebidas que no contengan glucosa o azúcares, da lugar a la hipoglucemia, lo que provoca un estado de alarma en el organismo.

Los hidratos de carbono se absorben en el intestino en forma de monosacáridos, en el caso de la glucosa se puede distinguir entre:

Absorción pasiva, en la que el proceso de digestión hay un momento en que se hidrolizan los oligosacáridos lo que da lugar a elevación en la concentración de glucosa, que al ser superior al de la célula, pasa a través de la membrana sin

necesidad de energía. Sin embargo, a diferencia de las pentosas, requiere un transportador específico de la misma, y se mantiene mientras haya esta diferencia de gradiente (23,24,25).

En la absorción activa el transporte de glucosa por la membrana requiere energía, iones sodio y una proteína transportadora. Son estos iones los que provocan una diferencia de gradiente que libera energía aprovechada por la glucosa para atravesar la membrana. Luego la glucosa es transportada a los capilares sanguíneos en forma pasiva.

Posteriormente la glucosa es metabolizada en las células intestinales. De la glucosa que entra, cerca del 50% se transforma en lactato, antes de pasar al torrente sanguíneo por medio de la glucólisis, el proceso se completa en el hígado en donde por la gluconeogénesis el lactato se vuelve a convertir en glucosa con el aporte de ATP.

En la glucólisis se convierte la glucosa en ácido pirúvico, por medio de la oxidación se obtiene  $H_2O + CO_2$  y ATP.

La glucólisis y la gluconeogénesis son procesos contrarios y no se pueden producir a la vez ya que una inhibe a la otra por medio de la actividad celular.

La glucólisis es la degradación de la glucosa; comprende la degradación de los carbohidratos en los organismos vivos desde glucosa o glucógeno hasta ácido láctico en ausencia de oxígeno para el caso de músculo, y en aerobiosis hasta ácido pirúvico en la mayoría de los tejidos (23, 24,25).

### **2.2.1 Receptores de la glucosa.**

Transporte de glucosa.

El transporte de glucosa en la membrana plasmática se realiza a través de proteínas especializadas. Existen varias formas de transporte de glucosa, una manera por la cual la glucosa puede atravesar la membrana es a favor de un gradiente de concentración; es decir la glucosa se transporta de la región en donde su concentración es mayor hacia donde es menor. Otra forma de transporte se lleva a cabo de manera inversa, de donde su concentración es menor hacia donde es mayor (transporte en contra del gradiente de concentración).

Las proteínas encargadas del transporte de glucosa son diferentes en ambos casos (26).

Transporte de glucosa en contra de gradiente de concentración.

Los transportadores que permiten el paso de la glucosa en contra de gradiente de concentración se localizan únicamente en la región apical de células epiteliales ubicadas en el intestino delgado y en el sistema tubular del riñón, este tipo de transportadores se conocen universalmente con las siglas SGLT (*Sodium dependent glucose transporters*). Existen dos subtipos: el SGLT-1, ubicado en el epitelio del intestino delgado, y el SGLT-2, localizado en las células epiteliales del túbulo contorneado proximal. Ambos transportadores son dependientes de sodio. La concentración del ión sodio es mayor en la luz del intestino delgado y en la luz del sistema tubular de la nefrona con respecto a las concentraciones intracelulares de sus respectivas células epiteliales. Con la glucosa pasa lo contrario (es mayor su concentración en el interior de estas células).

Recientemente se ha descrito un tercer subtipo de transportador el SGLT-3 que presenta una homología con SGLT-1, este transporta dos moléculas de sodio por una de glucosa. No hay estudios funcionales del SGLT-3 en humanos, sólo en cerdos (26).

Los SGLT son cotransportadores: la glucosa aprovecha la fuerza electromotriz del sodio para entrar a la célula junto con él. Por cada dos iones de sodio, entra una molécula de glucosa. El gradiente de concentración de sodio proporciona la energía para que la glucosa entre a la célula. Estos transportadores no dependen de insulina. (Cuadro 6).

La adecuada función de estos transportadores radica en que las concentraciones de sodio en el interior de las células epiteliales sean 10 veces menores en el líquido intracelular con respecto al extracelular. Este gradiente de concentración de sodio se debe en forma primordial a la actividad de la bomba de sodio-potasio. Cualquier disfunción en la actividad de la bomba compromete severamente la cinética de la entrada de glucosa a la célula (26).

Transporte a favor del gradiente de concentración.

La mayoría de las células captan glucosa mediante el proceso de difusión simple. La concentración de glucosa intracelular en la mayoría de las células se calcula alrededor de 20-25 mg/100mL, lo que es menor al compararse con el líquido extracelular, que en promedio tiene una concentración de 90 mg/100mL. Bajo estas condiciones lo que se necesita para que la glucosa entre a la célula es la presencia de transportadores de membrana.

Los transportadores que permiten la entrada de glucosa por difusión simple se conocen con la denominación de GLUT (*Glucose Transporter*). Existen 13 diferentes tipos o isoformas de GLUT y sólo 6 funcionales. (Cuadro 6).

La mayoría de los GLUT se ubican en la membrana plasmática, a excepción de GLUT-4, la mayor parte de los GLUT no necesitan de hormonas,

neurotransmisores o secreciones parácrinas para variar su cantidad en la membrana plasmática. Sin embargo, las células que dependen de la presencia de GLUT-4 para que entre la glucosa, como es el caso de las células de músculo esquelético, cardíaco y en los adipocitos, necesitan de la activación de receptores de insulina en su membrana plasmática para que pueda expresarse el transportador. Sin la presencia de insulina estas células no pueden captar glucosa por falta de la expresión del GLUT-4.

Los GLUT presentan una conformación proteica similar; son glicoproteínas de 45 a 55 kDa, con doce dominios transmembranales en estructura  $\alpha$  hélice. Los extremos N y C terminales, al igual que una gran asa central, se localizan en el citoplasma. Además, presentan un sitio de glicosilación en la región externa de la membrana. Cada una de las diferentes isoformas de los GLUT tiene ubicación y características cinéticas propios, adaptadas a las necesidades metabólicas de los distintos tejidos del organismo (26, 27).

La glucosa ingresa a la célula en cuatro etapas:

- 1) Se une al transportador en la cara externa de la membrana;
- 2) El transportador cambia de conformación y la glucosa y su sitio de unión quedan localizados en la cara interna de la membrana;
- 3) El transportador libera la glucosa al citoplasma;
- 4) El transportador libre cambia nuevamente de conformación, expone el sitio de unión a la glucosa en la cara externa y retorna a su estado inicial (26, 27).

Cuadro 6. CARACTERÍSTICAS DE LOS TRANSPORTADORES DE MONOSACÁRIDOS  
(26,27).

ISOFORMAS	No. AA	Km* (mM)	MONOSACÁRIDOS QUE TRANSPORTA	LOCALIZACIÓN EN LOS TEJIDOS	FUNCION
SGLT 1	664	0.3	Glucosa, galactosa	Intestino Delgado, nefrona proximal	Absorción y reabsorción de glucosa
SGLT 2	672	1.6	Glucosa, galactosa	Nefrona proximal	Absorción y reabsorción de glucosa
SGLT 3	674	6.0	Glucosa, galactosa	Sin determinar	Absorción y reabsorción de glucosa
GLUT 1	664	1.6	Glucosa, galactosa	Eritrocito, barreras hematoencefálicas, placenta y de la retina, astrocito, nefrona.	Ingreso basal de glucosa
GLUT 2	522	17	Glucosa, Galactosa, Fructosa.	Células β pancreáticas, hígado, intestino delgado, nefrona proximal	Sensor de glucosa en páncreas transporte de glucosa en la membrana basolateral del intestino y riñón.
GLUT 3	596	2	Glucosa, Galactosa	Cerebro, Placenta, Hígado, Riñón y Corazón	Ingreso basal de glucosa
GLUT 4	509	5	Glucosa	Músculo esquelético y cardiaco, tejido adiposo	Ingreso de glucosa estimulado por insulina
GLUT 5	501	No aplica	Fructosa, no muestra afinidad por la glucosa	Yeyuno, espermatozoides, riñones, células de la microglia	Transporte de glucosa
GLUT 6	507		Glucosa	Cerebro, bazo y leucocitos	Ingreso de glucosa estimulado por insulina
GLUT 7	-----			No existe	
GLUT 8	477		Glucosa	Testículos y páncreas	Ingreso de glucosa
GLUT 9	540		Glucosa	Riñón e hígado	Ingreso de glucosa
GLUT 10	541		Glucosa	Hígado y páncreas	Ingreso de glucosa
GLUT 11	496		Glucosa	Músculo esquelético y corazón	Ingreso de glucosa
GLUT 12	617		Glucosa	Músculo esquelético, tejido adiposo, intestino delgado	Ingreso de glucosa
GLUT 13	629		Glucosa	Cerebro	Ingreso de glucosa y mioinocitol.

### 2.3 ESTRUCTURA Y FUNCION DE LA INSULINA.

La estructura de la insulina se ha conservado a través de la evolución. La forma madura de la insulina está compuesta por dos cadenas de aminoácidos: la cadena A, constituida por 21 aminoácidos, y la cadena B, que consta de 30 aminoácidos. Estas cadenas se encuentran unidas por puentes disulfuro.

La insulina se forma partir de otra molécula más grande llamada preproinsulina, la cual es sintetizada como una sola cadena de proteínas, codificada en el humano por un gen que se encuentra en brazo corto del cromosoma 11. (**Figura 3**). La insulina madura es almacenada en gránulos secretores cuya liberación es controlada por el nivel de glucosa en sangre (20,28).

La preproinsulina que es un péptido de 11.5 kDa contiene además de las cadenas A y B dos secuencias más de aminoácidos que unen a estas dos cadenas, una es llamada péptido C y la otra péptido líder. Este último sirve para dirigir a la preproinsulina hacia el retículo endoplásmico rugoso de la célula donde las enzimas proteolíticas inmediatamente segmentan a la preproinsulina en proinsulina (28,29).

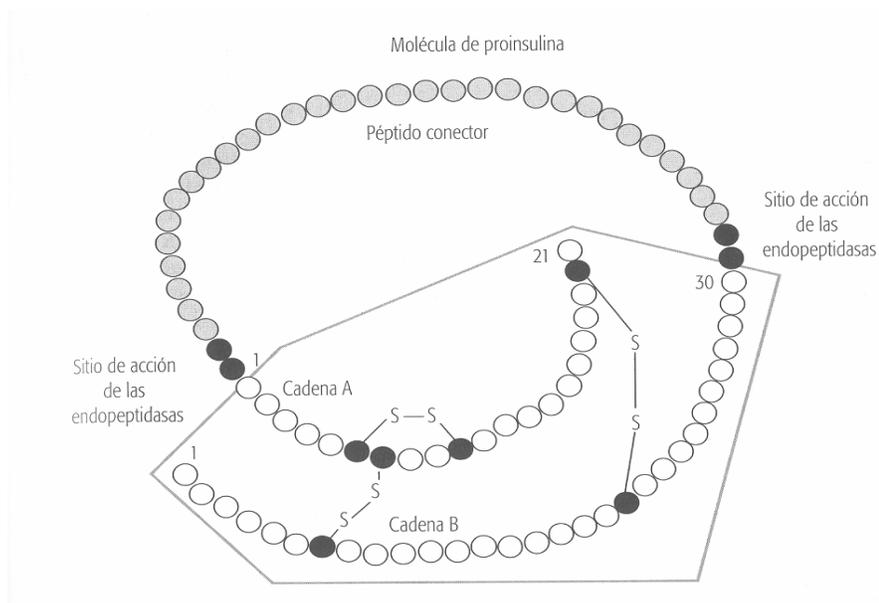
La proinsulina es un péptido de 9 kDa que contiene a la cadena A y B de la insulina unida por el péptido C. La conformación estructural de la proinsulina y la insulina son muy similares y la función principal del péptido C es de alinear los puentes disulfuro que unen las cadenas A y B; de este modo la cadena está plegada (22, 23)

La proinsulina es transportada por microvesículas al aparato de Golgi donde es empaquetada en vesículas limitadas por membranas que contienen una bomba de protones dependiente de ATP (29, 30, 31,32).

La conversión de proinsulina en insulina es iniciada en el aparato de Golgi y continúa dentro de los gránulos secretores por la acción secuencial de las endopeptidasas (prohormona convertasas 2 y 3) y la carboxipeptidasa H. Estas enzimas aseguran una rápida segmentación en sitios específicos, previniendo una fragmentación posterior de la insulina; actúan juntas para remover la cadena del péptido C liberando dos dipéptidos segmentados formando finalmente la insulina (30, 31). 32, 33).

El peso molecular de la insulina es de 5,800 Daltons, la vida media de la insulina en plasma es de 5-6 minutos. Es degradada por insulinasas ubicadas en el hígado y riñón. En casos de insuficiencia hepática y renal los niveles de insulina tienden a aumentar.

## MOLÉCULA DE PROINSULINA



**Figura 3.** Estructura de la proinsulina. La molécula de proinsulina corresponde a un péptido que engloba a la insulina y al péptido conector. Mediante la acción de endopeptidasas es escindida. La insulina está constituida por una cadena A y una B, unidas por puentes disulfuro. La cadena A tiene una secuencia de 21 aminoácidos y la cadena B de 30. La insulina está representada en blanco, mientras que el péptido conector está en gris. Los aminoácidos en negro representan las regiones en donde actúan las endopeptidasas (22).

La insulina es una hormona maestra en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas. Alteraciones en su producción, liberación y efecto biológico a nivel de los receptores con los que interacciona, ocasiona un grupo de padecimientos heterogéneos conocidos con el nombre de diabetes mellitus, una de sus manifestaciones es el aumento de glucosa plasmática (33, 34).

La cantidad de insulina liberada por día en condiciones normales en humanos es de 40-50 unidades (287-358 nano-Molas). La concentración en ayuno es de 10  $\mu\text{U}/\text{mL}$  después de una comida se eleva alrededor de 100  $\mu\text{U}/\text{mL}$  (22,35).

Los fenómenos implicados en la liberación de insulina por las células  $\beta$  están íntimamente ligados a la actividad eléctrica de su membrana plasmática. La liberación de insulina depende de cambios despolarizantes en el voltaje de la membrana. Para entender la función de las células  $\beta$  y la liberación de insulina es necesario conocer las propiedades eléctricas de la membrana. El campo eléctrico generado en la membrana es medido en Volts, como es de tan poca magnitud, se usan escalas en mV.

Todas las células generan un campo eléctrico alrededor de su membrana plasmática independientemente de su función o localización. El campo eléctrico generado en la membrana se debe a dos condiciones: 1) las concentraciones de iones son diferentes tanto en el líquido intracelular como en el extracelular. Las cargas positivas se agrupan preferentemente en el exterior de la membrana y las cargas negativas en el interior, y 2) el paso de iones a través de la membrana (35).

Como el potasio es un ion con carga positiva, a medida de que el potasio sale de la célula por difusión, el interior de la célula pierde cargas positivas y entonces adquiere valores negativos ocasionando una hiperpolarización. El caso contrario se llama despolarización. En las células  $\beta$  ocurre despolarización cuando se acumula una cantidad excesiva de cargas positivas en el interior de la célula. La acumulación de cargas positivas puede deberse a varias causas: una masiva entrada de algún ión con carga positiva (sodio, calcio, etc.), o bien, el impedimento en la salida del ión potasio.

En condiciones normales la célula  $\beta$  tiene un voltaje de membrana de  $-60$  mV. Al hiperpolarizarse la membrana, este valor puede disminuir a  $-80$  mV. En reposo ocurre una salida importante de potasio a través del canal de potasio dependiente de ATP. Sin embargo, a pesar de la salida de potasio, la cantidad de carga positiva en el interior de la célula permanece constante por la entrada de otros iones con carga positiva que tienen mayor concentración en el líquido extracelular, como sería el caso del sodio. La entrada de iones positivos se lleva a cabo también por un fenómeno de difusión pasiva a través de canales que no dependen de cambios de voltaje. Los canales que permiten el paso de estos iones al interior de la célula permanecen siempre abiertos y son llamados canales de fuga inespecíficos que no tienen compuertas. La fuerza que determina el paso de los iones a través de ellos es el simple gradiente electroquímico. De esta manera la cantidad de carga positiva en el interior de la célula es constante. Existe una corriente saliente de potasio (a través del canal dependiente de ATP) y una corriente entrante inespecífica o de fuga (35, 36).

A pesar de que las cantidades de carga positiva en la célula son constantes, gracias a las dos corrientes mencionadas, se acumulan iones de sodio en la célula y se pierden iones potasio. En esta situación la bomba sodio-potasio, al hidrolizar ATP, evita que las concentraciones de sodio y de potasio cambien drásticamente en el interior de la célula. La bomba saca el sodio que entra pasivamente a la célula por un mecanismo contracorriente, y mete, también por contracorriente, al potasio que salió pasivamente de la célula. De esta manera se consigue que a pesar del proceso de difusión, las concentraciones internas de sodio y potasio no varíen dentro de la célula  $\beta$ . En condiciones normales, por cada ATP que hidroliza la bomba, saca tres sodios y mete dos potasios. Como saca mayor cantidad de carga positiva, al bloquear la bomba ocurre mayor acumulación de cargas positivas en el interior de la célula y entonces ocurre una despolarización.

Una vez despolarizada la membrana, se libera la insulina por mecanismos moleculares (35, 36).

La molécula que estimula de manera más potente la secreción de insulina es la glucosa: a mayor concentración de glucosa, mayor cantidad de insulina.

La glucosa al entrar a la célula  $\beta$  es fosforilada mediante la enzima glucocinasa para formar glucosa-6-fosfato e iniciar la glucólisis. Es el ATP proveniente de la oxidación de la glucosa el responsable del cierre del canal de potasio.

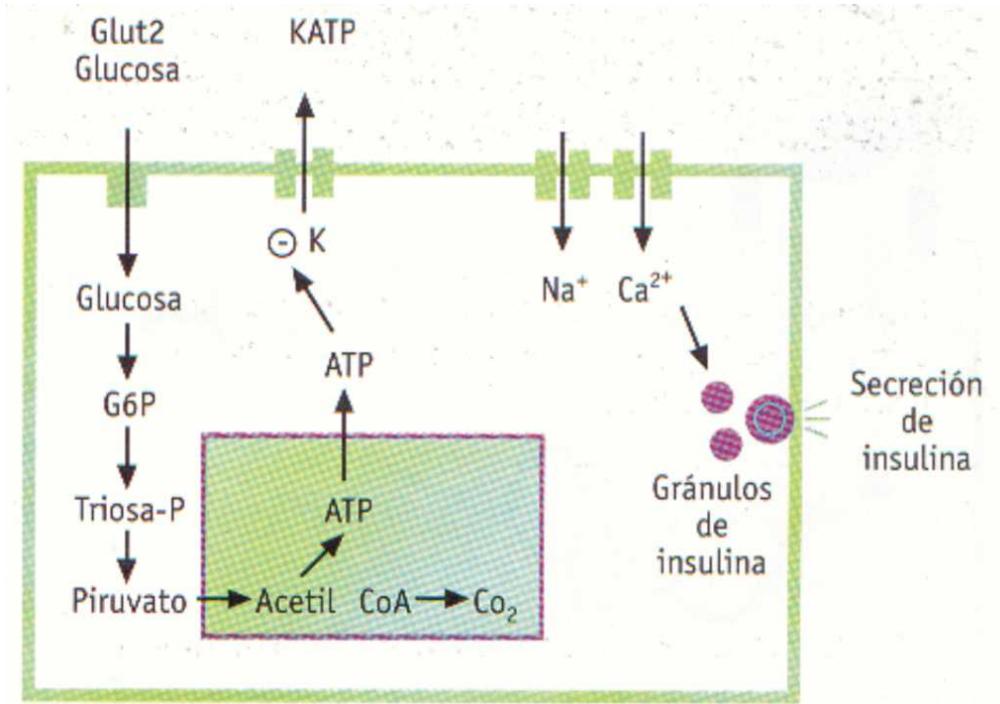
La fosforilación de la glucosa permite que se inicie la glucólisis obteniéndose ácido pirúvico, el cual entra a la cadena respiratoria en forma de acetil-CoA por medio del complejo de la piruvato-deshidrogenasa. La activación de la cadena respiratoria produce una concentración elevada de ATP en la célula y el cierre del canal de potasio dependiente de ATP con la consecuente cascada de eventos que desencadena la liberación de insulina (33, 34, 35, 36).

La secreción de insulina implica tanto la translocación de los gránulos secretorios a la periferia de la célula y su acceso a los sitios exocíticos en la membrana plasmática.

En general se considera que la secreción de insulina depende no sólo de la glucosa, sino de la unión de estímulos de secreción que en su conjunto dirigen la activación de distintos caminos de señalización como pueden ser AMPc, los iones calcio (tal vez actuando a través de proteínas reguladoras calcio-dependientes como calmodulina y la proteína cinasa C), metabolitos de fosfoinosítoles y ácido araquidónico, los que pueden actuar también como mensajeros intracelulares dirigiendo finalmente la estimulación de la secreción de insulina (34, 35, 36). (Figura 4)

También existe otro grupo de sustancias que estimulan la liberación de insulina, independientemente de las concentraciones de glucosa. Este tipo de sustancias se conoce como estimulantes directos. Dentro de estos casos destacan los hipoglucemiantes orales como las sulfonilureas, las biguanidas, las tiazolinedionas y los inhibidores de alfa glucosidasa (37, 38, 39). (Cuadro 7).

## SECRECION DE INSULINA.



**Figura 4.** La glucosa entra a la célula  $\beta$  por difusión facilitada a través de la molécula GLUT2, el metabolismo de la glucosa aumenta directamente proporcional a la concentración de glucosa extracelular. La glucosa es fosforilada por la glucocinasa y entra en glucólisis para producir adenosin trifosfato (ATP); éste cierra canales de potasio sensibles a ATP en la membrana de la célula  $\beta$  causando su despolarización que dirige un influjo de calcio extracelular a través de canales de voltaje dependientes en la membrana de las células  $\beta$ . El incremento en la concentración de calcio citosólico activa la translocación de los gránulos de insulina por exocitosis (33).

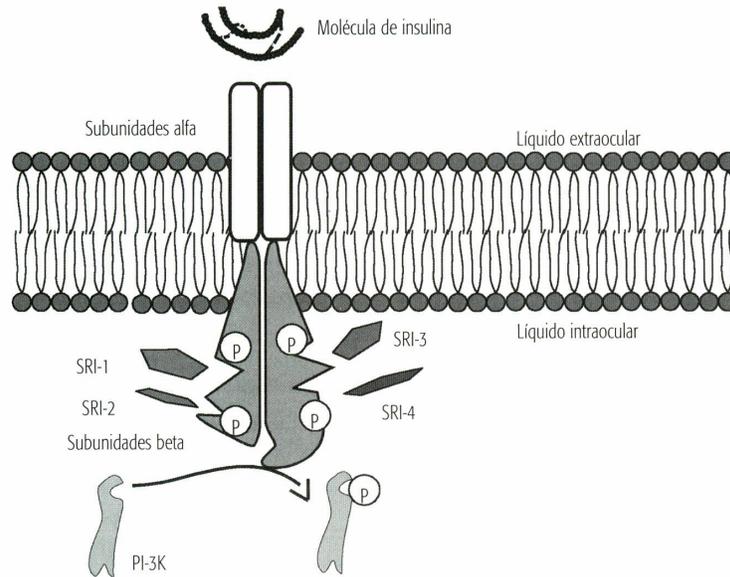
### 2.3.1 TRANSPORTADORES DE INSULINA

El receptor para insulina es una proteína integral de membrana de gran variedad de células. Sin embargo, la acción más importante de la insulina es en las células del tejido muscular estriado y cardíaco, así como en adipositos y hepatocitos.

El receptor consta de dos subunidades  $\alpha$  y dos subunidades  $\beta$ . Las subunidades  $\alpha$  tienen un dominio extracelular además del sitio de reconocimiento de la insulina. Las subunidades  $\beta$  presentan un dominio intracelular y tienen las regiones catalíticas que permiten su autofosforilación y la fosforilación de proteínas.

Los receptores para la insulina pertenecen a un grupo de moléculas con actividad de tirosina cinasa. La característica primordial de los receptores de tirosin-cinasa radica en que cuando se activan desencadenan una serie de cambios

conformacionales dentro del mismo receptor, provocando una autofosforilación de los residuos de tirosina por medio de la hidrólisis de moléculas de ATP. Una vez fosforilado el receptor, fosforila a otras proteínas (25). (Figura 4).



**Figura 5.** Receptor para insulina. Constituido por dos subunidades alfa y dos beta. Las subunidades alfa tienen el sitio de reconocimiento para la insulina, mientras que las beta son catalíticas. Las subunidades beta fosforilan a proteínas específicas conocidas como “Sustratos para el Receptor de Insulina” (SRI). Existen cuatro tipos de SRI. Cada uno es fosforilado en regiones determinadas de las subunidades beta (26).

La subunidad  $\beta$  fosforilada tiene capacidad para actuar como enzima uniendo grupos fosfato en proteínas específicas relacionadas al receptor de insulina, las cuales son conocidas como “sustratos relacionados con el receptor de insulina” (SRI). (Figura 5).

Existen cuatro diferentes tipos de SRI con funciones específicas. Se han demostrado diferentes grados de resistencia al efecto biológico de la insulina en función de alteraciones genéticas en cada uno de los SRI (Cuadro 7).

Cuadro 7. Diferentes tipos de sustratos relacionados al receptor para la insulina y efecto de sus deficiencias (26).

<b>Sustrato relacionado al receptor para insulina</b>	<b>Efecto de su disfunción</b>
SRI-1	Su disfunción se liga al retardo en el crecimiento.
SRI-2	Su disfunción causa resistencia a la insulina y retardo en el crecimiento de las células beta pancreáticas.
SRI-3	Su alteración no se ha ligado a ningún genotipo
SRI-4	Su deficiencia causa un modesto retardo en el crecimiento y resistencia a la insulina.

### 3. COLESTEROL Y TRIGLICERIDOS.

Las alteraciones en las concentraciones de lípidos plasmáticos en personas diabéticas son de gran importancia, debido al papel que juega la insulina en el metabolismo de los mismos

El colesterol es un constituyente importante de las membranas celulares, además de ser precursor en la ácidos biliares y de las hormonas esteroides.

Los triglicéridos y los ésteres de colesterol son insolubles en agua y son transportados en forma de lipoproteínas, las cuales tienen un centro hidrófobo de lípidos insolubles rodeados por una cubierta de componentes polares.

El aporte diario de grasas de la dieta se absorbe a través de la mucosa del intestino delgado en forma de colesterol y ácidos grasos, que son reesterificados en triglicéridos y ésteres de colesterol e incorporados dentro de los lípidos centrales de los quilomicrones que son proteínas plasmáticas que contienen las moléculas grasas aportadas por la dieta y que se conforman de esta manera para evitar su coalescencia y facilitar su transporte, viajan por el sistema linfático y entran a la circulación por la vena cava superior y son utilizados para transportar grasa desde el intestino al hígado o al tejido adiposo, tienen muy baja densidad así como contenido protéico y un alto contenido de triacilglicéridos ( 23, 40, ).

En el hígado, la insulina promueve la glucogenogénesis y la formación de VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad), mientras que en el músculo se favorece la glucogenogénesis y la glucólisis. También se da el transporte de aminoácidos para la síntesis de proteínas en diversos tejidos.

En el tejido, adiposo se favorece la síntesis y almacenamiento de triacilglicéridos así como la inhibición de la lipólisis (40, 41).

El hígado es el primer órgano blanco para elevar la concentración de glucosa en sangre, en este el glucagon promueve al glucogenólisis , la síntesis de cuerpos cetónicos a partir de los ácidos grasos y la gluconeogénesis a partir del glicerol, ambos provenientes de los triacilglicéridos almacenados en el tejido adiposo.

En el músculo, se lleva a cabo la proteólisis, para que los aminoácidos (principalmente la alanina) formen glucosa en el hígado por medio de la gluconeogénesis. A su vez también se promueve que cuerpos cetónicos formados en el hígado y ácidos grasos sean utilizados en el músculo para la obtención de energía (41, 42, 43).

Las alteraciones del metabolismo de lípidos y lipoproteínas ocurren con mayor frecuencia en personas con diabetes tipo 2, estos trastornos se presentan en los estados de intolerancia a la glucosa, la alteración más común es la hipertrigliceridemia, junto con niveles bajos de HDL (lipoproteínas de alta densidad) y valores normales o discretamente elevados de LDL (lipoproteínas de baja densidad). Estas anomalías se pueden presentar aún en pacientes con

diabetes tipo 2 con buen control, esto se debe a que en el sujeto con diabetes tipo 2 intervienen una serie de factores como obesidad, edad, hipertensión arterial sistémica, dieta, estilos de vida, tipo de hipoglucemiante, entre otros, los que contribuyen para un adecuado control.

La mayoría de las personas obesas con o sin diabetes presentan elevación de los ácidos grasos libres, los que provocan resistencia a la insulina, tanto periférica como intrahepática (41, 42, 43).

#### **4. DIABETES EXPERIMENTAL.**

El estudio de las enfermedades de manera experimental en humanos no se puede realizar por razones éticas, sin embargo, la investigación de muchas enfermedades que se presentan en animales también se presentan en humanos lo cual nos permite poder estudiar el desarrollo y tratamiento, así como la prevención de éstas enfermedades, por lo que se requiere la utilización de animales que sirvan como modelos experimentales de diabetes, estos modelos son necesarios, ya que hoy en día cualquier medicamento nuevo, ya sea para prevenir la enfermedad o controlarla, debe ser probado primero en animales. Así pues el investigador debe seleccionar cuidadosamente el modelo animal que más se acerque a sus necesidades. Es importante recordar que a pesar de que todos los animales diabéticos presentan hiperglucemia como un factor universal, ningún síndrome animal corresponde exactamente a ninguna de las formas de diabetes del humano (44).

Ninguno de los modelos animales es el reflejo idéntico de las enfermedades en humanos, por lo cual se debe tener cuidado en el momento de realizar extrapolaciones de los resultados que se obtengan de los modelos animales (45, 46,47).

##### **4.1 MODELOS ANIMALES DE DIABETES ESPONTÁNEA. (Cuadro 8).**

Entre las enfermedades que se presentan en mamíferos, incluyendo al hombre, se encuentra la diabetes la que puede presentarse de manera espontánea en roedores, y en algunos otros animales que se utilizan para la investigación en laboratorios.

La diabetes espontánea en animales es relativamente común, desde 1851 Leblanc documentó un caso de diabetes en un mono.

Posteriormente se ha reportado la presencia ocasional de diabetes en gatos, perros, ardillas, zorros, hipopótamos, antílopes y animales de granja. Sin embargo, solo se ha caracterizado bien en algunas especies como los roedores. En 1959 Meier describió la presencia de diabetes en una colonia de Hámsters Chinos (48).

La mayoría de la diabetes espontánea se caracteriza por presentar hiperglucemia y por lo menos hiperinsulinemia transitoria. Ya que no se puede hacer una estricta comparación del tipo de diabetes que presentan los animales con el que presentan los humanos, éstos se han dividido en: a) Animales con diabetes semejante a la tipo 1 que son animales delgados con hiperglucemia severa acompañada generalmente de cetogénesis. Pueden presentar insulinitis con destrucción de células beta. b) Animales con diabetes semejante a la tipo 2, los cuales presentan obesidad, hiperglucemia generalmente sin cetogénesis, con hiperinsulinemia inicial y posterior destrucción de células  $\beta$  (49).

## Animales con diabetes tipo 1.

- a) Ratón NOD (ratón diabético no obeso). Derivado del ratón albino de la cepa Jcl:ICR, que desarrolla espontáneamente DM tipo 1 autoinmune mediada por células T <sup>(50)</sup>.
- b) Rata Bio-Breeder (BB). Derivada de la cepa Wistar, es un modelo único de diabetes tipo 1, ya que presenta características muy similares a las que tienen los humanos con diabetes tipo 1. Son animales delgados, con hiperglucemia, hipoinsulinemia, cetogénesis e insulinitis pancreática en la mayoría de los casos. En las ratas BB, la diabetes se hereda a través de un solo gen autosómico recesivo con el 50% de expresión fenotípica cuando se encuentra en forma homocigótica para diabetes <sup>(50)</sup>.
- c) Hámster Chino. Presenta un contraste interesante con la rata BB. El síndrome que presenta es poligénico en el que participan por lo menos 4 genes y por lo menos 2 o más deben ser homocigotos. Dependiendo de los genes que participan, la enfermedad se puede presentar con hiperglucemia que va desde 200 a 600 mg/dl, acompañada de glucosuria intermitente hasta cetonuria. Estudios morfológicos revelan múltiples anormalidades de la célula  $\beta$  incluyendo degranulación, dilatación del retículo endoplásmico y alteraciones en los poros nucleares. Una diabetes más severa se asocia con un menor número de células  $\beta$  y una disminución en los niveles de insulina. No se observa insulinitis <sup>(51)</sup>.
- d) Conejillo de Indias. Presenta un tipo de diabetes semejante a la tipo 1 caracterizada por glucosuria e hiperglucemia que afecta aproximadamente 50% de los animales susceptibles. Se piensa que la causa de la diabetes en estos animales es viral aunque no se ha aislado ningún virus. El páncreas de los animales más afectados muestra una marcada degranulación de células  $\beta$  con la presencia de inclusiones citoplasmáticas que muy probablemente sean de glucógeno. Hay adelgazamiento de la membrana basal de los capilares con hialinización focal. La mayoría de los animales muestran una moderada neoformación de islotes e hiperplasia, probablemente como consecuencia de la hiperglucemia. Las patologías asociadas a la diabetes en estos animales son principalmente adelgazamiento de la lámina basal de capilares sanguíneos de riñón y ojos, muy similar a lo que ocurre en humanos. Es por esto, que los conejillos de indias son un buen modelo para estudiar la patología renal y de pequeños vasos asociada a la diabetes <sup>(51)</sup>.

**Cuadro 8. CARACTERÍSTICAS DE ALGUNOS ANIMALES CON DIABETES ESPONTÁNEA (48, 50, 53, 54,55).**

NOMBRE	CONSTITUCION	INSULINA PLASMÁTICA	TIPO DE DIABETES	CETOSIS	CELULA $\beta$
Rata BB (Bio-Breder)	delgada	Muy baja	Tipo 1	++++	Insulinitis, Necrosis de las células $\beta$
Ratón NOD (diabético no obeso) Jcl:ICR	delgado	baja	Tipo 1	+++	Destrucción autoinmune mediada por células T.
Hámster Chino (Cricetus griseus)	delgado	Normal o baja	Tipo 1	+	Degranulación, ↓ en el No. cél. $\beta$ . Con cetosis: necrosis
Hámster Sudafricano (Mysomys albicaudatus)	delgado	?	Tio 1	++	Hiperplasia e infiltración de glucógeno; con cetosis: necrosis
Perro Keeshond	delgado	baja	Tipo1	+++	Ausencia células $\beta$ ; células $\beta$ solitarias.
Conejillo de Indias	delgado	?	Tipo 1	+	Degranulación de cél. $\beta$ ; inclusiones citoplasmáticas de glucógeno en las células $\beta$ .
Ratón C57BL/6J ob/ob	Muy obeso	Inicio muy alta, después normal	Tipo 2		Inicio: degranulación; después: hiperplasia y regeneración
Ratón C57BL/KsJ ob/ob	Muy obeso	Inicio: alta, después normal	Tipo 2	—	Hiperplasia y regeneración
Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO)	Obeso	Alta	Tipo 2	Ocasional mente	Inicio: degranulación, después necrosis de células $\beta$
Ratón amarillo	obeso	Alta	Tipo 2	—	Hipertrofia e hiperplasia
Ratón KK	Obesidad moderada	Alta	Tipo 2	—	Hipertrofia e hiperplasia
Ratón amarillo-KK	Obesidad moderada	Alta	Tipo 2	—	Hipertrofia e hiperplasia
Rata obesa de la cepa Zuker (fa/fa Zuker)	Obesa	Alta	Tipo 2	—	Inicio: alargamiento de islotes, después ↓ insulina pancreática, ↓ No. cél. $\beta$
Rata de arena (Psammomys obesus)	obesa	Alta	Tipo 2	Ocasional mente	Alargamiento de los islotes: degranulación cel. $\beta$ ; depósito de glucógeno con cetosis, necrosis
Ratón rápido ??? (Acomis cahirinus)	obeso	Alta	Tipo 2	Ocasional mente	Hipertrofia e hiperplasia masiva
Ratón híbrido Wellesley (C3hfXI)	Obeso	Alta	Tipo 2	—	Hiperplasia, hipertrofia y degranulación de las cél. $\beta$
Rata GK	Delgada	Baja	Tipo 2	—	Masa reducida de Cél. $\beta$
Hámster Djungarian (Phodopus songorus)	Obeso	Alta	Tipo 2	+	Hipertrofia e hiperplasia
Tuco-tuco (Ctenomys talarum)	Muy obeso	?	Tipo 2 ?	—	Hipertrofia
Simio negro (Macaca nigra)	Delgado	Normal	?	—	Amiloide
Mono rehesus (Macaca mulata)	Obesidad central	Inicio: alta, después baja.	Tipo 2	—	Alteraciones en la secreción de insulina

## Animales con diabetes tipo 2.

Entre los modelos animales de diabetes espontánea tipo 2 más conocidos se encuentran el ratón ob/ob (mutación de obesidad de la cepa C57BL/6J), el ratón db/db (mutación para la diabetes del ratón ob/ob), el ratón KK (derivado de la cepa Kasukabe, presenta obesidad moderada y diabetes mellitus tipo 2), el ratón NZO (ratón obeso de Nueva Zelanda), la rata obesa de la cepa Zucker (fa/fa Zucker) que no presenta hiperglucemia aunque si resistencia a la insulina, la rata diabética fa/fa Zucker, desarrollada a partir de la fa/fa que presenta hiperglucemia, obesidad y resistencia a la insulina y la rata Goto-Kakisaki (GK) que presenta hiperglucemia moderada sin obesidad <sup>(52)</sup>.

- a) Ratón obeso (ob/ob). Se descubrió como una mutación espontánea autosómica recesiva de los laboratorios Jackson en 1949. Dependiendo de la alteración genética el ratón obeso puede presentar una variedad de síndromes diferentes. El ratón C57BL/KsJ ob/ob desarrolla marcada hiperglucemia, obesidad, hiperfagia e infertilidad. La obesidad precede a la hiperglucemia. Al inicio presentan hiperinsulinemia, posteriormente las células  $\beta$  se atrofian, provocando deficiencia en la secreción de insulina, lo que eventualmente llevará a la muerte del animal si no es tratado. Normalmente no se presenta citogénesis. Esta mutación demuestra la importancia del genoma en la expresión de los síndromes diabéticos <sup>(51)</sup>.
- b) Ratón db (diabético). Es producto de una mutación autosómica recesiva de un solo gen, localizado en el cromosoma 4 del ratón ob/ob. Los animales que son homocigotos para esta mutación presentan un síndrome caracterizado por hiperglucemia, hiperfagia y obesidad, muy similar al presentado por la mutación C57BL/6J del ratón ob/ob. Los animales heterocigotos, son necesariamente portadores asintomáticos del síndrome. Al inicio de la enfermedad presentan hiperinsulinemia, que puede ser un reflejo de la resistencia a la insulina, aunque esto aún no se comprueba, la hiperinsulinemia de acompaña al principio de una ligera hipoglucemia y degranulación de las células  $\beta$ . Para las 4 semanas de vida, los animales son hiperglucémicos, hiperfágicos y obesos. Para la edad de 5 meses, aumentan el grado de hiperglucemia, hay hipoinsulinemia, pérdida de peso y muerte prematura. El contenido pancreático de insulina se encuentra disminuido en todas las etapas de la enfermedad <sup>(53)</sup>.
- c) Rata Goto-Kakisaki (GK). Es una rata criada en Japón por Goto y Kasaki en 1975. Esta rata se deriva de ratas Wistar normoglicémicas las cuales fueron cruzadas endogámicamente entre aquellas que presentaron los niveles más elevados de glucosa durante una prueba de tolerancia a la glucosa en cada generación. Después de 9 generaciones (F9) las cías mostraron una consistente disminución de la respuesta de insulina a la estimulación con glucosa. Estas ratas representan un excelente modelo de diabetes tipo 2 no

obeso, ya que son ratas delgadas, con una hipergucemia moderada y secreción de insulina severamente alterada (52).

- d) Primates no humanos. Muchas de éstas especies desarrollan diabetes en forma espontánea incluyendo al mono rhesus. La diabetes que presentan es similar a la diabetes tipo 2 del humano, caracterizada por hiperglucemia, alteraciones en la secreción de insulina e intolerancia a la glucosa. Estos monos también presentan obesidad central o abdominal. Algunos estudios de la relación existente entre la composición corporal y las alteraciones en la regulación de la secreción de la glucosa sugieren una fuerte asociación entre la obesidad y el desarrollo de diabetes. Estos modelos nos ayudan para el estudio de la relación entre las enfermedades cardiovasculares y diabetes (49).

El *Maccaca nigra* presenta un alto índice de diabetes. Clínicamente la diabetes se manifiesta con pérdida de peso, polidipsia, poliuria, polifagia, decaimiento y mal estado general. Sin embargo, existe un grupo de animales que no presentan hiperglucemia, pero que han sido diagnosticados mediante una curva de tolerancia a la glucosa anormal. Los animales diabéticos tienen por lo general glucosa plasmática de 150 mg/dl o más. En el 50% de los animales los niveles de insulina son normales. Los niveles de glucagon se encuentran elevados al inicio de la diabetes, pero se encuentran muy por debajo del nivel normal en estadios tardíos de la diabetes. Histológicamente el páncreas presenta amiloidosis insular con necrosis de las células  $\beta$ . Los depósitos amiloides en el páncreas también se han observado en perros y humanos pero no en otros modelos animales. Este modelo presenta muchas similitudes con la diabetes humana tipo 2 por lo que es un excelente modelo para estudiarla (54).

### **Animales transgénicos y “Knock-out”.**

Además de la diabetes espontánea, el gran avance en la ingeniería genética nos permite contar con animales transgénicos, “knock-out”, o una combinación de estos. Los ratones transgénicos normalmente se utilizan para examinar los efectos de la sobreexpresión de un gen específico, ya sea en su forma natural o mutado. La expresión normal de un gen endógeno también puede ser inhibida por los ratones transgénicos que produzcan un tipo de RNA anti-sentido o un ribosoma dirigido en contra del gen. Los ratones con una mutación puntual en un gen o disrupción en genes tejido-específico, se utilizan para el estudio de las mutaciones genéticas en ausencia de la proteína endógena. El análisis sistemático de estos ratones, puede ayudar no sólo a la creación de modelos animales de diabetes, sino también a la búsqueda de posibles diabetógenos. Estos ratones también se pueden utilizar en la prueba de diferentes terapias (54).

## **4.2 MODELOS ANIMALES DE DIABETES INDUCIDA.**

La diabetes puede inducirse experimentalmente a través de cirugía, infección viral o administración de hormonas o agentes químicos.

### **4.2.1 Inducción quirúrgica.**

Los primeros intentos de producir diabetes experimental se realizaron en perros a través de la pancreatectomía parcial o total. Otro mecanismo de inducción fue la lesión quirúrgica en forma selectiva de las células del núcleo ventromedial del hipotálamo de ratas, se logró que estas desarrollaran diabetes experimental semejante a la diabetes tipo 2, presentando además obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina (51).

### **4.2.2 Inducción por virus.**

Se tiene conocimiento de un número de virus asociado con el desarrollo de la diabetes tipo 1 en humanos y animales. El mecanismo de acción de los virus, puede ser variado. Algunos pueden atacar y destruir directamente a las células  $\beta$  por efecto citolítico propio del virus o bien, indirectamente por una respuesta autoinmune que es iniciada y aumentada por el virus. La presencia de diabetes en estos casos, está relacionada con la habilidad de las células  $\beta$  para mantener la replicación viral (51).

La variante M del virus de la Encéfalo-Mio-Carditis (EMC) del ratón, es uno de los más importantes modelos animales de diabetes viral. La inyección de este virus en ratones macho adulto causa diabetes tipo 2 en aproximadamente el 40% de los ratones e histológicamente se presenta la insulinitis, por lo que se ha sugerido que pueden provocar una respuesta inmunológica celular suficiente como para destruir a las células  $\beta$  (43, 51). (Cuadro 9).

**Cuadro 9. Virus que inducen el desarrollo de diabetes en animales  
y humanos (43, 48)**

VIRUS	TIPO	HUÉSPED	FACTORES GENETICOS	COMENTARIOS
Encéfalo-Mio-Carditis (EMC)	RNA	Ratón hámster	+	Producen degranulación de células $\beta$ y necrosis, cél.pancreáticas afectadas, función anormal de cels. $\alpha$ .
Coxsackie B	RNA	ratón primates no humanos humanos	+ + no determ.	
Mengovirus Virus que afectan pies y boca	RNA RNA	ratón ganado ratón conejiillo de indias	+ no determinado	Necrosis casi total de céls. $\beta$ con infiltración de céls. redondas. Degranulación de céls. $\beta$ con cambios subcelulares en mitocondrias. Alteraciones en el tejido zimógeno pancreático.
Retrovirus		ratón		Necrosis de islotes focal a extensa con infiltración a los islotes de células inflamatorias.
Rubéola	RNA	humanos	+	
	RNA	hámsters conejos humanos	no determinado no determinado no determinado	Degranulación de céls. $\beta$ y cambios en organelos subcelulares.  Necrosis de células $\beta$ Infección de células $\beta$ , documentada únicamente <i>in vitro</i>
Virus bovino		ganado		
Virus de la parotiditis	RNA	primates humanos humanos	no determinado no determinado no determinado	
Kilham de rata	RNA	humanos rata	no determinado +	
Citomegalo-Virus	DNA	humanos	+	
Epstein-Barr	DNA	humanos	no determinado	
Varicela zoster	DNA	humanos	no determinado	
	DNA	humanos	no determinado	

### **4.2.3 Inducción por hormonas.**

Las hormonas anti-insulina como la epinefrina, el glucagon, los glucocorticoides y la hormona del crecimiento, tienen un efecto antagónico a la insulina. Cuando estas hormonas se encuentran en cantidades elevadas, ya sea por la presencia tumores o respuesta al estrés, se reduce la tolerancia a la glucosa y se presenta hiperglucemia. La epinefrina y el glucagon administrados a altas dosis en animales, tienen el mismo efecto anti-insulina que el que se presenta en humanos. Además se ha reportado la presencia de hiperglucemia e hiperplasia de las células  $\beta$  del páncreas en animales a los que se les administró hidrocortisona o ATCH (Hormona Adreno Corticotrópica). Este mecanismo de inducción de diabetes es útil cuando se quiere estudiar el efecto de la hiperglucemia en el páncreas ya que por su naturaleza, no existe destrucción pancreática durante la inducción (47, 48).

### **4.2.4 Inducción química.**

El uso de agentes químicos para producir diabetes permite realizar estudios precisos de los acontecimientos bioquímicos, hormonales y morfológicos que ocurren durante la inducción de diabetes y después de ésta. Existen diferentes clases de agentes químicos los cuales son capaces de inducir diabetes.

El primer grupo son sustancias tóxicas específicas que destruyen a las células beta y causan estado de deficiencia de insulina con efecto citotóxico irreversible.

El siguiente grupo son sustancias que actúan sobre células beta del páncreas produciendo un efecto citotóxico reversible.

El tercer grupo incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan el páncreas y como consecuencia se produce la diabetes.

El cuarto y último grupo incluye las hormonas, anticuerpos antiinsulina y algunos agentes quelantes, en particular el zinc (47, 48). (Cuadro 10).

## CUADRO 10. AGENTES QUIMICOS INDUCTORES DE DIABETES (45,46).

### 1. De efecto citotóxico irreversible sobre las células beta del páncreas:

- Aloxana
- Estreptozotocina
- Difenilthiocarbazina
- Oxine-9-hidroxiquinolona
- Vacor

### 2. De efecto tóxico reversible sobre las células beta del páncreas:

- 6- aminonicotinamide
- L-asparginasa
- Azida
- Cianida
- Ciproheptamina
- Acido hedeidroascórbico
- Fluorida
- Iodacetato
- Tiazidas
- 2-deoxiglucosa

### 3. Otros agentes

- Anticuerpos antiinsulina
- Somatostatina
- Catecolaminas
- Glucocorticoides
- Glucagon.

#### 4.2.4.1 ESTREPTOZOTOCINA.

La estreptozotocina (2-deoxi-2-(3-(metil-3-nitrosurea)1-D-glucopiranos) es un antibiótico de amplio espectro y ha estado en uso por mas de 30 años como agente para inducir la diabetes en animales experimentales (56, 57).

La estreptozotocina (SZT) es un antibiótico producido por la bacteria filamentosa *Streptomyces acromogenes*, perteneciente a la clase Actinomycetes (2, 27, 28, 29, 32).

Este antibiótico se ha utilizado con fines de investigación científica ya que induce diabetes parecida a la diabetes mellitus de los humanos. Se utiliza en animales experimentales para su uso en laboratorio y además es usado clínicamente como agente antitumoral en el tratamiento del cáncer pancreático humano, ya que presenta citotoxicidad específica sobre las células  $\beta$  del páncreas sin afectar otros tejidos (58, 59, 60, 61).

La fórmula molecular de la STZ es  $C_8H_{15}N_3O_7$  y su peso molecular está determinado por la destilación isotérmica en agua y es de 265 daltones (59, 60, 61, 62, 63, 64).

## ESTRUCTURA MOLECULAR DE LA ESTREPTOZOTOCINA.

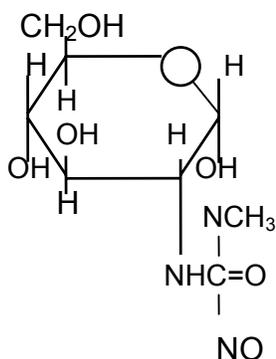


Figura 6. **Estreptozotocina**

La STZ está conformada por anómeros alfa y beta. Es inestable a temperatura ambiente, por lo cual se conserva en congelación, es más estable a un pH neutro (56, 62, 63, 64).

Tiene un grupo metilo terminal que le da a la molécula la capacidad de alquilación, esto es la introducción de grupos metilo en otras moléculas. (Figura 6).

La estructura química de la STZ incluye una molécula de glucosa con una cadena lateral de nitrosurea altamente reactiva, se piensa que ésta es la que desencadena la acción citotóxica. La movilidad de la glucosa dirige este agente a las células beta del páncreas, donde se une al receptor de membrana generando daño estructural (60, 61, 62).

La STZ tiene una vida media de 5 minutos y es eliminada de la circulación en un lapso de 4 a 6 horas. Se ha demostrado que su efecto es severo e irreversible y produce degeneración en los islotes de Langerhans. A dosis bajas puede causar daño en el DNA y provocar apoptosis de las células beta del páncreas, en dosis mayores causa muerte de la célula por necrosis.

Cuando se administra *in vivo* a ratas a dosis de 40 mg/kg por 5 días seguidos provoca apoptosis, mientras que a una dosis única entre 100 y 200 mg/kg provoca necrosis de las células beta (57, 58, 63).

Aun no se sabe exactamente cual es el mecanismo de acción de la STZ.

La STZ se une a las células beta del páncreas, el reconocimiento de la estreptozotocina se da por receptor específico en la superficie de la células beta (mayor afinidad por el anómero alfa de la parte glucosamina) el transportador de glucosa 2 (GLUT 2).

Se ha visto que las células que expresan transportador de glucosa 1 (GLUT 1) pero no GLUT 2 no se afectan por esta sustancia (63).

#### **4.2.4. 2. DOSIS Y VIA DE ADMINISTRACIÓN DE LA STZ**

La STZ puede ser administrada por vía intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intracardiaca e intramuscular. La administración intravenosa produce hiperglucemia inmediata que dura aproximadamente una hora, seguida por un periodo de hipoglucemia con una duración aproximada de 6 horas, que puede ser el resultado de la liberación descontrolada de insulina por las células  $\beta$  dañadas. La hiperglucemia estable se presenta en un lapso aproximado de 24 a 48 horas después de la inducción y permanece de tres a cuatro veces más elevada de lo normal aunado a una disminución sérica de insulina de aproximadamente 50 % y reducción de insulina intrapancreática de aproximadamente 5% (61, 62). 63, 64).

La STZ tiene una alta selectividad sobre las células  $\beta$  del páncreas, minimizando el daño sobre otros tejidos lo que permite mayor sobrevivencia a los animales experimentales sin el uso de insulina.

El primer efecto de la STZ se presenta en las próximas 2 o 3 horas posteriores a la administración, manifestándose con hiperglucemia transitoria. Esta hiperglucemia se puede deber a la salida repentina de glucógeno hepático que puede ser un efecto secundario a la liberación de epinefrina. Los niveles de insulina en la fase de hiperglucemia son bajos.

La segunda fase inicia aproximadamente a las 6 horas con hiperglucemia marcada que puede provocar la muerte del animal experimental (63,64).

#### **4.2.4.3. POSIBLES MECANISMOS DE ACCION DE LA ESTREPTOZOTOCINA**

A nivel intracelular, existen tres principales vías por las que se produce la muerte de las células  $\beta$  por la STZ. 1. Proceso de metilación, 2. Generación de radicales libres y 3. Producción de óxido nítrico (NO). (Figura 7).

#### **METILACION.**

El efecto deletéreo de la STZ resulta de la generación de iones carbono altamente reactivo ( $\text{CH}_3^+$ ) formados por la descomposición de la nitrosurea. El  $\text{CH}_3^+$  tiene la capacidad de alquilar las bases del DNA, lo que produce la ruptura de sus puentes en varias posiciones, dando como resultado la activación de la poli-ADP-ribosa sintetasa como parte del mecanismo de reparación celular, cuando el daño es lo suficientemente severo y el DNA ya no puede ser reparado, estas células inician el proceso de apoptosis (62, 63, 64).

## GENERACION DE RADICALES LIBRES.

Se ha demostrado que el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) puede producirse por los islotes pancreáticos después de su exposición a la STZ tanto *in vivo* como *in vitro*. Estos radicales tienden a fragmentar una considerable cantidad de DNA. La STZ inhibe a la superóxido-dismutasa que es un acarreador endógeno de radicales libres, por lo que se ha concluido que el estrés oxidativo tiene un papel importante en la citotoxicidad de la STZ (62, 63, 64).

## PRODUCCION DE OXIDO NITRICO.

Se ha propuesto al óxido nítrico (NO) entre las sustancias que actúan para mediar los efectos diabéticos de la STZ. No está muy claro el mecanismo de acción que conduce a la generación de óxido nítrico, pero puede involucrar a la degradación espontánea de la STZ. Al parecer la generación de óxido nítrico *in vivo*, depende de la presencia de pH ácido y de temperatura elevada, generándose aún en la oscuridad. Así mismo se ha demostrado que los macrófagos activados, producto de la reacción inflamatoria activan la producción de óxido nítrico mediando la destrucción autoinmune de las células  $\beta$  del páncreas, sin que se observe insulinitis (62, 63, 64).

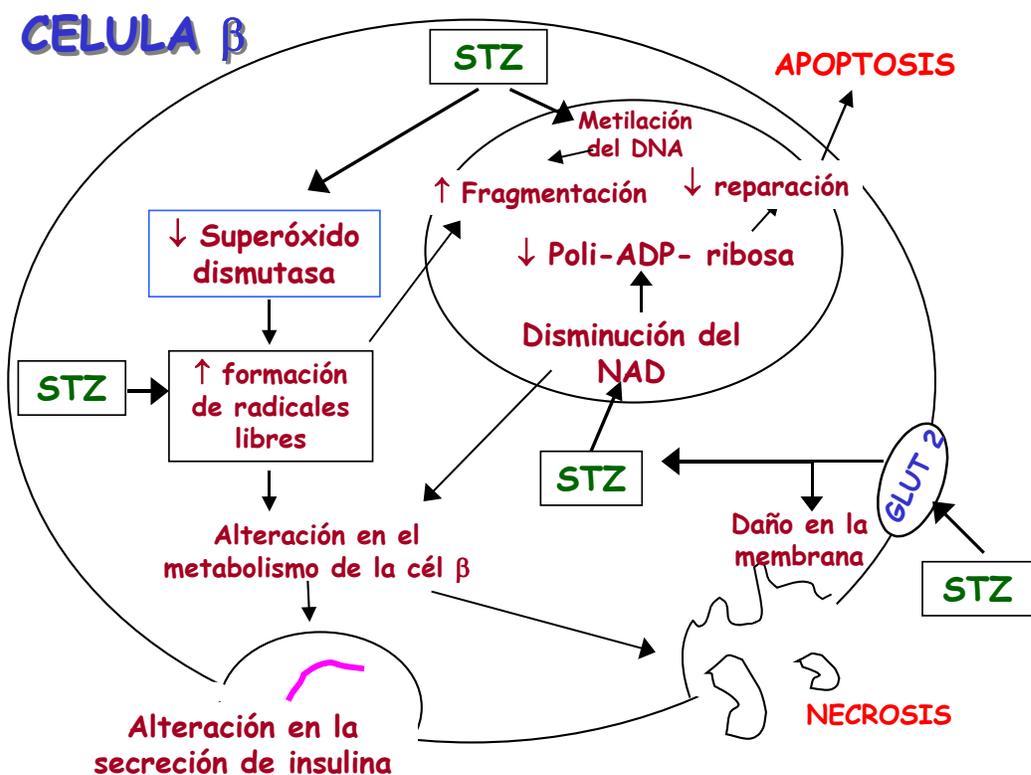


Figura 7. POSIBLES MECANISMOS DE ACCION DE LA ESTREPTOZOTOCINA

## 5. TRATAMIENTO MEDICO DE LA DIABETES.

Hasta el día de hoy la medicina cuenta con varias alternativas para el tratamiento de la diabetes mellitus. El tratamiento puede ir desde dieta y ejercicio, la administración de hipoglucemiantes orales únicos o combinados, o bien la aplicación de insulina.

El tratamiento con dieta y ejercicio se prescribe al paciente diabético en estado metabólico óptimo, es decir, en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que pueden mantener los niveles de glucosa normales. Con la práctica de ejercicio físico es posible metabolizar, aún en ausencia de insulina, las reservas del glucógeno y grasa en el organismo, así como activar las funciones del páncreas en cuanto a la secreción de insulina de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2. En un paciente diabético, el ejercicio físico aumenta considerablemente la utilización de la glucosa, ácidos grasos y de cuerpos cetónicos circulantes en la sangre (65).

Los hipoglucemiantes orales son fármacos que tienen la finalidad de incrementar la producción de insulina o sensibilizar los tejidos a su acción. Existen otros fármacos que actúan limitando la acción de algunas enzimas activas en el paciente diabético, estabilizando el metabolismo, o bien, inhibiendo aquellas que afectan la acción hidrolítica del almidón en el intestino, logrando una disminución de la absorción de la glucosa (66).

Los principales hipoglucemiantes orales son la metformina, las tiazolidinedionas, la repaglinida, la nateglinida y las sulfonilureas.

El tratamiento con insulina se utiliza en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y para pacientes con diabetes mellitus tipo 2 que no han respondido adecuadamente al tratamiento con dieta y ejercicio ni con hipoglucemiantes orales. La administración de insulina en pacientes diabéticos tiene como objetivo mantener los niveles normales de glucosa en sangre (66).

La elección de los hipoglucemiantes debe individualizarse y dependerá de la edad, peso, rapidez de corrección, de los valores de glucosa que se desean alcanzar, presencia de otras enfermedades y de la aceptación, motivación y educación del paciente (66).

Existe gran variedad de hipoglucemiantes orales cuyos mecanismos de acción son diferentes y corrigen la hiperglucemia al actuar sobre uno o más de los trastornos fisiopatológicos de la enfermedad. (Cuadro 11).

Cuadro 11. **HIPOGLUCEMIANTES ORALES Y MECANISMOS DE ACCION** (37, 38, 39)

<b>HIPOGLUCEMIANTE</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>MECANISMO DE ACCION</b>
SULFONILUREAS	-Glibenclamida -Glicazida -Tolbutamida -Acetohexamida -Tolazamida -Clorpropamida	Aumento de la estimulación a las células $\beta$ del páncreas para la liberación de insulina, a través del boqueo de la bomba de K-ATPasa provocando despolarización de la membrana celular e influjo de $Ca^{++}$ intracelular estimulando la secreción de insulina hacia torrente sanguíneo.
BIGUANIDAS	-Metformina -Buformina	Inhibición de la gluconeogénesis hepática y el incremento de la glucólisis anaeróbica, con la consiguiente elevación de alanina, glicerol y ácido láctico. También se sabe que inhibe la absorción intestinal de glucosa.
TIAZOLINEDIONAS	-Rosiglitazona -Troglitazona -Pioglitazona	Se lleva a cabo mediante la unión al subtipo $\gamma$ del receptor nuclear de proliferación activado por peroxisomas (PPAR $\gamma$ ), produciendo aumento en la transcripción de genes de las enzimas que normalmente son inducidas por la insulina, esta acción se lleva a cabo principalmente en el tejido muscular y graso, todo esto se traduce en aumento de la utilización periférica de glucosa.
INIBIDORES DE ALFA GLUCOSIDASA	-Acarbosa	Influyen sobre la digestión y absorción y además retardan el paso de la barrera intestinal. Pseudotetrasacárido con afinidad a las alfa glucosidasas del enterocito a los cuales inhibe cuando se une retardando la absorción de carbohidratos.

Los dos tipos de fármacos más comúnmente usados para el tratamiento médico de la diabetes mellitus son la metformina y la glibenclamida.

## 5.1 METFORMINA.

La metformina es un sensibilizador a la insulina que promueve la pérdida de peso y la disminución de los lípidos que habitualmente están elevados en los pacientes diabéticos.

Es una biguanida que ha sido utilizada en los últimos 40 años. El mecanismo de acción consiste en incrementar la sensibilidad hepática y periférica (principalmente muscular) a la acción de la insulina. La metformina no tiene acción directa sobre la célula  $\beta$  del páncreas, pero los pacientes tratados tienen disminución de los niveles de insulina de ayuno y postprandiales, lo que refleja una respuesta normal compensatoria del páncreas a la sensibilidad incrementada de la insulina (Cuadro 12).

La metformina también disminuye los niveles plasmáticos de triglicéridos y lipoproteínas LDL, así como la hiperlipemia postprandial y la oxidación de ácidos grasos libres (66,67).

Cuadro 12. Principales mecanismos de acción:

• Reducir la producción hepática de glucosa
• Disminuir la absorción intestinal de glucosa, principalmente en el intestino delgado, con lo que disminuye la glucosa postprandial
• Inhibir la gluconeogénesis
• Facilitar la acción de la insulina sobre diversos sustratos que intervienen en la formación de glucosa, como lactatos, piruvatos, glicerol y aminoácidos
• Oponerse a las acciones gluconeógenas del glucagon
• Reducir el nivel de ácidos grasos libres, con lo que mejora la sensibilidad a la insulina
• Promover la lipólisis
• Incrementar el efecto postreceptor de la sensibilidad a la insulina
• Disminuir el apetito, con la pérdida de peso consiguiente, que aunque en muchos casos es pequeña, es significativa para el mejor control metabólico.

Los principales efectos secundarios son a nivel gastrointestinal, provocan malestar abdominal y diarrea en 20-30% de los casos. Debido a que no incrementa la secreción de insulina, la hipoglucemia bioquímica es rara (66,67).

## 5.2. GLIBENCLAMIDA.

Es una sulfonilurea, inicia su acción uniéndose a receptores de las células beta del páncreas, cerrando los canales de K-AD, lo que conduce a una disminución del flujo de potasio y despolarización de la membrana de la célula  $\beta$ . Ello produce un aumento del flujo de calcio dentro de la propia célula  $\beta$ , se activa entonces el citoesqueleto y ocasiona translocación de los gránulos secretores de la superficie celular y exocitosis de la insulina. La insulina liberada así por el páncreas pasa por la vena porta y esta hiperinsulinemia portal suprime la elevada producción hepática de glucosa y causa disminución de la glucosa plasmática en ayuno.

La frecuencia de efectos adversos de las sulfonilureas es de 2-5 % son moderados y desaparecen al discontinuarlas. El principal efecto adverso es la hipoglucemia (66,67).

## 6. LA DIABETES Y LA MEDICINA TRADICIONAL EN MEXICO.

Las antiguas civilizaciones utilizaron muchas plantas con fines medicinales, lo que hasta nuestros días ha trascendido. Aún con la presencia de la medicina alópata en las grandes ciudades, la medicina herbolaria en México tiene gran aceptación, principalmente, en las zonas rurales y pueblos indígenas con las que se tratan diversas enfermedades entre las que se encuentra la diabetes mellitus.

Los primeros hombres que recorrieron los territorios fueron seleccionando a su paso los vegetales útiles, guardando sus hojas, raíces y semillas con las que intentaron resolver sus enfermedades durante sus desplazamientos.

La imitación del comportamiento de otros animales es un elemento primordial en el proceso de aprendizaje, los humanos observaron que los animales recurrieron a determinadas hierbas cuando estaban enfermos o heridos y así comenzaron a saber que las hierbas agrias provocan vómito, que las ortigas irritan la piel, que el jugo de los árboles lechosos cauteriza las heridas, que los mucílagos pegajosos de las plantas suculentas refrescan los cuerpos golpeados, etc. Estas fueron las circunstancias en que se encontró el hombre por miles de años, lo que enriqueció su conocimiento sobre la naturaleza.

Con el lenguaje el hombre pudo ordenar su conocimiento y transmitirlo, lo que lo llevó a seleccionar grupos de plantas que fueron reconocidos, denominadas y protegidas, para posteriormente extraer sus jugos, secar hojas y raíces, moler semillas y así iniciar la composición de un conocimiento teórico-práctico herbolario que constituyó la medicina del hombre primitivo (68, 69).

El uso de plantas medicinales en nuestro país data de los tiempos prehispánicos, es uno de los vínculos más directos que existe entre la medicina empírica del pasado y la farmacología actual.

Los cronistas españoles describen la amplitud de los recursos herbolarios utilizados entre los grupos indígenas, destacando en el siglo XVI los trabajos de Fray Bernardino de Sahún. Documentos y crónicas del periodo novohispano certifican y comprueban la continuidad de la práctica médica popular en Tenochtitlán y en las principales ciudades de la Nueva España, con particular referencia el uso de plantas medicinales (70, 71).

La medicina indígena fue principalmente herbolaria, aunque también se utilizaron productos minerales y animales, lo que era reforzado con oraciones religiosas que honraban a diversas deidades para encontrar apoyo sobrenatural.

En la actualidad se siguen utilizando las plantas medicinales por determinados grupos de la población urbana para aliviar malestares y enfermedades que corresponden a problemas crónicos como la diabetes, hipertensión, o bien para atender problemas infecto-parasitarios y gineco-obstétricos (70, 72).

Actualmente se realizan gran cantidad de estudios sobre diversas plantas medicinales de uso tradicional de lo que se han derivado nuevos campos de estudio como la etnofarmacología la cual se apoya principalmente en tres

disciplinas: la etnobotánica, la fitoquímica y la farmacología, de esta manera los análisis Etnofarmacológicos comprenden esencialmente la extracción, la evaluación etnofarmacológica y la identificación de cualquier químico bioactivo presente en los remedios tradicionales (70, 75, 76).

La etnobotánica estudia las relaciones entre las sociedades humanas y las plantas, describiendo la interacción entre el hombre y su ambiente natural apoyándose en la botánica, la antropología y la historia, siendo tanto la conservación cultural como la biodiversidad sus objetivos más importantes (50,51).

La fitoquímica en relación con la etnofarmacología, busca encontrar los principios activos de las plantas, sus derivados y el aislamiento de los mismos determinando su estructura química y su función biológica (76, 77, 78).

La farmacología estudia la acción y el efecto de las sustancias químicas de diversa naturaleza y origen sobre la materia viva, sus objetivos principales son:

- Determinar el efecto o actividad de las diversas sustancias y su posible toxicidad sobre los organismos vivos;
- Determinar la estructura de los principios activos de las sustancias;
- Evaluar los márgenes terapéuticos de la sustancia estudiada (dosis);
- Realizar controles microbiológicos para verificar la calidad de la sustancia.

La etnofarmacología es definida como “La exploración interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos, tradicionalmente empleados u observados por el hombre” (76, 77, 78).

En el año de 1991 Schultes define a la etnofarmacología como: “La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional”. El objetivo principal de la etnofarmacología es rescatar y documentar la herencia cultural antes de que ésta se pierda, así como investigar y evaluar los agentes empleados (76, 77, 78).

La etnofarmacología toma metodología y objetivos de otras ciencias, inicialmente para su estudio toma elementos de la etnobotánica, el principio de una investigación farmacológica debe iniciarse siempre en una comunidad de estudio para documentar el conocimiento tradicional del uso de las plantas *in situ*, las plantas seleccionadas deben ser cuidadosamente identificadas con la ayuda de la taxonomía botánica. Posteriormente deben ser analizadas fitoquímicamente en busca de los componentes principales o activos de la planta y paralelamente debe buscarse el modelo farmacológico adecuado para probar los componentes, ya sea aislándolos o a la planta en conjunto, el objetivo de esto es probar en un modelo farmacológico adecuado la acción atribuida a la planta. De esta manera la etnofarmacología hace válido el efecto farmacológico de las plantas y determina la posible existencia de agentes tóxicos para el humano (76, 77, 78).

En México ha sido tradicional el uso de medicina herbolaria para el tratamiento de enfermedades la cual ha sido bien aceptada por los pacientes. Como medicina

alternativa o complementaria se ha seleccionado por un alto porcentaje de la población para el tratamiento de muchas enfermedades crónicas incluyendo la diabetes.

En el 2002 se consideró que cerca de 880 plantas al rededor del mundo poseen actividad hipoglucemiante, 343 de las cuales se han reportado en la literatura científica. En reportes etnofarmacológicos existen aproximadamente 400 plantas utilizadas en México para el tratamiento de la diabetes <sup>(79)</sup>.

En México existen diversas revisiones etnobotánicas acerca del uso de plantas. Otros datos pueden encontrarse en muchas tesis o monografías de regiones específicas del país. Para México se han documentado cerca de 306 especies de 235 géneros y 93 familias utilizadas como agentes hipoglucemiantes.

Sin embargo, los datos obtenidos en el trabajo etnobotánico realizado por Andrade-Cetto et al (2005) en el estado de Guerrero muestran que tan solo las plantas hipoglucemiantes que son utilizadas por la población mexicana para el tratamiento de la diabetes tipo 2 podría ser el doble, cerca de 500 especies <sup>(79, 80)</sup>.

El *Equisetum myriochaetum* (“cola de caballo”) es una planta utilizada tradicionalmente por los curanderos para el tratamiento de enfermedades renales en varios estados de la república y además en el estado de Guerrero se usa para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo2 <sup>(81)</sup>.

Estudios con ratas con diabetes inducida con estreptozotocina muestran que extractos acuoso y butanólico de las partes aéreas del *Equisetum myriochaetum* tienen una significativa actividad hipoglucemiante comparable con el medicamento glibenclamida <sup>(79)</sup>.

En estudios realizados se ha demostrado la capacidad hipogluicemiante del extracto acuoso de las partes aéreas que el *E. Myriochaetum* ejercida en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnostico <sup>(79)</sup>.

## **6.1 *Equisetum myriochaetum*.**

### **TAXONOMIA.**

Phyllum: Pteridophyta  
Clase: Articulatae  
Orden: Equisetales  
Familia: Equisetaceae  
Género: *Equisetum*  
Especie: *myriochaetum*

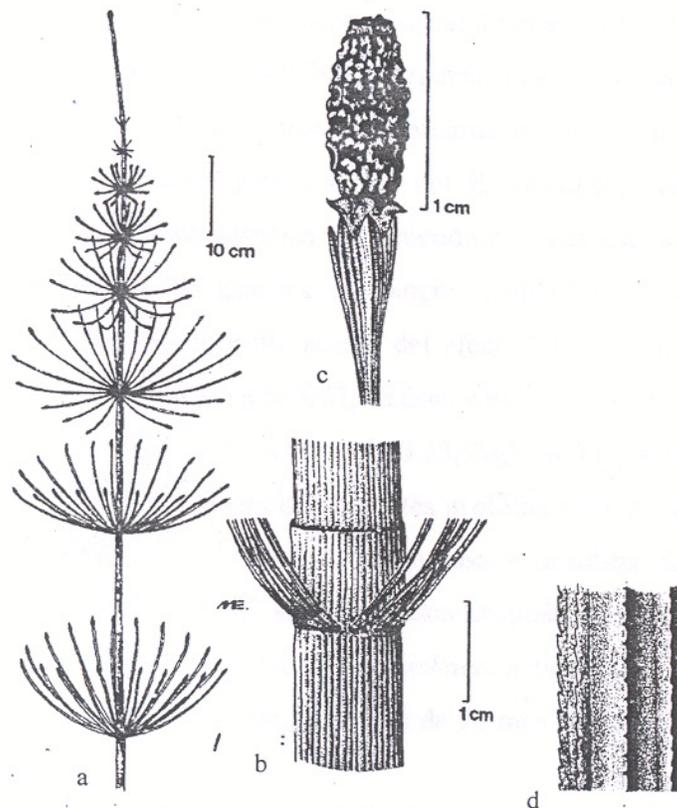
El género *Equisetum* presenta una distribución subcosmopólita en el mundo. Se le encuentra en gran variedad de climas y altitudes, pero con frecuencia relacionado a suelos saturados de agua.

En México, estas plantas son conocidas como “limpia plata”, “carrillos”, “cañuelos” o “cola de caballo” los dos últimos nombres hacen alusión al tipo de tallo que presentan (75).

En México y en ciertos lugares de Sudamérica el té de algunos representantes del género se recomienda como diurético y antiblenorrágico, así como contra los cálculos renales y vesiculares y enfermedades bacterianas como la disentería y gonorrea (74).

En México, el género *Equisetum* está representado por seis especies: *E. laevigatum* A. Braun, *E. xferrii* Clute, *E. hyemale* Linnaeus ssp. Affine (Engelmann Calder & R. L. Taylor, *E. myriochaetum* Schlechtendal & Chamizo, *E. xschaffneri* Milde y *E. hyemale* x *myriochaetum* (74).

### ***Equisetum myriochaetum***



**Figura 8.** a) hábito; b) detalle de la vaina; c) detalle del estróbilo; d) detalle de los últimos ejes (81, 82).

*Equisetum myriochaetum*. Schlechtendal & Chamizo, Linnaea 5:623.1830. Tipo: México, Veracruz, Misantla, Schiede y Deppe 833 (B).

### **Generalidades de *Equisetum myriochaetum*.**

Tallo aéreo, recto, robusto, articulado y fotosintético debido a que las hojas son abortivas, con una longitud de entre 1 y 2.5 m de alto y 7 a 18 mm de ancho, presenta de 16 a 48 costillas, las hojas son verticiladas, micrófilas, ramificadas y simples con una sola nervadura, poca clorofila o nula, consideradas como estructuras vestigiales su función es la protección de los meristemos, cada hoja está alineada a una cresta y se encuentran en los nudos (74).

La raíz es alargada y corta y el protosteles se encuentra rodeado por una endodermis (Figura 8).

Anatómicamente el tallo con un anillo colenquimático acanalado con crestas y valles, las crestas constan de esclerénquima y canales carinales cuya función es el almacenamiento de agua, invaginaciones (valles) en las regiones valeculares (almacenamiento de aire) hasta la base del clorénquima. El tallo se encuentra diferenciado en cutícula, epidermis silificado, cortex, endodermis y canal central.

Presenta rizoma perenne, extensivamente ramificado y rastrero, con raíces pubescentes; tallos aéreos perennes o caducos anualmente, monómorficos o dimórficos, erectos cilíndricos, irregularmente ramificados o simples o con ramas verticiladas saliendo de nudos.

Las esporófilas están formando un estróbilo en el ápice del tallo o de las ramas, cada esporófila pedicelada y terminando en un escudo protector hexagonal, del cual están suspendidos 5-6 esporangios elongados; esporas normales clorofilas, esféricas. Sin ornamentación en la superficie; gametofitos verdes, epigeos, ramificados, algunas veces bisexuales o funcionalmente unisexuales. Número cromosómico  $n=108$ .

Esta familia de plantas es afín a los helechos, nacen entre octubre y noviembre, presentan esporas de color verde brillante y con aláteres (74).

**Distribución:** México (Nayarit, Jalisco, Michoacán, Guerrero, Nuevo León, San Luis Potosí, Tamaulipas, Hidalgo, Veracruz, Puebla, Edo. de México, Oaxaca y Chiapas), Centroamérica y Sudamérica hasta Perú (74).

**Altitud y hábitat.** Se le encuentra creciendo a orilla de ríos, arroyos, en terrenos arenosos y húmedos sobre laderas calizas con vegetación de bosque mesófilo de montaña y matorral submontaño, bosque de *Pinus*, *Pinus-Quercus*, bosque tropical caducifolio, bosque tropical superennifolio y bosque de galería en alturas

de 1850 a 2100 m s.n.m., en clima de tipo semicálido de la cuenca del río Balsas. Es una especie en peligro de extinción, debido a que el hábitat es muy restringido y está siendo fuertemente modificado por la actividad humana (74).

**Antecedentes fitoquímicos.** Los compuestos farmacológicos presentes en el extracto activo de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* son glucoflavonoides: campferol-3-O-sofosido, campferol-3,7-di-O-βglucosido, campferol-3-Osoforosido-4'-O-β-glucosido y el precursor caffeoyl-metil-ato-4'-O-βglucopiranosido (84).

Otros compuestos reportados para esta especie son: β-sistosterol, pinocembrina, crisina, β-d-glucosistosterol y una mezcla de ácidos grasos compuesta de: ácido laurico, mirístico, pentadecanóico, palmítico, margárico, esteárico, behenico y lignocérico.

De acuerdo a estudios realizados por Wiedenfeld, *et al.* (2000), el té medicinal está compuesto por flavonoides, en particular glucósidos del campferol (81).

Los flavonoides son pigmentos casi universales en los vegetales, casi siempre hidrosolubles, son los responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Los flavonoides pueden ser amarillos, azules, violetas, antocianósidos rojos y si no son directamente visibles ayudan a la coloración como copigmentos. Existen más de 4,000 y todos tienen un mismo elemento estructural básico, se agrupan en relación al grado de oxidación del grupo piránico central en flavanos, flavonoles y antocianidinas. Las funciones biológicas de los flavonoides son en general: protectores de las células contra el daño oxidativo (antioxidantes), protectores contra UV-B, eliminadores de radicales libres, fitoalecinas (hormonas vegetales), funguicidas, insecticidas, antivirales, antihemorrágicos (factor vitamina P), espasmolíticos, antihepatóxicos, diuréticos, antialérgicos, bactericidas; tienen una gran capacidad para fijar metales como el hierro y el cobre; tienen actividad sedativa, y como antimaláricos; como moduladores de enzimas de biotransformación, agentes antitumorales; para la prevención de enfermedades cardiovasculares. Estudios epidemiológicos han demostrado que los flavonoides tienen propiedades anticarcinogénicas y antioxidantes (84, 85, 86, 87,88, 89).

**Antecedentes farmacológicos:** Se han realizado pruebas con ratones, en donde se demuestra el efecto diurético del extracto clorofórmico a dosis de 50 mg/kg. Andrade *et al* (2000) demostraron en ratas el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso y butanólico (90).

También fue determinado el efecto hipoglucemiante de *Equisetum myriochaetum* en otro estudio realizado en el Centro Médico Siglo XXI probando el efecto del extracto acuoso de las partes aéreas de la planta (0.33 g/kg) en 11 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico a los que se les administró una dosis del extracto y la cantidad de glucosa e insulina fue determinada a diferentes tiempos 0, 30, 60, 90, 120 y 180 minutos después de la administración, los resultados demostraron que el extracto de *E. myriochaetum* tiene efecto

hipoglucemiante en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 después de 90 minutos de haber sido administrada (79).

**Posible toxicidad del género:** Al género *Equisetum* se le ha atribuido un efecto tóxico debido a la presencia de alcaloides (palustrina) y saponinas, sin embargo, la principal actividad tóxica se debe a la presencia de la enzima tiaminasa que destruye la vitamina B1. No se han reportado casos de toxicidad en humanos (73).

## 7. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La diabetes mellitus tipo 2 es una serie de alteraciones metabólicas considerada como un problema de salud pública por el gran número de personas que la padecen. Aproximadamente 150 millones de personas en el mundo padecen diabetes mellitus tipo 2 en la actualidad y se espera que para el año 2025 esta cifra aumentara al doble de casos, según cálculos de la Organización Mundial de Salud (OMS).

Este padecimiento se debe principalmente a la carga genética de cada individuo y al estilo de vida que ha adoptado la población.

De lo anterior se desprende la inquietud de la gente por querer obtener la cura para este padecimiento y entre sus opciones existe el uso de plantas medicinales. La herbolaria es un recurso que no es muy bien valorado por la medicina alopática pero de la que gran número de la población hecha mano hasta el punto que ha despertado la inquietud científica para encontrar los principios activos de las plantas y poder ofrecer a la población un tratamiento menos riesgoso, de origen natural y mas económico.

Una de las plantas que se ha estudiado es el *Equisetum myriochaetum* que es utilizado principalmente por sus efectos diuréticos y para el tratamiento de enfermedades renales, pero que también, de acuerdo a algunas investigaciones, se ha descubierto tiene efecto hipoglucemiante para el tratamiento de la diabetes ya que para este fin es utilizado en el estado de Guerrero.

## **8. HIPOTESIS.**

El extracto acuoso de las partes aéreas *Equisetum myriochaetum* ejercerá un efecto hipoglucemiante en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina después de su administración diaria durante 33 días.

## **9. OBJETIVO PARTICULAR.**

Determinar experimentalmente el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* en ratas con diabetes inducida con STZ después de su administración diaria durante 33 días.

### **9.1 OBJETIVOS ESPECIFICOS.**

Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* con el efecto hipoglucemiante de la metformina en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina después de 33 días de tratamiento.

Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* con el efecto de la glibenclamida en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina en 33 días de tratamiento.

Comparar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* en ratas diabéticas con el efecto del extracto de las partes aéreas de *E. myriochaetum* en ratas no diabéticas después de 33 días de tratamiento.

Comparar el efecto del extracto acuoso de las partes aéreas de *E. myriochaetum* en ratas no diabéticas con ratas no diabéticas sin tratamiento después de 33 días.

## 10. MATERIAL Y METODO.

El extracto liofilizado del *Equisetum myriochaetum* fue proporcionado por el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias UNAM a cargo del Dr. Adolfo Andrade-Cetto.

Se utilizaron 41 ratas hembras de la cepa Sprague-Dawley con peso entre 300 a 380 gramos, de las cuales 28 se inyectaron intraperitonealmente (ip) con una dosis única de STZ a una concentración de 50 mg/kg en amortiguador de acetatos 0.1 M a un pH de 4.3 con la finalidad de inducir la diabetes.

Se formó un lote de 3 ratas a las cuales se les inyectó intraperitonealmente amortiguador de acetatos 0.1 M a pH de 4.3.

A las 10 ratas restantes se les inyectó intraperitonealmente amortiguador de acetatos 0.1M a un pH de 4.3

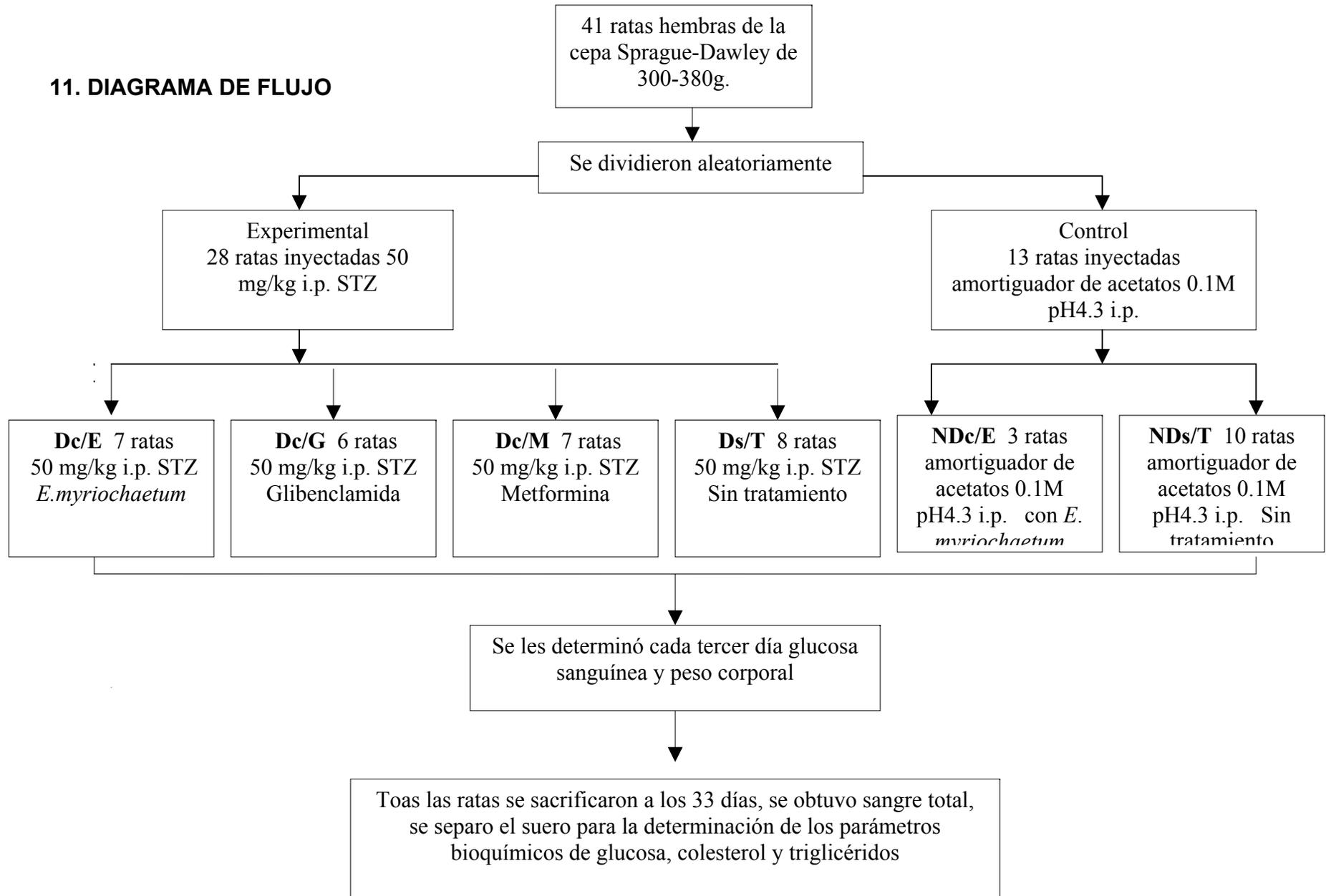
Todas las ratas permanecieron en condiciones de bioterio con temperatura controlada, de 22 a 25°C, con periodos de luz y oscuridad de 12/12 con acceso a alimento y agua *ad libitum*.

48 horas después de la inyección con estreptozotocina, se les determinó glucosa de la vena caudal utilizando glucómetro Elite de Bayer. Se consideraron diabéticas aquellas ratas cuyo nivel de glucosa fue  $\geq 200$  mg/dl.

Posteriormente se formaron los lotes de manera aleatoria como sigue



## 11. DIAGRAMA DE FLUJO





### **LOTE Dc/E (Diabéticas con *Equisetum*)**

Formado por 7 ratas con diabetes inducida con STZ a las cuales se les administró, diariamente, por 33 días, el extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* vía oral a una concentración de 3.5 mg diluido en 1 ml de solución salina (0.9%) como vehículo.

### **LOTE Dc/G (Diabéticas con Glibenclamida)**

Formado por 6 ratas con diabetes inducida con STZ a las cuales se les administró, diariamente por 33 días, glibenclamida vía oral a una concentración de 2.85 mg disuelto en 1 ml. de solución salina (0.9%).

### **LOTE Dc/M (Diabéticas con Metformina)**

Constituido por 7 ratas con diabetes inducida con STZ a las cuales se les administró, diariamente por 33 días, metformina a una concentración de 2.85 mg, disuelto en 1 ml. de solución salina (0.9%).

### **LOTE Ds/T (Diabéticas sin tratamiento)**

Este lote estuvo formado por 8 ratas con diabetes inducida con STZ a las cuales no se les administró medicamento ni extracto de *Equisetum myriochaetum*.

### **LOTE NDc/E (No diabéticas con *Equisetum*)**

Constituido por 3 ratas no diabéticas a las que se les inyectó ip amortiguador de acetatos 0.1M a pH de 4.3, y se les administró diariamente, durante 33 días, 3.25 mg de extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* por vía oral, diluido en 1 ml. de solución salina al 0.09%.

### **LOTE NDs/T (No diabéticas sin tratamiento)**

Formado por 10 ratas no diabéticas a las que les inyectó ip amortiguador de acetatos a una concentración 0.1 M a pH de 4.3, a las cuales no se les administró medicamentos ni extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum*.

Se realizaron determinaciones de glucosa de la vena caudal a todas las ratas cada tercer día, así como la toma de peso en un horario de 9:00 a 9:30 AM durante 33 días.

El día 33 se sacrificaron todas las ratas por dislocación craneocervical, se realizó la disección de ellas y se obtuvo sangre total de la aorta para posteriormente centrifugarla a 3,000-3,500rpm durante 15 minutos. Se separó del suero y se determinaron los parámetros bioquímicos de glucosa, colesterol y triglicéridos con el analizador Kodak Ektachem DT 60 II.

## **12. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Los resultados se expresaron como promedio  $\pm$  desviación estándar. Se realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA). La prueba fue significativa cuando el valor de  $p \leq 0.05$ . Para la comparación específica de los grupos, se realizó una post-prueba de Bonferroni.

## 13. RESULTADOS.

### 13.1 Glucosa

Las ratas que conformaron el lote diabéticas con *Equisetum myriochaetum* (Dc/E) presentaron un promedio de glucosa al inicio del experimento de  $349.5 \pm 29.66$  mg/dl y al finalizar el mismo se obtuvieron los datos de  $274 \pm 29.66$  mg/dl, al comparar los datos iniciales con los finales de este grupo se pudo observar que durante el desarrollo de el experimento los niveles de glucosa fueron disminuyendo, diferencia que fue estadísticamente significativa con una  $p < 0.001$ .

El lote de ratas diabéticas con glibenclamida (Dc/G) presentaron un promedio de glucosa de  $317.1 \pm 27.74$  mg/dl al inicio del experimento y al final del estudio presentaron  $360.6 \pm 32.04$  mg/dl, al comparar ambos resultados entre sí se observa que presentan diferencias estadísticamente significativas con un valor de  $p < 0.001$ .

El lote de ratas diabéticas con metformina (Dc/M) presentaron un promedio de glucosa de  $372.8 \pm 27.74$  mg/dl al inicio del experimento y para cuando concluyó el experimento los datos obtenidos fueron de  $374.1 \pm 29.66$  mg/dl, al realizar la comparación de los valores obtenidos se observa que no existe diferencia estadísticamente significativa con una  $p > 0.05$ .

Para el lote de ratas diabéticas sin tratamiento (Ds/T) se obtuvo un promedio de glucosa de  $335.8 \pm 27.74$  mg/dl día inicial, durante los días que transcurrió el experimento se observó un aumento en los niveles hasta obtener la medición final de  $471.6 \pm 27.74$  mg/dl de promedio de glucosa con lo anterior se observó que existe diferencia significativa al comparar el valor inicial con el final con una  $p < 0.001$ .

Las ratas del lote no diabéticas con *Equisetum myriochaetum* (NDc/E) presentaron un promedio de glucosa de  $104.3 \pm 45.3$  mg/dl al inicio del experimento y al finalizar el experimento se obtuvo un promedio de glucosa de  $97.3 \pm 45.3$  mg/dl con lo anterior se observa que los datos no presentan diferencia estadísticamente significativa (NS) desde el inicio al término del experimento.

El lote de ratas no diabéticas sin tratamiento (NDs/T) presentó un promedio de glucosa de  $100.3 \pm 24.81$  mg/dl al inicio del experimento y al final de éste los datos obtenidos de promedio de glucosa fueron de  $96.6 \pm 24.81$  mg/dl con lo que observa que no existe diferencia estadísticamente significativa (NS) entre el inicio y término del experimento.

Al comparar los resultados obtenidos del lote de ratas diabéticas con extracto acuoso de *E. myriochaetum* con el lote de ratas diabéticas tratadas con glibenclamida, se observa que durante el desarrollo del experimento los promedios de glucosa son menores estadísticamente significativos en el lote de

ratas tratado con extracto acuoso de *E.myriochaetum*, al finalizar el experimento se obtiene un promedio de glucosa de  $274 \pm 29.66$  mg/dl en el lote tratado con *E. myriochaetum* y de  $360.6 \pm 32.04$  mg/dl para el lote con glibenclamida.

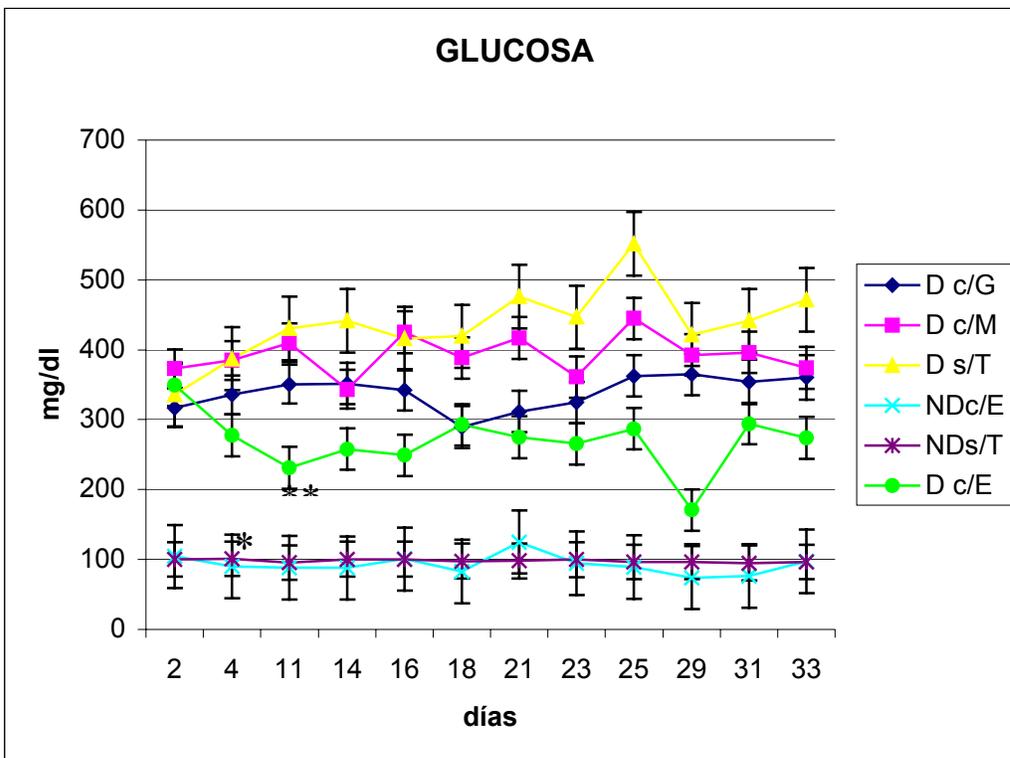
Cuando comparamos los resultados obtenidos del lotes de ratas diabéticas que recibieron tratamiento con extracto acuoso de *E. myriochaetum* con los resultados del lote de ratas diabéticas que recibieron tratamiento con metformina se tiene lo siguiente: El lote de ratas diabéticas que recibieron extracto acuoso de *E. myriochaetum* presentó durante el desarrollo del experimento niveles de glucosa menores en comparación con el lote de ratas diabéticas que recibieron tratamiento con metformina, al finalizar el experimento se obtuvieron los siguientes resultados: el lote de ratas diabéticas tratadas con *E. myriochaetum* obtuvieron un promedio de  $274 \pm 29.66$  mg/dl al concluir el experimento y el promedio final obtenido del lote que recibió tratamiento con metformina fue de  $374.1 \pm 29.66$  mg/dl.

Tabla 1: Glucosa

DIA	D c/E	D c/G	D c/M	D s/T	ND c/E	ND s/T
2	$349.5 \pm 29.66$	$317.1 \pm 27.74$	$372.8 \pm 27.74$	$335.8 \pm 27.74$	$104.3 \pm 45.30^*$	$100.3 \pm 24.81^*$
4	$277.5 \pm 29.66^{**}$	$335.5 \pm 27.74$	$384.7 \pm 27.74$	$387.1 \pm 27.74$	$90 \pm 45.30^*$	$100.9 \pm 24.81^*$
11	$231.1 \pm 29.66^{**}$	$350.7 \pm 27.74$	$410 \pm 27.74$	$430.5 \pm 27.74$	$88.3 \pm 45.30^*$	$95.7 \pm 24.81^*$
14	$257.8 \pm 29.66^{**}$	$351.5 \pm 29.66$	$343.4 \pm 27.74$	$441.6 \pm 27.74$	$88 \pm 45.30^*$	$100.4 \pm 24.81^*$
16	$249.1 \pm 29.66^{**}$	$342.4 \pm 9.66$	$425.1 \pm 29.66$	$415.8 \pm 27.74$	$100.6 \pm 45.30^*$	$100.5 \pm 24.81^*$
18	$293 \pm 29.66^{**}$	$289.4 \pm 29.66$	$388.2 \pm 29.66$	$419.3 \pm 27.74$	$82.6 \pm 45.30^*$	$97.7 \pm 24.81^*$
21	$274.8 \pm 29.66^{**}$	$311.4 \pm 29.66$	$416.8 \pm 29.66$	$475.8 \pm 27.74$	$125 \pm 45.30^*$	$97.9 \pm 24.81^*$
23	$265.5 \pm 29.66^{**}$	$324.7 \pm 29.66$	$361.2 \pm 29.66$	$446.5 \pm 27.74$	$94.6 \pm 45.30^*$	$99.7 \pm 24.81^*$
25	$287.1 \pm 29.66^{**}$	$362.7 \pm 29.66$	$445 \pm 29.66$	$551.7 \pm 27.74$	$89.3 \pm 45.30^*$	$96.7 \pm 24.81^*$
29	$170.7 \pm 29.66^{**}$	$364.8 \pm 29.66$	$392.4 \pm 29.66$	$421.8 \pm 27.74$	$74 \pm 45.30^*$	$96.9 \pm 24.81^*$
31	$294.4 \pm 29.66^{**}$	$356.8 \pm 32.07$	$396.2 \pm 29.66$	$441.2 \pm 27.74$	$76.3 \pm 45.30^*$	$94.9 \pm 24.81^*$
33	$274 \pm 29.66^{**}$	$360.6 \pm 32.04$	$374.1 \pm 29.66$	$471.6 \pm 27.74$	$97.3 \pm 45.30^*$	$96.6 \pm 24.81^*$

Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T  $p^* < 0.0001$ ; Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T  $^{**} p = 0.004$ .

Gráfica 1 Glucosa



Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T  
 \* $p < 0.0001$ ; Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T \*\*  $p = 0.004$ .

## 13.2 PESO

El lote Dc/G presentó peso promedio de de  $329 \pm 7.66$  g al inicio del experimento y al finalizar éste presentaron un promedio de peso de  $235.6 \pm 8.85$  g, observándose diferencia significativa con una  $p < 0.001$ .

El peso promedio del lote Dc/M fue de  $319 \pm 7.66$  g, al finalizar éste se obtuvo el promedio de peso de  $211.4 \pm 8.18$  g siendo significativamente diferentes con una  $p < 0.001$ .

El lote DS/T presentó un peso promedio de  $318.2 \pm 7.66$  g que al comparar con el resultado final del experimento que fue de  $196 \pm 7.66$  g, se observó diferencia estadísticamente significativa con una  $p < 0.001$ .

Las ratas del lote NDc/E tuvieron un peso promedio de  $304.3 \pm 12.51$  g. y al finalizar el experimento el promedio de peso fue de  $371 \pm 12.51$  g. observándose diferencia significativa con una  $p < 0.001$ .

En el lote NDS/T presentó un peso promedio de  $333.2 \pm 6.85$  g. y al finalizar el experimento el valor fue de  $405.7 \pm 6.85$ , se observa que el peso fue incrementando conforme transcurrió el experimento con una diferencia significativa con una  $p < 0.001$ .

El lote Dc/E presentó un peso promedio de  $350.5 \pm 8.19$  g al inicio del experimento y conforme fue transcurriendo el experimento se fue observando un decremento hasta llegar a  $236.1 \pm 8.19$  g. con una  $p < 0.001$ .

Al inicio del experimento no se observa diferencia entre los 6 diferentes lotes, al término del experimento se aprecia que los lotes mantienen diferencias significativas expresados como sigue:

El lote Dc/G vs. lote Dc/M, Ds/T, NDc/E, NDs/T, Dc/E, presentan diferencias estadísticamente significativas con una  $p < 0.0001$ .

El lote Dc/M vs. Ds/T, NDc/E, NDs/T, Dc/E, presentan diferencias significativas con una  $p < 0.0001$ .

El lote Ds/T vs. NDc/E, NDs/T, Dc/E, Dc/G, con diferencia estadísticamente significativa con una  $p < 0.0001$ .

El lote Dc/E vs. NDc/E, NDs/T, son diferentes significativamente con una  $p < 0.0001$ .

El lote NDc/E vs. NDs/T es significativamente diferente con una  $p < 0.0001$

Al comparar los resultados iniciales de lotes Dc/G, Dc/M, Ds/T y Dc/E con los mismos lotes existe un decremento con respecto a los datos finales del experimento.

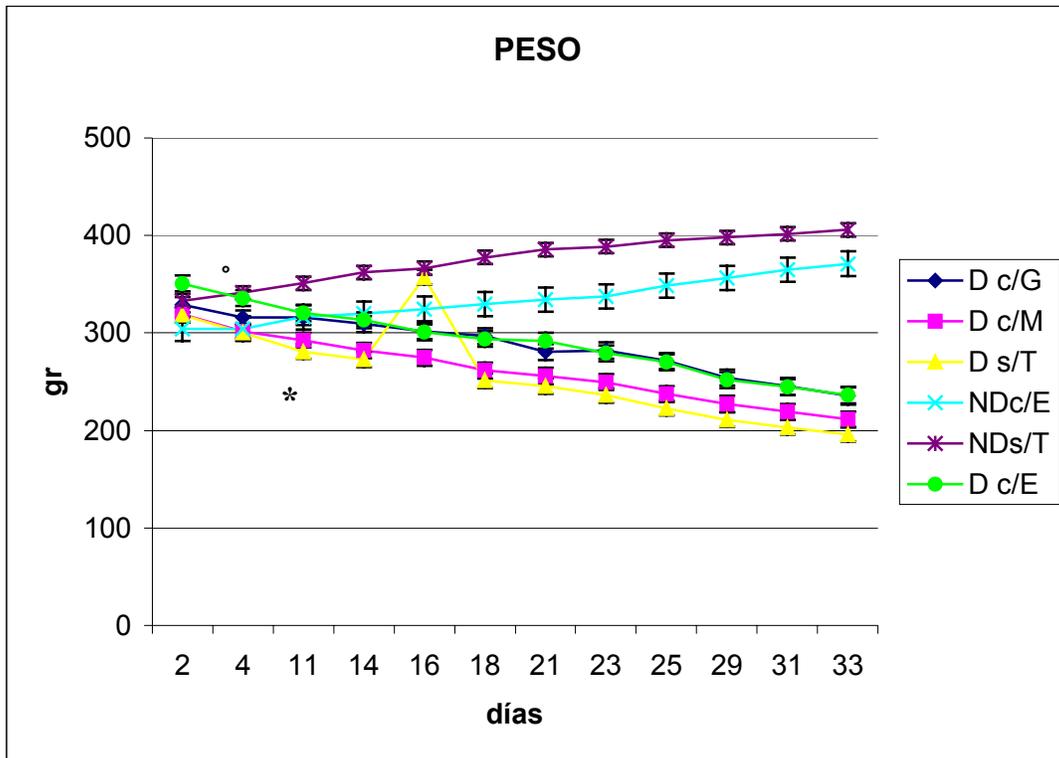
En lo referente a los datos obtenidos de los lotes NDc/e y Nds/T el promedio de peso aumento al comparar los datos finales con los iniciales del experimento. (Tabla 2, gráfica2).

Tabla 2. Peso

DIA	D c/E	D c/G	D c/M	D s/T	ND c/E	ND s/T
2	350.5 ± 8.19	329± 7.66	319+ 7.66	318.2 ± 7.66	304.3 ± 12.51°	333.2 ± 6.85°
4	335.7 ± 8.19	315 ± 7.66	301.7 ± 7.66	300.1 ± 7.66	304.5 ± 12.51°	341.1 ± 6.85°
11	320.2 ± 8.19*	315.8± 7.66	292.6 ± 7.66	280.8 ± 7.66	316.3 ± 12.51°	351 ± 6.85°
14	313.1 ± 8.19*	309.2 ± 8.19	282 ± 7.66	272.7 ± 7.66	320 ± 12.51°	362.1 ± 6.85°
16	300.8 ± 8.19*	301.8 ± 8.19	274.7 ± 8.19	257.3 ± 7.66	324.6 ± 12.51°	366.2 ± 6.85°
18	294 ± 8.19*	296.7 ± 8.19	261.5 ± 8.19	251 ± 7.66	329.6 ± 12.51°	377.6 ± 6.85°
21	291.8 ± 8.19*	280.5 ± 8.19	255.8 ± 8.19	245.3 ± 7.66	334 ± 12.51°	385.7 ± 6.85°
23	279.1 ± 8.19*	282 ± 8.19	249.5 ± 8.19	263.1 ± 7.66	337.6 ± 12.51°	388.5 ± 6.85°
25	270.1 ± 8.19*	271.4 ± 8.19	237.4 ± 8.19	222.7 ± 7.66	348.6 ± 12.51°	395.1 ± 6.85°
29	251.8 ± 8.19*	254.1 ± 8.19	227.1 ± 8.19	211.1 ± 7.66	356.3 ± 12.51°	397.9 ± 6.85°
31	244.7 ± 8.19*	245.1 ± 8.85	219.1 ± 8.19	203.25 ± 7.66	365 ± 12.51°	401.7 ± 6.85°
33	236.1 ± 8.19*	235.6 ± 8.85	211.4 ± 8.19	196 ± 7.66	371 ± 12.51°	405.7 ± 6.85°

Datos expresados como promedio ± EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T °P<0.0001. Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T °P<0.0001.

Gráfica 2. Peso



Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T \* $p < 0.0001$ ; Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T  $p < 0.0001$

## 14. DETERMINACIONES SERICAS

### 14.1 GLUCOSA.

Las determinaciones de la glucosa sérica en los diferentes lotes mostró que los valores promedio de glucosa del lote Dc/E fueron de  $432.28 \pm 10.7$  mg/dl siendo significativamente menores ( $p < 0.0001$ ) que los valores promedio de glucosa de los lotes Dc/G con  $551.83 \pm 30.9$  mg/dl , los del lote Dc/M con  $571.14 \pm 15.05$  mg/dl, del lote Ds/T con  $705.25 \pm 24.8$  mg/dl (Tabla 3, gráfica 3).

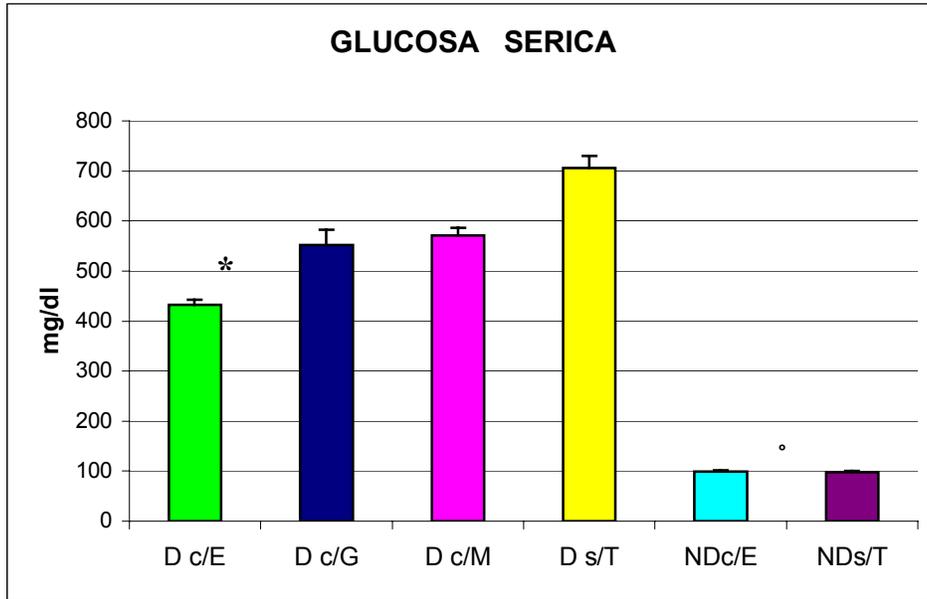
Los resultados obtenidos de los lotes NDc/E de  $98.66 \pm 2.96$  mg/dl y NDs/T de  $98.1 \pm 2.63$  mg/dl son muy similares entre ellos sin presentar diferencia estadísticamente significativa con una  $p > 0.05$  (NS) , al comparar estos dos lotes con los lotes Dc/E, Dc/G, Dc/M y Ds/T se encontraron diferencias estadísticamente significativas con una  $p < 0.0001$  (Tabla 3, gráfica 3).

TABLA 3.Determinaciones séricas

LOTE	GLUCOSA	COLESTEROL	TRIGLICERIDOS
D c/E	$432.28 \pm 10.7^{\circ}$	$69.71 \pm 9.12^{NS}$	$138.85 \pm 4.89^*$
D c/G	$551.83 \pm 30.9$	$81.83 \pm 35.27^{NS}$	$225 \pm 8.08$
D c/M	$571.14 \pm 15.5$	$84.71 \pm 99.48^{NS}$	$391.7 \pm 9.33$
D s/T	$705.25 \pm 24.8$	$94.6 \pm 60.73^{NS}$	$344 \pm 13.64$
ND c/E	$98.66 \pm 2.96^*$	$53 \pm 36.44^{NS}$	$121.33 \pm 0^{\circ}$
ND s/T	$98.1 \pm 2.63^*$	$63.4 \pm 11.21^{NS}$	$108.3 \pm 35.45^{\circ}$

Datos expresados como promedio  $\pm$  E.E.

Grafica 3. Glucosa sérica

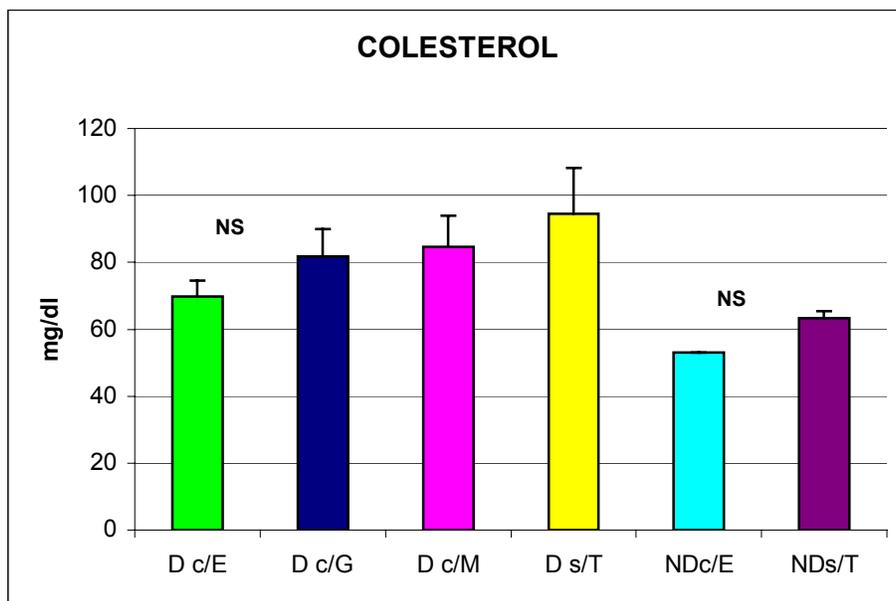


Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T  
\* $p < 0.0001$ ; Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T ° $p < 0.0001$

## 14.2 COLESTEROL.

Al comparar los resultados de los valores de colesterol de los lotes Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T Ndc/E y NDs/T, se obtuvo una  $p= 0.07$  por lo que no existe diferencia estadísticamente significativa. (Tabla 3, gráfica 4).

Gráfica 4. Colesterol.



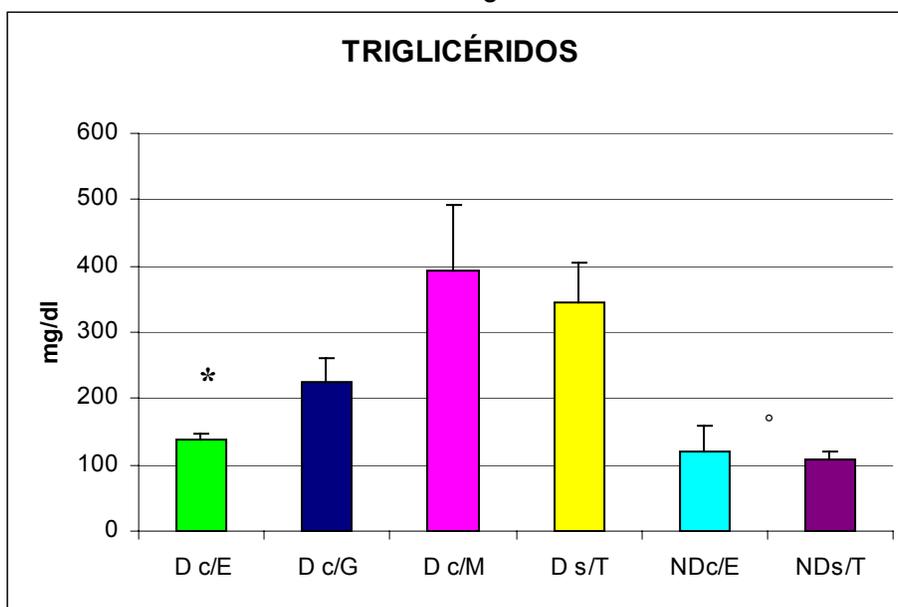
Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T  $p>0.05$  <sup>NS</sup>, Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T  $p>0.05$  <sup>NS</sup>.

## TRIGLICERIDOS.

Los valores de triglicéridos del lote Dc/E con un promedio de  $138.85 \pm 4.89$  mg/dl comparado con los de los resultados de los lotes Dc/G con  $225 \pm 8.08$  mg/dl, Dc/M con  $391.7 \pm 9.33$  mg/dl, Ds/T con  $344 \pm 13.64$  mg/dl presentaron diferencias significativas con una  $p < 0.0001$ . (Tabla 3, gráfica 5)

En lo referente a los lotes NDc/E con promedio de  $121.33 \pm 0$  mg/dl y NDs/T con valores de  $108.3 \pm 2.03$  mg/dl no se observa diferencia significativa entre ellos y tampoco al compararlo con el lote Dc/E con una  $p > 0.05$  (NS). (Tabla 3, gráfica 5).

Gráfica 5. Triglicéridos



Datos expresados como promedio  $\pm$  EE. NDc/E, NDs/T vs Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T ° $p < 0.0001$ ; Dc/E vs Dc/G, Dc/M, Ds/T \* $p < 0.0001$

## 15. DISCUSION.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo comprueban que si existe efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las partes aéreas de *E. myriochaetum*, el cual fue comprobado al administrarlo en rata con diabetes inducida con STZ, aunque no se determinó el tiempo preciso en que el *Equisetum myriochaetum* tiene su mayor acción.

Existen pocos trabajos relacionados con el efecto hipoglucemiante de *Equisetum myriochaetum*, uno de ellos es la publicación científica realizada por Revilla y Col. (2002)<sup>(79)</sup>. En el cual se reportan los resultados de 11 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 de reciente diagnóstico controlados solo con dieta y ejercicio a los que se les administró vía oral, después de un ayuno de 12 horas una infusión de 20 g. de las partes aéreas secas de *Equisetum myriochaetum* en 100 ml de agua. A los pacientes se les hicieron determinaciones basales de glucosa, insulina, colesterol y triglicéridos y de glucosa e insulina a los 30, 60, 90 y 120 minutos posteriores a la administración de la infusión, 15 días después a estos mismos pacientes se les administró el mismo volumen de agua coloreada y se obtuvieron muestras de sangre en los mismos tiempos y se realizaron las mismas determinaciones bioquímicas.

Los resultados demostraron que el extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* ejerce un efecto hipoglucemiante que se inicia a los 90 minutos de su ingestión y que se mantiene hasta los 180 minutos, los niveles de insulina no se modificaron por lo que concluyen que el mecanismo de acción de *Equisetum myriochaetum* no es debido a la estimulación en la secreción de insulina.

Andrade Cetto y Col. (2000)<sup>(90)</sup>. Comprobaron que el efecto hipoglucemiante de las partes aéreas de *Equisetum myriochaetum* en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina fue muy parecido al efecto que ejerce el medicamento glibenclamida.

Los hallazgos obtenidos en ambas publicaciones coinciden con los resultados del presente trabajo en el que se observó que los niveles de glucosa sanguínea y glucosa sérica del grupo de ratas tratado con *Equisetum myriochaetum* disminuyeron en forma significativa con respecto a los demás grupos de ratas diabéticas, sin embargo, no tuvieron un comportamiento similar al del medicamento glibenclamida como ocurrió en el trabajo realizado por Andrade (2000) donde compara la eficacia del *E.myriochaetum* con el de la glibenclamida obteniendo como resultado que el extracto del *Equisetum myriochaetum* es tan eficiente como el medicamento glibenclamida, sin embargo, no se realizaron determinaciones de insulina para poderlo demostrar.

En el presente trabajo los niveles de glucosa tanto sanguínea como sérica del lote experimental tratado con *E. myriochaetum* fueron significativamente menores con respecto a la glibenclamida, cabe mencionar que el trabajo realizado por Andrade (2000) fue un experimento agudo en donde se administró una sola dosis de

extracto acuoso a un lote de ratas diabéticas y a otro lote de ratas una sola dosis de extracto butanólico y a un tercer lote se le administró una sola dosis de glibenclamida. En los tres lotes se observó disminución de glucosa plasmática tres horas después de la administración.

En este trabajo no se tiene registro de cual es el momento exacto en que el *E. myriochaetum* presenta su mayor efecto, pero si se puede apreciar que a lo largo de 33 días los resultados muestran que el extracto de las partes aéreas del *Equisetum myriochaetum* si ejerce efecto hipoglucemiante incluso mayor al ejercido por la glibenclamida y la metformina.

Cuando se observan los resultados obtenidos en los lotes de ratas no diabéticas en donde un lote fue tratado con *E. myriochaetum* y otro sin tratamiento, no se observan diferencias significativas en los resultados obtenidos de ambos, con lo que se concluye que aunque la planta ejerce efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas, no afecta a ratas no diabéticas manteniendo niveles de glucosa dentro de parámetros normales en ambos lotes.

Con respecto al peso de las ratas se observa que los lotes de ratas diabéticas (Dc/E, Dc/G, Dc/M, Ds/T) disminuyeron de peso en comparación con los lotes de ratas no diabéticas (NDc/E y NDs/T), estas últimas fueron aumentando de peso a lo largo de este estudio. Se tiene conocimiento de que en pacientes diabéticos mal controlados se presenta disminución de peso corporal y esto es debido a la demanda del organismo por glucosa la que aunque se encuentre en torrente sanguíneo es incapaz de llegar a las células blanco debido al mal funcionamiento de la insulina a nivel de receptores y su señalización, por lo que existe producción de glucosa de las reservas del organismo, encontradas en el hígado y tejido muscular con la finalidad de compensar los requerimientos de glucosa, si esta descompensación no es controlada puede llegar a presentarse cetoacidosis diabética que podría desencadenar en la muerte del paciente.

Cuando analizamos los resultados obtenidos de los parámetros bioquímicos de colesterol y triglicéridos pudimos observar que los niveles de triglicéridos aumentaron en todos los lotes de ratas diabéticas, a excepción del lote de ratas diabéticas tratadas con *E. myriochaetum* en el que se observó que mantuvo niveles de triglicéridos sin diferencia estadísticamente significativa en comparación con los lotes de ratas no diabéticas.

El lote que presentó los niveles más altos de triglicéridos fue el tratado con metformina y el más bajo lo presentó el lote tratado con *E. myriochaetum*.

## 16. CONCLUSIONES.

El efecto hipoglucemiante de *Equisetum myriochaetum* pudo ser comprobado en base a los resultados obtenidos, observando mayor efecto hipoglucemiante que los hipoglucemiantes orales glibenclamida y metformina e incluso se pudo apreciar su efecto en los parámetros bioquímicos de glucosa y triglicéridos sin efectos sobre el colesterol, así mismo no se observaron efectos sobre ratas no diabéticas.

Los niveles de triglicéridos de las ratas diabéticas manejadas con *E. myriochaetum* no presentaron diferencia significativa con respecto a los lotes de ratas no diabéticas.

El extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* ejerce un efecto hipoglucemiante estadísticamente significativo después de 33 días de administración a ratas diabéticas. El efecto hipoglucemiante del extracto acuoso del *Equisetum myriochaetum* es estadísticamente mayor al ejercido por los agentes hipoglucemiantes metformina y glibenclamida después de 33 días de administración. El extracto acuoso de *Equisetum myriochaetum* no ejerce un efecto hipoglucemiante en ratas no diabéticas.

## 17. BIBLIOGRAFIA.-

- 1.- Islas, A.S., Revilla, M.C. Diabetes Mellitus: Concepto y Nueva Clasificación. Diabetes Mellitus. Segunda edición . Ed. Mc Graw-Hill 1999.
- 2.- Islas, A.S., Revilla, M.C. Diabetes Mellitus . Clasificación y contexto epidemiológico. Diabetes Mellitus. Tercera edición. Ed. Mc Graw-Hill.
- 3.- Escobedo, P.J. Epidemiología de la Diabetes Mellitus . Diabetes Mellitus. Tercera edición. Ed. Mc Graw-Hill.
- 4.- King, H. Aubert, R.E., Herman, W.H. Global Burden of Diabetes , 1995- 2025, Prevalence numerical estimates and projections. Epidemiology/ Health Services/ PsychosocialResearch. Diabetes Care, V 21, No.9 September 1998.
- 5.- World Health Organization., 2004; <http://www.who.org>
- 6.- S.S.A. 2004. Secretaria de Salud; [www.salud.gob.mx](http://www.salud.gob.mx).
- 7.- Reece, E.A., Homko, C.J. and Wu, Y. Multifactorial Basis of the Syndrome of Diabetic Embryopathy. Te54 (4): 171-182.
- 8.- American Diabetes Association Report of the expert comite on diagnosis and classification of the diabetes mellitus. Diabetes Care 1997.
- 9.- Fiorelli, R.S.F., Corona, R.A., Izquierdo, P.J.C. Diabetes mellitus y embarazo. Diabetes Mellitus , Islas , A.S. Segunda edición. Ed. Mc Graw-Hill. 1999.
- 10.- Hiriart, M. La Historia Natural de la Diabetes. Ciencia. Academia Mexicana de Ciencias. 2002.
- 11.- Islas, A.S., Revilla, M.C. Patogenia, Cuadro Clínico y Diagnóstico de la Diabetes tipo 2. Diabetes Mellitus. Tercera edición. Ed. Mc Graw-Hill. 2004.
- 12.- Castro, M.M.G., Liceaga, C.M.G. Complicaciones Agudas de la Diabetes Mellitus. Diabetes Mellitus. Segunda edición. Ed. Mc Graw-Hill.
- 13.- Islas, A.S. Complicaciones Crónicas. Diabetes Mellitus. Segunda edición. Ed. Mc Graw-Hill. 1999.
- 14.- <http://www.who.int/inf.fs/en/fact138.html>
- 15.- Cecil, Textbook of Medicine, 21<sup>st</sup>. ed. 2000
- 16.- Noble, Textbook of Primary Care Medicine, 3<sup>rd</sup>. ed. 2001.

- 17.- Sánchez, Ch. J.E., Islas, A.S. Píe Diabético. Diabetes Mellitus. Segunda edición. Ed. Mc Graw-Hill, 2004.
- 18.- Crawford, J.M., Cotran, R.S., El Páncreas Cap. 19 Medicina Interna. Ed. Mc Graw-Hill Interamericana, 1989.
- 19.- Isselbacher, E., BraunWald, E., Wilson, J.D., Martin, J.B., Fauci, A.S., Kasper, D.L. Diabetes Mellitus, Principios de Medicina Interna Vol.II, 13ª edición Mc Graw-Hill Interamericana 1994.
- 20.- Edlund, H. Transcribing Pancreas, Perspectives in Diabetes. Diabetes. Vol. 17 1998.
- 21.- Bishop, A.E., Polar, J.M. The Anatomy, Organization and Ultraestructure of The Ilets of Langerhans. Endocrine Pancreatic Function. Cap. 6 Textbook of Diabetes. Second edition Blackwell Science, 1997.
- 22.- Querejeta, V.E. Fisiología de las Células Beta Pancreáticas. Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. Intersistemas, 2004.
- 23.- Leningher, A.N., Nelson, D. & Cox, M. Principios de Bioquímica. Segunda edición, ed. Omega, Barcelona. 1995
- 24.- Murria, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell, V.W. Bioquímica Ilustrada. Edición 16, Ed. Manual Moderno S.A. de C.V. 2004.
- 25.- Alberts, B., Bray, D., Lewis. J., Raff, M., Roberts, K., D.Watson, J. Biología molecular de la célula. Segunda edición . Ed. Omega. 1994.
- 26.- Querejeta. V.E. Transporte de Glucosa y Efectos Fisiológicos de la Insulina. Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. Intersistemas. 2004.
- 27.- Diaz, H.D.P., Burgos. H.L.C., ¿Como se transporta la glucosa a través de la membrana celular? Iateria. Vol. 15/No.3 Septiembre 2002.
- 28.- Bailyes, E.M., E.M., Guest, P.C., Hutton, J.C. Insulin Synthesis. Ashcroft, F.M. Insulin Molecular Biology, Cap. 3, First edition, New York USA. 1992.
- 29.- Hiriart, M. Vidal- Tamayo, R. Cuestión de Hormonas: el papel de las hormonas del páncreas en la salud y en la diabetes. Ciencia. Academia Mexicana de Ciencias, 2002.
- 30.- Islas, A.S., Revilla, M.C., García , A.H. La Secreción de Insulina, implicaciones clínicas en pacientes con diabetes mellitus, bases para su regulación terapéutica. Editorial El Manual Moderno. 2001.

- 31.- Pickup, J., Goseth, W.S. The Hormonal and Neural Control of Endocrine Pancreatic Function. Cap. 9 Textbook of diabetes, second edition Vol. 1 Blackwell Science. 1997.
- 32.- Saltiel, A.R., Diverse Signaling Pathways in the Actions of Insulin. Department of Signal Transduction, Parke-Davis Pharmaceutical Research, Warner-Lambert. Ann Arbor, Michigan. Edition American Physiological Society. 1996.
- 33.- Pickup, J., Goseth, W.S. The Biosynthesis and Secretion of Insulin Textbook of Diabetes. Second ed. Vol. I Blackwell Science. 1997.
- 34.- Torres, G.R., Herrera, G.L. Intolerancia a la Glucosa, nueva entidad patológica. Bayer de México, S.A. de C.V. 2005.
- 35.- González, O.M. Concepto de Resistencia a la Insulina. Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. Intersistemas. 2004.
- 36.- Simon, L.H. The Biosynthesis and Secretion of Insulin. Textbook of Diabetes. Blackwell Science. 2<sup>nd</sup> ed. Vol. I: 8.1-8.13. 1997
- 37.- Arno, A., Nadal, J., Cases, M. Criterios y Pautas de Terapia Combinada en la Diabetes tipo 2 . Documento de consenso de la Sociedad Española de Diabetes y de la Sociedad Española de Medicina Familiar y Comunitaria. Endocrinología y Nutrición. 48 (3) 2001.
- 38.- Torres, A., Rubio, G. Tratamiento, Intolerancia a la Glucosa, Nueva Identidad Patológica. Bayer S.A. de C.V. 2005.
- 39.- Ríos, G.J.J. Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus en el Síndrome Metabólico. Síndrome Metabólico y Enfermedad Cardiovascular. Intersistemas 2005.
- 40.- Maeda, T.S. Sustained Hyperglycemia and Insulin Resistance, Induced by Dietary Restriction. Biology Pharmacology. Bulletin 2001.
- 41.- Devlin, T.H. Textbook of Biochemistry: with Clinical Correlation. 4<sup>a</sup> Willeg-liss. 1997.
- 42.- Lackie, J.M. Cell & Molecular Biology, Third edition. Academic Press. 1989.
- 43.- Hales, C.N., Kennedy, G.C. Plasmagluucose, nonesterified fatty acid and insulin concentration in hypotalamic-hiperfagic rats. Biochemical Journal. 1964.
- 44.- Bell R.H., Hye, R.N. Animal models of diabetes mellitus: physiology and pathology. Journal of Surgical research. 1983.

- 45.- Mordes, S.P. and Rossini, A.A. Animal Models of Diabetes. American Journal of Medicine. 1981.
- 46.- Kalter, H. Reproductive toxicology animals with induced and spontaneous diabetes. Reproductive Toxicology. 1996.
- 47.- Méndez, J.D., Ramos, H.G. Modelos experimentales en diabetes mellitus. Cap. 28 ed. Mc Graw-Hill. Interamericana 1a. edición. 1993.
- 48.- Meier, H., Yerganian, G.A. Spontaneous hereditary diabetes mellitus in Chinese hamster. I. Pathological findings Proc. Soc. Exp. Biol. Ed. 1959.
- 49.- Lane, M.A. Nonhuman primate models in biogerontology. Experimental gerontology. 2000.
- 50.- Like, A.A., Rossini, A.A., Guberski, D.L. Appel, M.C., and Williams, R.M. Spontaneous diabetes mellitus. Reversal and prevention in the BB/W rat with antiserum to rat lymphocytes. Science. 1979.
- 51.- Bell, R.H., Hye, R.J. Animal models of diabetes mellitus physiology and pathology. Journal of surgical research, 1983.
- 52.- Goto, Y. Kakisaki, M., Mazaki, N. Spontaneous diabetes produced by selective breeding of normal Wistar rats. Proc Japn Acad. 1975.
- 53.- Abdel-Halim, S.M., Guenfi, A., Lutherman, H., Grill, V., Efendic, S., Impact of diabetic inheritance on glucose tolerance on insulin secretion in spontaneously diabetic GK-Wistar rats. Diabetes, 1994.
- 54.- Coleman, D.L., Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice, Diabetologia. 1978.
- 55.- Joshi, R.L. Lamothe, B., Bucchini, D. and Jami, J. Genetically engineered mice as animal models for NIDDM. Federation of European Biochemical Societies, 1977.
- 56.- Herr, R.R., Jahnke, H.K., Argoudelis, A.D. The Structure of Streptozotocin. Journal of the American Chemical Society, 1967.
- 57.- Morgan, N.G., Cable, H.C., Newcomb, N.R., Williams, G.T. Treatment of cultured pancreatic B-cells with streptozotocin induces cell death by apoptosis bioscience reports. Vol. 14. 1994.
- 58.- Elias, D., Priozin, H. Polar, N., Rapaport, M. Lohse, A.W., Cohen, I.R. Autoimmune Diabetes Induced by the B-cell toxin STZ. Diabetes Vol. 13, 1994.

- 59.- Mansford, K.R.L., Opie, L. Comparison of metabolic abnormalities in diabetes mellitus induced by streptozotocin or by alloxan. *The lancet*. 1968.
- 60.- Rodríguez, B. Poucheret, P. Battell, M.L. and Mc Nelly, J.H. Streptozotocin-induced diabetes: induction, mechanisms and dose dependency in experimental Models of diabetes. John H. Mc Neill. CRC Press LLC. New York. 1999.
- 61.- Islas, A.S., Revilla, M.C., Escobedo, P.J., Polanco, A.C., Palomino, M.A. and Feria, V.A. Streptozotocin and alloxan in experimental diabetes: comparison of the two models in rats. *Acta histochem. Cytochem*. 2000.
- 62.- Wiley, P.F., Herr, R.R., Jahnke, H.K., Chidester, C.G., Mizak, A.D. Streptozotocin: Structure and Chemistry. Vol. 44. American Chemical Society, 1979.
- 63.- Saini, K.S., Thompson, C., Winterford, C.M., Walker, N.I. and Cameron, D.P. Streptozotocin at low doses induces apoptosis and high doses. Causes necrosis in a murine pancreatic B cell line, INS-1. *Biochemistry and molecular biology international*. Vol. 39. 1996.
- 64.- Noboyoc, T., Ichiro, K., Asawa, T., Nagasawa, Y. and Yamada, T. Streptozotocin and alloxan induced H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and DNA fragmentation in pancreatic islets, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as mediator for DNA fragmentation. *Diabetes*, 1991.
- 65.- Hernández-Ávila, M., Oláis, F.G. La diabetes y el mexicano: un reto para la salud pública. *Ciencia. Academia Mexicana de las Ciencias*. 2002.
- 66.- Tamez, P.H.E. Hiperglucemiantes orales; la utilidad de los nuevos fármacos. *Diabetes mellitus*. Ed Mc Graw-Hill, Interamericana 2<sup>a</sup>. Edición 1999.
- 67.- <File://E:/Vadecum/abad/dimefor.html>.
- 68.- Zolla, C., Argueta, A. Atlas de las plantas de medicina tradicional mexicana. Instituto Nacional Indigenista. Tomo I. 1994.
- 69.- Lozoya, L.X. Origen de la herbolaria indígena en el altiplano mexicano. *Plantas medicinales y poder ed. Pax. Mex*. 1994.
- 70.- Lozoya, L.X. Breve historia de la herbolaria mexicana. *Plantas medicinales y poder ed. Pax Mex*. 1994.
- 71.- Campos, N.R. Estudios urbanos en México sobre el uso de plantas medicinales. UNAM. 1995.
- 72.- Viseca, T.C. La hebolaria medicinal en México prehispánico. *Herbolaria prehispánica*. Ed. Fondo de Cultura Económica. 1998.

- 73.- Villareal, M.L. Actualidad de la biotecnología vegetal con plantas medicinales mexicanas. UNAM, 1998.
- 74.- Tejero-Diez, D., Aguilar, R.S., Flores, M.S. El género *Equisetum* I. En el occidente del Estado de México, México. Acta Botánica Mexicana. 1998.
- 75.- Linares, M., Bye, R., Flores, B.P., Tés curativos en México. Fomento Nacional para las Artesanías. SEP. 1984.
- 76.- Heinrich, M. Gibbons, S. Ethnopharmacology in drug discovery: an análisis of its role and potential contribution. Pharmacy and pharmacology. 2001.
- 77.- Holmstedt, B., Bruhn, J.G. Ethnopharmacology challenge. Journal of Ethnopharmacology . 1983.
- 78.- Andrade, C.A., Estudio Etnofarmacológico de *Equisetum myriochaetum* Schlechtendal & Cham y *Cecropia obtusifolia* Bertol. Tesis doctoral. Fac. Ciencias UNAM. 1997.
- 79.- Revilla, M.C., Andrade, C.A., Islas, S., Helmunt, W. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on type 2 diabetic patients. Journal of Ethnopharmacology. 2002.
- 80.- Andrade, C.A. and Heinrich M. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. Journal of Ethnopharmacology. 2005.
- 81.- Helmunt, W., Andrade, C.A., Pérez, A.C. Flavonolglycosides from *Equisetum myriochaetum* biochemical Systematics and Ecology. 28. 2000.
- 82.- Palacios, R.M. Equisetaceae. J. Flora de Veracruz. 1992.
- 83.- Palacios, R.M. Equisetaceae. J. Rzedowsky & G. Calderón. Flora del Bajío y regiones adyacentes. 1998.
- 84.- Wildenfeld, H. Flavonol glycosides from *Equisetum myriochaetum*. Biochem. Sistemat . Ecol. 2000.
- 85.- Devore, G. Química Orgánica. Publicación Cultural 8va. Impresión México. 1978.
- 86.- Havsteen, B. Flavonoide, a class of natural product of high pharmacological potency. Biochem. Pharmacol. 2002.
- 87.- Hodnick, W.F. Inhibition of mitochondrial respiration and production of toxic oxygen radicals by flavonoids. Biochem. Pharmacol. 1986.

88.- Martínez, F.S. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria. 2002.

89.- Middleton, E.M. The role of flavonol glycoside and carotenoids in protecting soy bean from ultraviolet-B damage. Plant Physiol. 1993.

90.- Andrade, C.A. Helmunt, W., Revilla M.C., Islas, A.C. Hypoglycemic effect of *Equisetum myriochaetum* aerial parts on streptozotocin diabetic rats. Journal Ethnopharmacology. 2000.