



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**EFFECTOS DE UN EXTRACTO HERBOLARIO UTILIZADO EN EL TRATAMIENTO DE
LA DIABETES EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE RATAS WISTAR CON DM1**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

**PRESENTA:
CONCEPCIÓN ARACELI ZAVALA HERNÁNDEZ**

ASESORES: Dra. NORMA LAURA DELGADO BUENROSTRO

Dr. RICARDO MEJÍA ZEPEDA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

AGRADECIMIENTOS

A la vida y a Dios por permitirme llegar a este momento, por descubrir y aprender nueva cosas, por estar a lado de personas extraordinarias, por darme las ganas de superarme y vencer el miedo porque como Ralph Waldo Emerson dijo, *"Para aprender las lecciones importantes de la vida, uno debe vencer el miedo cada día"*.

A mi papá por permitirme elegir mi camino, gracias por tu esfuerzo, tu paciencia, inteligencia y darme las herramientas para alcanzar mis metas, por darme la fortaleza para no dejarme vencer y por guiarme siempre. Por enseñarme que el querer es poder. Eres el mejor de mis ejemplos.

A mi mamá porque siempre estuviste dándome muchísimos ánimos, gracias por tu amor, por enseñarme a luchar a cualquier adversidad, porque siempre me ayudaste a levantar y por tu gran apoyo.

A mis hermanos Luis y Pepe porque han estado conmigo, todos los momentos con ustedes han sido muy especiales y este logro está dedicado a ustedes, ustedes me impulsan a ser mejor. Los amo.

A ti abuelita Carmen donde quiera que estés, porque tú fuiste mi inspiración para hacer este proyecto y esto va dedicado especialmente para ti. Gracias.

A mi guía académica, mi asesora de tesis Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro, gracias por ser uno de mis mejores ejemplos, por compartirme sus experiencias, sus conocimientos, por transmitirme el amor a esta carrera, por enseñarme a ser perseverante, gracias por su paciencia y dedicación. La admiro no solo por su extraordinario trabajo y profesora que es, sino también por su calidez humana y maravillosa persona. Gracias.

A Luis Rodríguez que estuviste siempre conmigo en las buenas y en las malas. Gracias por tu confianza, por tu apoyo incondicional, por recordarme siempre que lo puedo hacer y lograr. Esta experiencia la vivimos con muchas risas, sobretodo por tus chistes malos, con nuestros apodos, con alegrías, muchas aventuras, a veces con desacuerdos y algunas tristezas. Pero con una misma convicción, de ser siempre mejores y nunca dejarnos caer. Gracias por impulsarme y estar conmigo en este viaje.

A mis amigas y amigos de generación, gracias a cada uno de ustedes: Letzy, Sandy, Gaby, Toño, Bernardo e Iván, hemos compartido alegrías, cariño, tristezas, muchas desveladas y éxitos. Gracias por su apoyo. Para mí ustedes son como mi familia, viví la mejor de las experiencias y esta travesía no pudo ser mejor sin ustedes.

A mi coasesor Dr. Ricardo Mejía Zepeda, gracias por su dedicación, sus conocimientos y enorme experiencia. Gracias por apoyarme durante este proyecto y mejorar cada día.

Al profesor Juan Carlos del Río por apoyarme durante la realización de mi tesis y permitirme conocer su experiencia científica.

A todos mis amigos, profesores y familiares, por confiar en mí, por ser un ejemplo. Gracias

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por cobijarme desde la preparatoria, por darme esta oportunidad de formarme académicamente y ser parte de la máxima casa UNAM.

Se agradece el apoyo del proyecto PAPIIT IN228610-3 UNAM y apoyo por parte de la Dra. Sandra Díaz Barriga para realización de este proyecto en el Bioterio de Fes- Cuautitlán y Laboratorio de Morfofisiología bajo la asesoría directa de la Dra. Norma Laura Delgado Buenrostro.

“Pagamos un precio por todo lo que obtenemos en este mundo; Y aunque merece la pena tener ambiciones, no las conseguiremos fácilmente”. Lucile Maud Montgomery.

ÍNDICE

LISTA DE ABREVIATURAS	8
RESUMEN	10
I. JUSTIFICACIÓN	11
II. INTRODUCCIÓN	11
I.1. PÁNCREAS.....	13
<i>I.1.1. LOCALIZACIÓN</i>	13
<i>I.1.2. ANATOMÍA E HISTOLOGÍA</i>	13
I.2. INSULINA	15
<i>I.2.1. MECANISMO DE SECRECIÓN DE LA INSULINA</i>	16
<i>I.2.2. RECEPTOR DE INSULINA</i>	21
<i>I.2.3. RESISTENCIA A LA INSULINA (RI)</i>	22
I.3. DIABETES.....	23
<i>I.3.1. CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES</i>	24
<i>I.3.2. DIABETES MELLITUS TIPO 1</i>	24
<i>I.3.4. ETIOPATOGENIA</i>	26
I.4. DIABETES MELLITUS TIPO 2 (DM2).....	30
I.5. SÍNDROME METABÓLICO (SM).....	31
I.6. TIPOS ESPECÍFICOS DE DIABETES	32
I.7. DIABETES MELLITUS GESTACIONAL	33
I.8. DIABETES EXPERIMENTAL	34
I.9. RELACIÓN ENTRE DIABETES Y ÁCIDOS GRASOS.....	37
<i>I.9.1. ÁCIDOS GRASOS (AG)</i>	37
<i>I.9.2. ÁCIDOS GRASOS POLIINSATURADOS OMEGA-3(AG ω-3)</i>	37
I.10. PLANTAS MEDICINALES.....	38
<i>I.10.1. COMPONENTES CONOCIDOS DEL EXTRACTO HERBOLARIO (EH)</i>	39
III. OBJETIVOS	41
III.1. OBJETIVO GENERAL.....	41
<i>III.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS</i>	41
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	42
IV. 1. REACTIVOS	42
IV.2. INDUCCIÓN DE DIABETES	42
<i>IV.2.1. MODELO EXPERIMENTAL</i>	42
IV. 3. DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	44
<i>IV. 3.1. DETERMINACIÓN DE GLUCOSA, COLESTEROL Y TRIACILGLICÉRIDOS EN SANGRE</i>	44
IV.4. OBTENCIÓN DE SUERO	45
<i>IV.4.1. DETERMINACIÓN DE TGO Y TGP EN SUERO</i>	45
<i>IV. 4.1.2. DETERMINACIÓN DE BILIRRUBINAS DIRECTA Y TOTAL EN SUERO</i>	46
IV. 5. OBTENCIÓN DE ÓRGANOS.....	46
IV.6. HISTOLOGÍA	47
<i>IV.6.1. FIJACIÓN E INCLUSIÓN DE ÓRGANOS</i>	47
<i>IV.6.2. MONTAJE DE LOS CORTES</i>	47
<i>IV.6.3. TINCIÓN HEMATOXILINA-EOSINA</i>	47
<i>IV.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	48
DIAGRAMA DE FLUJO.....	49
V. RESULTADOS	50
V.I. EFECTO DE UN EH CON POSIBLES PROPIEDADES TERAPÉUTICAS PARA EL CONTROL DE LA DIABETES MELLITUS SOBRE PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO), NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO), BIOQUÍMICOS, ENZIMÁTICOS Y ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.....	50
A) PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO) Y NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO)	50

B) GLUCOSA.....	51
C) COLESTEROL.....	52
D) TRIACILGLICÉRIDOS.....	53
E) TRANSAMINASAS (TGO Y TGP).....	54
F) BILIRRUBINAS (BD Y BT).....	55
G) HISTOLOGÍA.....	57
V.2. EFECTOS DE LA ACCIÓN DE LA INSULINA INTERMEDIA (I.I) EN UN MODELO EXPERIMENTAL DE RATAS WISTAR CON DM1 COMPARADA CON LOS EFECTOS DEL EH SOBRE PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO), NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO), BIOQUÍMICOS, ENZIMÁTICOS Y ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.....	58
A) PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO) Y NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO).....	58
B) GLUCOSA.....	59
C) COLESTEROL.....	60
D) TRIACILGLICÉRIDOS.....	61
E) TRANSAMINASAS (TGO Y TGP).....	62
F) BILIRRUBINAS (BD Y BT).....	63
G) HISTOLOGÍA.....	65
V.3. EFECTO DE LA ACCIÓN DE INSULINA RÁPIDA (I.R) COMPARADA CON EL EFECTO DEL EH EN UN MODELO DE DIABETES MELLITUS 1 SOBRE PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO), NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO), BIOQUÍMICOS, ENZIMÁTICOS Y ANÁLISIS HISTOPATOLÓGICO.....	66
A) PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO) Y NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO).....	66
B) GLUCOSA.....	67
C) COLESTEROL.....	68
D) TRIACILGLICÉRIDOS.....	69
E) TRANSAMINASAS (TGO Y TGP).....	70
F) BILIRRUBINAS (BD Y BT).....	71
G) HISTOLOGÍA.....	72
V.4. POSIBLES EFECTOS DE LOS ÁCIDOS GRASOS ω -3 EN UN MODELO DE DM1 SOBRE PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO), NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO), BIOQUÍMICOS, ENZIMÁTICOS Y ANÁLISIS HISTOLÓGICO.	74
A) PARÁMETROS: FISIOLÓGICO (PESO) Y NUTRICIONALES (CONSUMO DE AGUA Y ALIMENTO).....	74
B) GLUCOSA.....	75
C) COLESTEROL.....	76
D) TRIACILGLICÉRIDOS.....	77
E) TRANSAMINASAS (TGO Y TGP).....	77
F) BILIRRUBINAS (BD Y BT).....	78
G) HISTOLOGÍA.....	80
VI. DISCUSIÓN.....	81
VI. 1. GLUCOSA.....	81
VI.1.2.COLESTEROL.....	84
VI.1.3.TRIACILGLICÉRIDOS	85
VI.1.4. TRANSAMINASAS (TGO Y TGP).....	87
VI.1.5.BILIRRUBINAS (BD Y BT)	88
VI.1.6. HISTOLOGÍA DE LOS ÓRGANOS HÍGADO, RIÑÓN Y PÁNCREAS.....	89
VII. CONCLUSIONES	91
VIII. GLOSARIO.....	92
IX.BIBLIOGRAFÍA.....	94

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización de Páncreas.	13
Figura 2. Anatomía e Histología del páncreas.	14
Figura 3. Estructura de la Insulina humana	15
Figura 4. Estructura de la proinsulina.	16
Figura 5. Glucosa.	17
Figura 6. Mecanismo de transporte de la glucosa.....	18
Figura 7. Acoplamiento entre estímulo de glucosa y secreción de insulina.	19
Figura 8. Liberación de Insulina	20
Figura 9. Receptor para insulina.	22
Figura 10. Mecanismo de acción de Estreptozotocina.....	35
Figura 11. Mecanismo de acción de Alloxán.	36
Figura 12. Efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento.....	51
Figura 13. Efecto del EH en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de glucosa en sangre.....	52
Figura 14. Efecto del EH sobre la concentración de colesterol en sangre	53
Figura 15. Efecto del EH sobre la concentración de Triacilglicéridos en sangre.	54
Figura 16. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH.	55
Figura 17. Concentración de Bilirrubinas Directa y Total de los C, C/EH, STZ y STZ/EH.....	56
Figura 18. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH....	57
Figura 19. Efecto de la I.I comparada con el efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento	59
Figura 20. Efectos de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de glucosa en sangre.....	60
Figura 21. Efectos de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH.....	61
Figura 22. Efecto de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de triacilglicéridos de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH.....	62
Figura 23. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH.....	63
Figura 24. Concentración en suero de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I//EH...64	
Figura 25. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH.....	65
Figura 26. Efecto de la I.R comparada con el efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento.....	67
Figura 27. Efecto de la acción de I.R comparada con el efecto del EH sobre la concentración de glucosa en sangre.....	68
Figura 28. Efecto de la acción de I.R comparada con el efecto del EH sobre la concentración de colesterol en sangre.....	69
Figura 29. Efecto de la acción de la I.R comparada con el efecto del EH sobre los niveles de triacilglicéridos en sangre de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH..	70
Figura 30. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH.	70

Figura 31. Concentración en suero de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R//EH.	71
Figura 32. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH.	73
Figura 33. Efecto de los AG ω -3 sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento. tratamientos	75
Figura 34. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de glucosa en sangre.	76
Figura 35. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de colesterol en sangre	76
Figura 36. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de triacilglicéridos en sangre.	77
Figura 37. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3	78
Figura 38. Concentración en suero de BD y BT de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3	79
Figura 39. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes C, C/AG ω -3, STZ y STZ/AG ω -3	80

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Transportadores de Glucosa (GLUT'S)	17
Tabla 2. Alteraciones Metabólicas en Ausencia de Insulina	27
Tabla 3. Clasificación de los Diferentes Tipos de Insulina	30
Tabla 4. Diferencias entre la DM1 y la DM2	32
Tabla 5. Clasificación de la Diabetes con Base en su Defecto Clínico	33
Tabla 6. Procedimiento de los Tratamientos	43
Tabla 7. Procedimiento para la Determinación de TGO y TGP en suero	45
Tabla 8. Procedimiento para la Determinación de BD y BT en suero	46
Tabla 9. Deshidratación de los Tejidos	47
Tabla 10. Metodología de Tinción Hematoxilina-Eosina	48
Tabla 11. Concentración de Transaminasas (TGO y TGO) de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH	55
Tabla 12. Concentración de BD y BT de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH	56
Tabla 13. Concentración de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH	63
Tabla 14. Concentración de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH	64
Tabla 15. Concentración de Transaminasas (TGO y TGP) de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH	71
Tabla 16. Concentración de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH	72
Tabla 17. Concentración de Transaminasas (TGO y TGP) de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3	78
Tabla 18. Concentración de BD y BT de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3	79

LISTA DE ABREVIATURAS

AA	Ácido araquidónico
ACAT	Colesterol-acil transferasa
ADP	Difosfato de adenosina
ADH	Hormona antidiurética
AG	Ácidos grasos
AG ω -3	Ácidos grasos omega 3
AG ω -6	Ácidos grasos omega 6
ATP	Trifosfato de adenosina
AMPc	Adenosin monofosfato cíclico
BD	Bilirrubina Directa
BI	Bilirrubina Indirecta
BT	Bilirrubina Total
C	Control
C/AG ω -3	Control/Ácidos Grasos omega 3
C/EH	Control/Extracto Herbolario
COX-1	Ciclooxigenasa-1
COX-2	Ciclooxigenasa-2
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM1A	Diabetes Mellitus Tipo 1A
DM1B	Diabetes Mellitus Tipo 1B
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
DMG	Diabetes Mellitus Gestacional
DMID	Diabetes Mellitus Insulinodependiente
DMNID	Diabetes Mellitus no Insulinodependiente
EH	Extracto Herbolario
EPA	Ácido eicosapentaenoico
GAD	Descarboxilasa de ácido glutámico
GIP	Péptido inhibitorio gástrico
GK	Glucoquinasas
GLP-1	Péptido I semejante al glucagón
GLUT	Proteínas transportadoras de Glucosa
GSH	Glutación reducido
h	Horas
HLA	Antígeno mayor de histocompatibilidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
ICA	Anticuerpos contra las células de los islotes
IGF-II	Factor de crecimiento insulínico tipo II
I.I	Insulina acción Intermedia
I.R	Insulina acción Rápida
kDa	Kilodalton
LADA	Diabetes autoinmunitaria latente en adultos
LCAT	Enzimas de Lecitina coletero-aciltransferasa

LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LPL	Lipoprotein Lipasa
LTB ₄	Leucotrieno B ₄
mg/dL	Miligramos/decilitro
mg/mL	Miligramos/mililitro
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
NO	Óxido nítrico
NPH	Protamina neutra Hagedorn
OMS	Organización Mundial de la Salud
Pi	Fósforo inorgánico
PGE ₂	Prostaglandina E ₂
PPAR	Receptor activada de la proliferación de Peroxisomas
RI	Resistencia a la insulina
ROS	Especies reactivas de Oxígeno
SGLT	Transportadores sodio-glucosa
SH	Grupo sulfidril
SM	Síndrome metabólico
STZ	Estreptozotocina
STZ/AG ω-3	Estreptozotocina/Ácidos Grasos omega 3
STZ/EH	Estreptozotocina/Extracto Herbolario
STZ/I.I	Estreptozotocina/Insulina Intermedia
STZ/I.R	Estreptozotocina/Insulina Rápida
STZ/EH/I.I	Estreptozotocina/Extracto Herbolario/Insulina Intermedia
STZ/EH/I.R	Estreptozotocina/Extracto Herbolario/Insulina Rápida
TGO	Transaminasa glutámico oxalacética
TGP	Transaminasa glutámico pirúvica
TXA ₂	Tromboxano A ₂
U/día	Unidades/día
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
µg/mL	Microgramos/mililitro
µU/mL	Microunidades/mililitro

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) es un conjunto de trastornos metabólicos que alteran los carbohidratos, proteínas y grasas. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1) se caracteriza por una producción deficiente de insulina y requiere la administración diaria de esta hormona. Se desconoce aún la causa real y en algunos casos no se puede prevenir con el conocimiento actual (Bell y col., 2001; Díaz, 2006; Lopes y Paes, 2011; Organización Mundial de la Salud, 2013). Se conocen factores genéticos y desencadenantes ambientales que confieren susceptibilidad de desarrollar la enfermedad, así como alteraciones inmunológicas asociadas al proceso inflamatorio de los islotes de Langerhans (Verdaguer y Vives, 2004).

En el mundo hay más de 347 millones de personas con diabetes, se calcula que en 2004 fallecieron 3,4 millones de personas como consecuencias del exceso de glucosa en la sangre. Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios (Organización Mundial de la Salud, 2013).

El avance en la prevención y tratamiento de la DM dependerá en gran parte de la comprensión de los mecanismos que presenta y para ello es imprescindible utilizar nuevas alternativas que apoyen o retarden las complicaciones de ésta enfermedad (Keter y Mutiso, 2011). En algunas comunidades, la gente depende de medicinas tradicionales como fuente primaria de la salud. Como alternativa a los medicamentos disponibles, las plantas son consideradas como un complemento en el tratamiento de la diabetes dentro de la etnomedicina (Afifi-Yazar y col., 2011).

Para mejorar la calidad de vida en individuos diabéticos, los laboratorios Nadian plus desarrollaron un Extracto Herbolario (EH) utilizado en el tratamiento de la diabetes. El EH consta de distintas plantas, con propiedades que posiblemente puedan favorecer en la disminución de algunos parámetros (glucosa, colesterol, triacilglicéridos, bilirrubinas, transaminasas e histología) evaluados en este trabajo.

Para estudiar los efectos del EH se generó un modelo experimental de ratas wistar con DM1, y se administró por vía oral el EH, se complementó el tratamiento con dos tipos diferentes de acción de insulina (Insulina Intermedia e Insulina Rápida). Se observó que la disminución de los parámetros mencionados anteriormente depende del tipo de insulina utilizada y así lograr un efecto benéfico en individuos diabéticos.

Por otra parte, se utilizó como tratamiento alterno ácidos grasos omega 3 (AG ω -3), se han reportado que los AG ω -3 producen un efecto en individuos diabéticos y no diabéticos. Los AG ω -3 disminuyen las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y los triacilglicéridos del plasma, reducen la presión arterial, modulan la respuesta vascular y plaquetaria ante daños bioquímicos o físicos (Nassif y Meriño, 2003).

Se observó que la administración de los AG ω -3 reducen las concentraciones de glucosa, colesterol y triacilglicéridos en individuos diabéticos. El control de estos parámetros se reflejó en el análisis histopatológico, lo cual favorece al retardo del daño en tejidos.

I. JUSTIFICACIÓN

La DM1 comprende la mayoría de los casos que resultan de una destrucción de las células β del islote de Langerhans, lo que generalmente conduce a un déficit absoluto de insulina y, por tanto, se asocia a la predisposición a desarrollar cetoacidosis. En esta situación, los pacientes precisan insulina para sobrevivir, pero actualmente el proceso de destrucción de la célula β se puede detectar en un estadio clínico mucho más precoz, incluso cuando el individuo es metabólicamente normal (Maureen, 2005).

Siendo una enfermedad con un alto grado de incidencia, se investigan nuevas alternativas para el tratamiento o prevención de este padecimiento proporcionando una mejor calidad de vida al paciente. En los últimos años se han estudiado plantas que apoyen en el tratamiento o bien traten de contrarrestar el daño generado en las células β del páncreas y disminuir el proceso destructivo. Con base en los antecedentes mencionados, el objetivo de nuestro trabajo fue determinar si es posible que un Extracto Herbolario (que contiene Ámula de Monterrey, Hormiguillo, Guayabo, Pino y Lágrimas de San Pedro) elaborado por la empresa Nadian plus, sea capaz de apoyar en la disminución de los niveles altos de glicemia en un modelo experimental de ratas wistar.

II. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos el hombre ha buscado de forma empírica en la flora de su hábitat remedios que combatan las enfermedades para mantener un mejor estado de salud. La gran diversidad de plantas utilizadas con fines médicos, su amplia gama de aplicaciones medicinales y su conocimiento etnobotánico, refuerza la necesidad de una evaluación de su actividad biológica como base para el desarrollo de futuros medicamentos. En la medicina alternativa y en la terapia natural, se ha estimulado un interés en la investigación de las prácticas tradicionales (Eidi y Eidi, 2009; Mayori, 2011).

Las plantas medicinales constituyen uno de los recursos terapéuticos utilizados tanto en el medio rural como suburbano, en donde los servicios de atención médica son escasos. En el campo de la medicina las hierbas se definen como fármacos brutos, de origen vegetal utilizados para tratar enfermedades que a menudo son de naturaleza crónica (Robbers y Tyler, 1999; Osuna y col., 2005).

La carga de morbilidad de la diabetes está aumentando en todo el mundo, y en particular en los países en desarrollo. Las causas son complejas, pero en gran parte están relacionadas con el rápido aumento del sobrepeso, la obesidad y la inactividad física (Organización Mundial de la Salud, 2012).

La DM es una enfermedad crónico-degenerativa que afecta el metabolismo de proteínas, grasas y carbohidratos; es un conjunto de trastornos metabólicos que comparten la característica común de la hiperglucemia. La DM se debe a los defectos en la secreción de insulina, la acción de insulina o, más frecuentemente, a ambas. Una consecuencia de la aparición de la diabetes es la ruptura de la homeostasis de la glucemia en correlación con los factores genéticos, factores

ambientales, la obesidad, el estilo de vida, entre otros (Alpizar, 2008; Kumer y col., 2008; Mizutani y col., 2011).

A pesar de la administración de insulina, la dieta y la actividad física, no son una cura, sin embargo, pueden mejorar la calidad de vida. El cambio en la dieta ha influido en muchas enfermedades (como la DM) y ha puesto de manifiesto sus efectos benéficos. Un caso particular son los ácidos grasos poliinsaturados, son componentes que se requieren a partir de una dieta, ya que participan en múltiples procesos fisiológicos, donde cumplen un rol estructural en los fosfolípidos de las membranas celulares y son sustratos para la síntesis de diversos mediadores fisiológicos.

Los mamíferos como el humano, requieren de ácidos grasos omega 3 (AG ω -3) y ácidos grasos omega 6 (AG ω -6), pero no tienen la capacidad enzimática para sintetizarlos. Por tanto, los mamíferos no pueden sintetizar linoleato ni linolenato. El linoleico y linolénico son dos ácidos grasos esenciales. El término esencial significa que deben consumirse en la dieta puesto que son requeridos en el organismo y no pueden sintetizarse por vía endógena. El linoleico y linolénico suministrados por la dieta son los puntos de partida para la síntesis de toda una serie de ácidos grasos insaturados (Berg, Stryery y Tymoczko, 2008; Nelson y Cox, 2009).

El primer exponente de los AG ω -3 es el ácido α -linolénico (C18:3) el cual vía desaturasas y elongasas se puede transformar en el ácido eicosapentaenoico (C20:5, EPA) y posteriormente en el ácido docosahexaenoico (C22:6, DHA). El primer exponente de los ácidos grasos ω -6 es el ácido linoleico (C18:2) y uno de sus derivados más importantes es el ácido araquidónico (C20:4, AA) (González y col. 2011).

Los eicosanoides son una familia de moléculas de señalización biológica muy potentes que actúan como mensajeros de corto alcance y que afectan a tejidos cercanos a las células que los producen (Cox y Nelson, 2009). El Ácido Araquidónico, derivado del linoleato, es el precursor más importante de varias moléculas señal: prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos (Berg, Stryery y Tymoczko, 2008).

Los AG ω -3 también parecen ejercer una serie de efectos potencialmente beneficiosos sobre la musculatura vascular lisa, mediante la reducción de la pérdida de calcio intracelular y en la disminución de la proliferación de células musculares lisas (a través de la inhibición de factores de crecimiento) y el aumento de la producción de óxido nítrico. Además de sus efectos sobre la dislipidemia y la arteriosclerosis, los AG ω -3 podrían tener efectos antiarrítmicos (González y col. 2011).

En innumerables investigaciones se ha observado los beneficios de los AG ω -3 sobre modelos experimentales en Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2), se ha señalado que hay una interacción significativa entre la alteración de las membranas y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares, entre ellas la diabetes. Con algunos de éstos antecedentes se consideró la idea de implementar una dieta en individuos diabéticos Tipo 1 y analizar algunos parámetros que estén involucrados en el desarrollo de la Diabetes como lo son el colesterol y los triacilglicéridos.

I.1. Páncreas

I.1.1. Localización

El páncreas humano es una glándula de secreción mixta (endocrina-exocrina), anexa al tubo digestivo; se extiende en sentido transversal por la parte superior del abdomen, está entre el asa del duodeno y el hilio del bazo (Fig.1). Se encuentra en posición retroperitoneal, por detrás del saco epiplón menor y del estómago, una localización que lo hace inaccesible a la exploración física. Algunos trastornos principalmente del páncreas exocrino, están relacionados con la DM (Rubin y col., 2006; Chen y col., 2011).

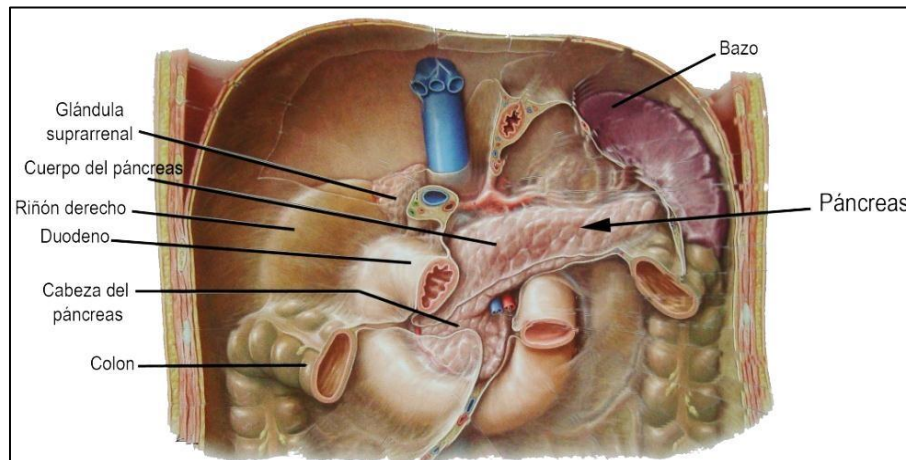


Figura 1. Localización de Páncreas. Se encuentra en la curvatura mayor del estómago y el duodeno. La cabeza del páncreas se proyecta hacia el bazo (Shünke, 2006).

I.1.2. Anatomía e Histología

El páncreas está formado por dos órganos diferentes desde el punto de vista funcional: el páncreas exocrino, formado por células que constituyen acinos y conductos que secretan enzimas (proteasas, lipasas, amilasas y nucleasas) necesarias para la digestión y bicarbonato. El páncreas endocrino, es la fuente de la insulina, el glucagón, la somatostatina y del polipéptido pancreático, estas hormonas regulan los aspectos de la nutrición celular desde el índice de absorción de nutrientes hasta el almacenamiento o metabolismo celular de los mismos (Fig. 2) (LeRoith y col., 2003; González y col., 2004; Gardner y Shoback, 2008).

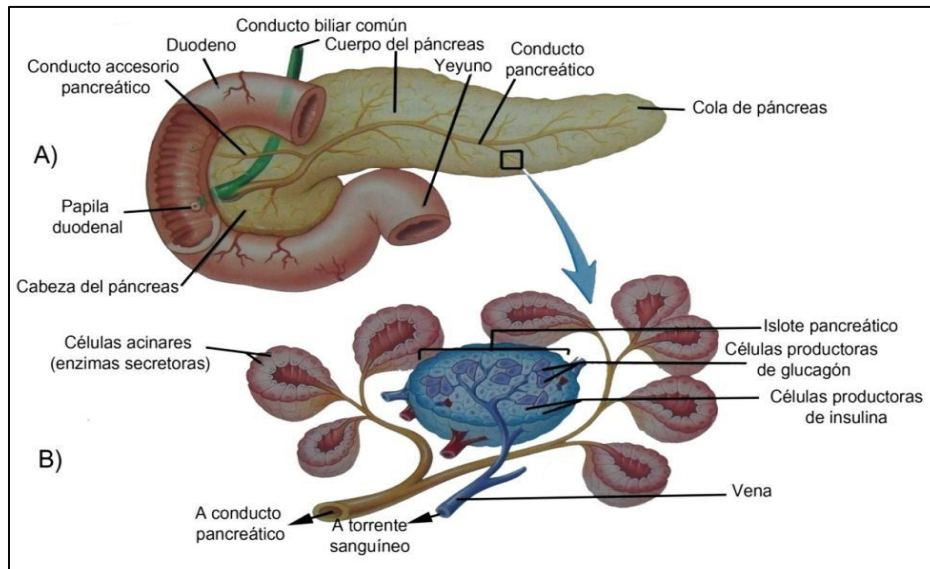


Figura 2. Anatomía e Histología del páncreas. A) La cabeza del páncreas se encuentra dentro de la curvatura duodenal, con el conducto pancreático que desemboca en el duodeno. B) Histología del páncreas que muestra tanto los acinos y el sistema de conducto pancreático (Seely, 2005).

El páncreas endocrino está compuesto por grupos de células que se agrupan entre los acinos pancreáticos denominados islotes de Langerhans y están distribuidos en todo el páncreas exocrino (McPhee y Ganong, 2007).

En el páncreas, el 75 % de las células de los islotes son células β y producen insulina, hormona que es liberada cuando se eleva la glicemia, activa la transformación de glucosa en glucógeno (glucogénesis) y un péptido llamado *amilina*. Otro 20% son células α , que secretan glucagón, cuyo efecto es elevar la glucemia cuando hay cifras bajas. Las células C o indiferenciadas, son cromófobas y en opinión de algunos investigadores, están destinadas a reemplazar células α o β dañadas. Según otros, son el resultado de un proceso degenerativo de las células α . La mayoría de las células restantes son células D, que secretan *somatostatina*. Otras células raras llamadas *células PP* (o células F) producen *polipéptido pancreático* (Fuentes, 2006).

La estructura y disposición de las células dentro del islote en el ser humano están entremezcladas, se apoya la existencia de que hay estrechas interacciones paracrina: la insulina reduce la producción de glucosa en el hígado. La insulina y el glucagón tienen efectos reguladores opuestos en la homeostasia de la glucosa. En adición la somatostatina inhibe la secreción de ambas hormonas (Fuentes, 2006; Vinay y col., 2008; Escobar y Tébar, 2009).

Las células β disponen de mecanismos capaces de detectar los cambios en los niveles de nutrientes, neurotransmisores y hormonas en su entorno, el principal regulador fisiológico de la secreción de insulina es la concentración de glucosa en la sangre. Las células β son capaces de integrar todas las señales en una respuesta secretora adecuada con el fin de mantener la homeostasis de la glucosa bajo las más variadas condiciones (Escobar y Tébar, 2009).

I.2. Insulina

Es una hormona de origen proteico presentar dos puentes disulfuro, contiene 51 aminoácidos, su peso molecular es de 5,9 kDa. Posee dos cadenas peptídicas: la A de 21 aminoácidos y la B de 30 aminoácidos. El tiempo de vida media de la hormona es de 3-5 min y es catabolizada por insulinasas en el hígado, riñón y placenta (Fig. 3) (González y col., 2004; Flores y col., 2007; Figuerola, 2003; Silverthorn, 2008).

La insulina es una hormona peptídica típica (Fig. 4) sintetizada como una prohormona inactiva y activada antes de la secreción. Actúa sobre el metabolismo de los carbohidratos, los lípidos y las grasas. El músculo y el tejido adiposo constituyen sus principales órganos diana. Facilita el transporte de glucosa a través de la membrana celular, promueve su transformación en glucosa-6-fosfato, favorece la síntesis de glucógeno hepático y el muscular (Figuerola, 2003; Silverthorn, 2008).

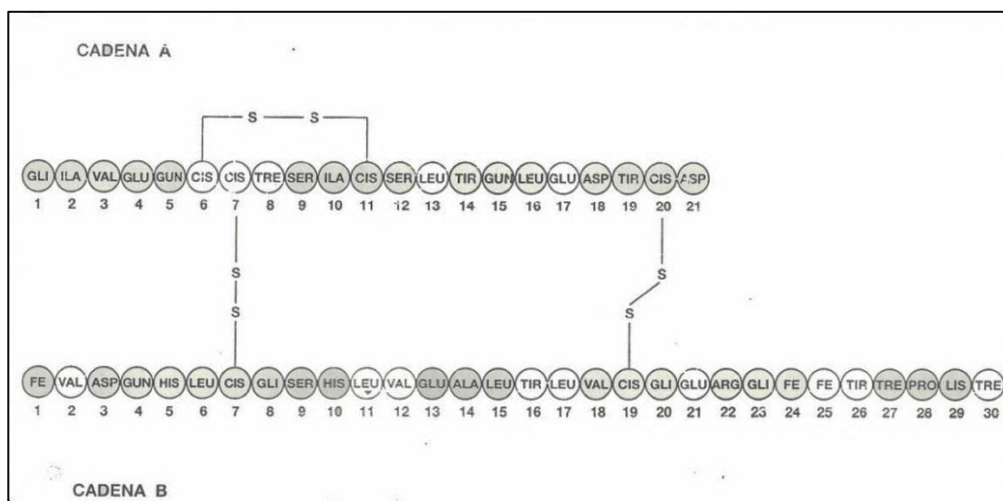


Figura 3. Estructura de la Insulina humana (Contreras, 2004).

El gen de la insulina está localizado en el brazo corto del cromosoma 11. La insulina se sintetiza a partir de la molécula precursora preproinsulina, que está formada por la molécula proinsulina precedida por un péptido señal. La separación de éste péptido señal da lugar a la proinsulina (Fig. 5) (Gomís, 2007; McPhee y Ganong, 2007; Figuerola, 2003; Gardner y Shoback, 2008).

La proinsulina está formada por una cadena de 86 aminoácidos, que incluye las cadenas A y B de la molécula de insulina más un segmento conector de 35 aminoácidos que se transporta al aparato de Golgi, almacenándose en gránulos secretores cubiertos de clatrina. La maduración de los gránulos se relacionan con la pérdida de la cubierta de clatrina, convierte la proinsulina a insulina y un pequeño conector a péptido C, el residuo de 31 aminoácidos (peso molecular de 3,0 kDa) formado por degradación proteolítica en dos sitios a lo largo de la cadena peptídica (Gardner y Shoback, 2008).

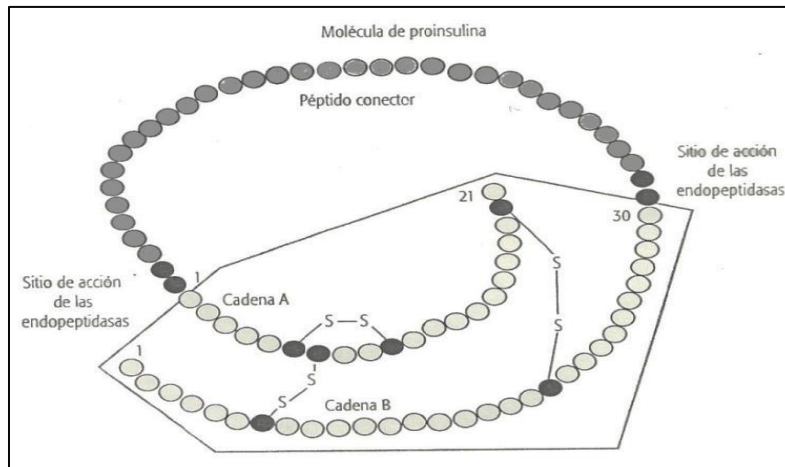


Figura 4. Estructura de la proinsulina. La molécula de proinsulina corresponde a un péptido que engloba a la insulina y al péptido conector. Mediante la acción de endopeptidasas es escindida. La insulina está constituida por una cadena A y una B, unidas por puentes disulfuro. La cadena A tiene una secuencia 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 (González y col., 2004; Gardner y Shoback, 2008).

I.2.1. Mecanismo de Secreción de la Insulina

El páncreas humano secreta de 40-50 U/día en adultos sanos, su concentración sérica promedio es de 10 μ U/ml y raramente se eleva por arriba de 100 μ U/ml. La secreción de insulina se divide en:

- **Secreción basal:** Es la cantidad de insulina secretada en estado de ayuno. Se presenta en ausencia de los estímulos exógenos. Sin embargo cuando las concentraciones de glucosa se encuentran entre 80 a 100 mg/dL no hay estimulación en la liberación de insulina (Gardner y Shoback, 2008).
- **Secreción estimulada:** Se presenta cuando hay respuesta de un estímulo exógeno, siendo la glucosa el estimulante más potente de la liberación de insulina (Gardner y Shoback, 2008).

Proteínas Transportadoras de Glucosa (GLUT)

La glucosa es el principal sustrato energético de la célula (Fig. 5) y debido a que las membranas celulares son impermeables a las moléculas hidrofílicas como la glucosa, para su ingreso requiere de proteínas transportadoras (Alpizar, 2008; Gardner y Shoback, 2008).

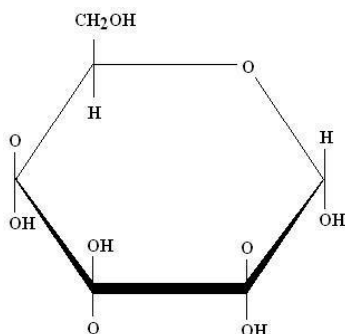


Figura 5. Glucosa (Castaño y col., 2008).

La oxidación de la glucosa es la principal fuente de energía para muchas células del organismo y es esencial para la función cerebral. Se han descrito dos sistemas de transporte de glucosa y de otros monosacáridos. El intestino y el riñón tienen un cotransportador de glucosa dependiente de Na^+ (SGLT) (transportadores sodio-glucosa) mientras que en los demás tejidos utilizan otros, que facilitan la difusión de la glucosa de un sitio, de mayor a menor concentración a través de la membrana celular (GLUT) (Proteínas transportadoras de glucosa) (Tabla 1) (Flores y col., 2007; Alpizar, 2008; Gardner y Shoback, 2008).

Tabla 1. Transportadores de Glucosa (GLUT'S)

Nombre	Distribución	Función
GLUT 1	Se presenta en todos los tejidos humanos. Endotelio en SNC, eritrocitos, placenta, riñón y colon.	Parece mediar la captación basal de glucosa, tiene alta afinidad por la glucosa y es capaz de transportarla en las concentraciones relativamente bajas en el estado basal.
GLUT 2	Riñón, intestino delgado, hígado y células β .	Afinidad muy baja por la glucosa y actúa como transportador cuando las concentraciones son relativamente elevadas.
GLUT 3	Se encuentra en todos los tejidos. Neurona y placenta.	Transportador en la superficie neuronal. Afinidad muy elevada por la glucosa y de transportarla hacia las neuronas.
GLUT 4	Músculo esquelético y cardiaco, tejido graso blanco y pardo.	Atrapado en la célula y no funciona como transportador de la glucosa hasta que una señal promovida por la insulina ocasiona translocación a la membrana celular.
GLUT 5	Intestino delgado, endotelio en SNC y espermatozoides.	Transportador de glucosa y fructuosa. Alta afinidad como transportador es responsable de la absorción de fructosa.

Proteínas transportadoras de glucosa (Burgos y Díaz, 2002; González y col., 2004; Flores y col., 2007; Gardner y Shoback, 2008).

Transporte de la Glucosa

El ingreso de la glucosa requiere de la formación previa de uniones débiles (tipo puentes de hidrógeno) entre grupos hidroxilo y carbamino del GLUT y los grupos hidroxilo de la glucosa (Díaz y Burgos, 2002). El ingreso de la glucosa a través de la membrana se desarrolla en 4 etapas, las cuales se describen a continuación:

- 1) La glucosa se une al transportador en la cara externa de la membrana.
- 2) El transportador cambia de conformación, la glucosa y su sitio de unión se encuentran localizados en la parte interna de la membrana.
- 3) El transportador libera la glucosa al citoplasma.
- 4) El transportador libre cambia nuevamente de conformación, exponiendo el sitio de unión a la glucosa en la parte externa y retorna a su estado inicial (Fig. 6).

En la cara luminal de la membrana, la glucosa se transporta en forma activa en contra del gradiente de concentración. La molécula que sirve como vehículo fija al Na^+ y a la glucosa con una relación 1:1 y atraviesa la membrana. Luego el Na^+ sale de la célula por acción de Na^+/K^+ -ATPasa, otra vez en contra del gradiente de concentración. La glucosa se excreta de las células de la mucosa por transporte activo a través de la proteína transportadora GLUT2. Alrededor del 25% de la glucosa alcanza la sangre por difusión pasiva; aproximadamente el 15% regresa a la cara externa por acción del vehículo (Konrad y Grimm, 2007).

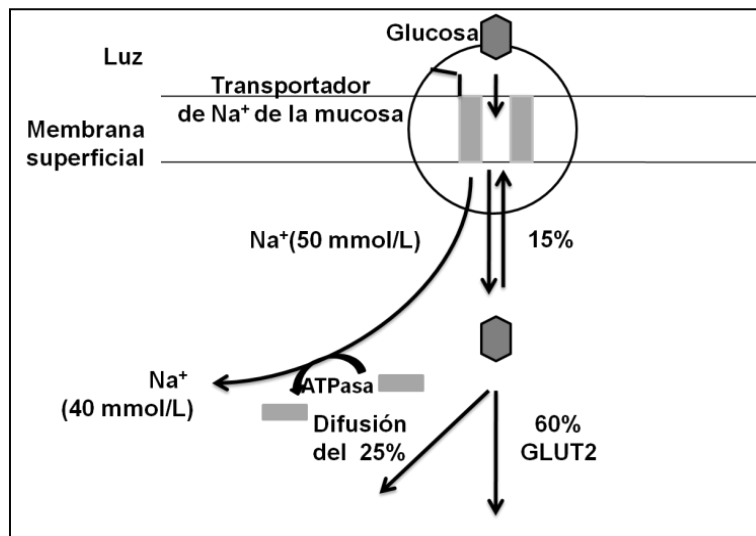


Figura 6. Mecanismo de transporte de la glucosa (Konrad y Grimm, 2007).

Liberación de la Insulina

La glucosa ingresa a las células β a través de proteínas transportadoras de glucosa, éstas se encuentran en exceso y permiten el transporte bidireccional de la glucosa, teniendo un equilibrio entre las concentraciones extracelulares e intracelulares de glucosa (McPhee y Ganong, 2007; Gardner y Shoback, 2008).

La glucocinasa es una enzima cuya actividad está regulada por la misma glucosa, controla la primera etapa del metabolismo de la glucosa: “fosforila la glucosa para formar glucosa-6-fosfato” se cree que esta enzima funciona como el sensor de la glucosa de las células β . El catabolismo de la glucosa en las células β produce aumento en la proporción de trifosfato de adenosina (ATP)/difosfato de adenosina (ADP) intracelular (Fig. 7). Esta elevación causa que se cierren los conductos de potasio sensibles al ATP, que se encuentran sobre la superficie de las células β , con lo que se despolariza la célula y se activan los conductos de calcio sensibles al voltaje (McPhee y Ganong, 2007; Gardner y Shoback, 2008).

La liberación de insulina requiere de calcio (Gardner y Shoback; 2008). Algunos efectos de la glucosa sobre el desplazamiento del ion de calcio se muestran a continuación:

- 1) La captación de calcio se incrementa por la estimulación con glucosa de las células β .
- 2) La salida del calcio a las células se retarda por acción de la glucosa.
- 3) La movilización del calcio desde las mitocondrias se presenta después de la inducción del monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) por glucosa.

La glucosa induce de manera directa la formación del AMPc (regulador de la liberación de insulina) (Fig.8) (Gardner y Shoback; 2008).

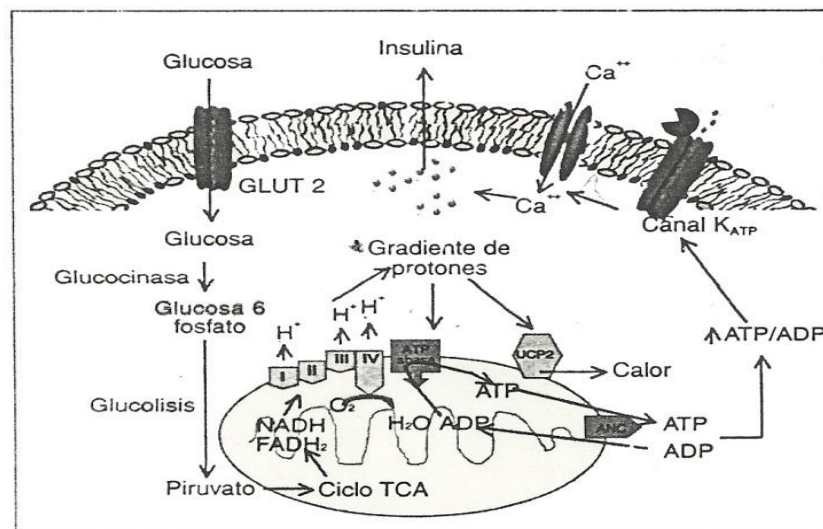


Figura 7. Acoplamiento entre estímulo de glucosa y secreción de insulina (Escobar y Tébar, 2009).

absorbe la comida. Otras hormonas gastrointestinales, como la CCK (colecistoquinina) y gastrina, amplifican la secreción de secretina (Figuerola, 2003; Silverthorn, 2008).

4. **Actividad parasimpática.** La actividad en el aparato digestivo y en el páncreas aumentan durante una comida, y la respuesta aferente parasimpática y que llegan a las células β , estimulan la secreción de insulina (Figuerola, 2003; Silverthorn, 2008).
5. **Actividad simpática.** La secreción de insulina es inhibida por las neuronas simpáticas. En periodos de estrés, aumentan las aferencias simpáticas que llegan al páncreas endocrino, lo cual se ve reforzado por la liberación de catecolaminas y por la médula suprarrenal. La adrenalina y la noradrenalina inhiben la secreción de insulina y cambian el metabolismo hacia la gluconeogénesis para proporcionar combustible extra para el sistema nervioso y los músculos esqueléticos (Figuerola, 2003; Silverthorn, 2008).

I.2.2. Receptor de Insulina

Es una proteína integral de la membrana plasmática en una gran variedad de células. Sin embargo, la acción más importante de la insulina es en las células de tejido muscular estriado y cardíaco, así como en adipocitos y los hepatocitos (González y col., 2004; Flores y col., 2007).

El receptor se constituye por dos subunidades α y dos β . Las α tienen una región externa en relación con el líquido extracelular, además del sitio de reconocimiento de la insulina. Las subunidades β se relacionan con el líquido intracelular y tiene las regiones catalíticas que permiten su autofosforilación y la fosforilación de proteínas (González y col., 2004).

Los receptores para insulina pertenecen a un grupo de moléculas con actividad de tirosin-quinasa. Su característica primordial es que cuando son activados desencadenan una serie de cambios conformacionales dentro del mismo receptor, provocando la autofosforilación de los residuos de tirosina por medio de la hidrólisis de moléculas de ATP. Una vez formado el complejo hormona-receptor, la actividad de la subunidad β desencadena reacciones en cascada y movilización hacia la superficie celular de varias proteínas incluyendo a las transportadoras de glucosa (GLUT's 1-5), el factor de crecimiento insulínico tipo II (IGF-II), el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LDL), entre otras (Fig. 9) (González y col., 2004; Flores y col., 2007).

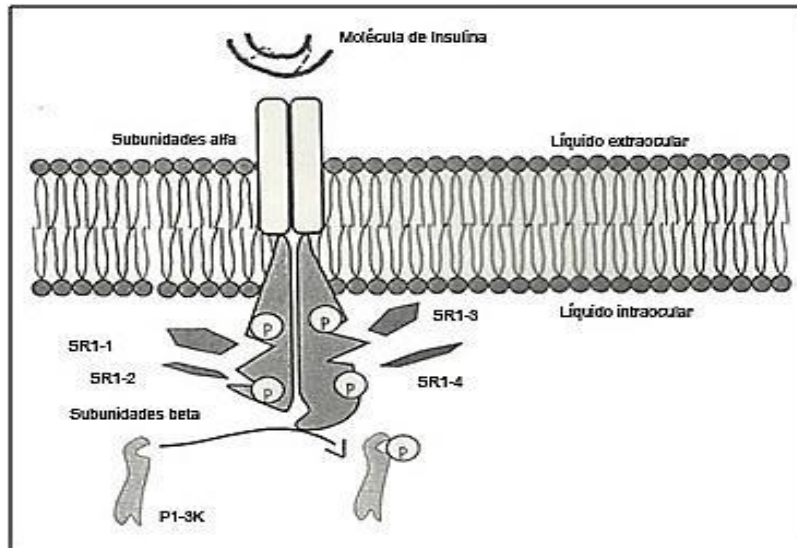


Figura 9. Receptor para insulina. Constituido por dos subunidades α y dos β . Las unidades α tienen el sitio de reconocimiento para insulina, mientras que las β son catalíticas. Las subunidades β fosforilan a proteínas específicas conocidas como “Sustrato para el receptor de insulina” (SRI). Cada uno es fosforilado en regiones determinadas de las subunidades β . De igual manera, la PI-3K al ser fosforilada por el receptor se activa (González y col., 2004).

I.2.3. Resistencia a la Insulina (RI)

El aumento de la secreción de insulina en el páncreas mantiene los niveles normales de glucosa, cuando se desarrolla la resistencia a la insulina se ve afectada la captación, el metabolismo y almacenamiento de la glucosa (Bonner-Weir y Weir, 2007).

La RI es un fenómeno fundamental en la patogenia de la diabetes mellitus tipo 2 (DM2). En la obesidad, se liberan diversos productos de las células adiposas entre ellos, AG libres y citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la adipopectina que modifican la sensibilidad periférica de la insulina (Rubin y col., 2006).

La RI se caracteriza por hiperglucemia, hiperinsulinemia y la dislipidemia. Obedece a diferentes mecanismos que pueden ubicarse celularmente tanto a nivel del receptor como en los múltiples mecanismos post-receptor. De forma simplificada, la RI se refiere a una respuesta biológica disminuida de los tejidos periféricos a una concentración específica de insulina, con la consiguiente hiperinsulinemia compensatoria (Greenwood y col., 2003; González y col., 2004; Escobar y Tébar, 2009).

Diversos estudios sugieren que el problema de la DM2 se encuentra a nivel post-receptor, ya que la actividad de la tirosin-cinasa del receptor de insulina está disminuida en pacientes diabéticos, esto puede ser consecuencia de un aumento en la actividad de la tirosina fosfatasa o de un aumento en la fosforilación de la Ser/Tre del receptor de insulina (Dorantes y col., 2008).

Otros estudios sugieren que los factores genéticos y ambientales (principalmente la obesidad) contribuyen a la RI (Brownlee, 2003).

I.3. Diabetes

La DM es un síndrome que comprende un grupo heterogéneo de enfermedades y existen diversos tipos de diabetes con efectos patológicos similares (LeRoith y col., 2003).

Las personas con diabetes tienen grandes reducciones en la esperanza de vida y en la calidad de la misma, debido a las complicaciones microvasculares específicas de la diabetes, en la retina, en el glomérulo renal, el nervio periférico y las extensas enfermedades ateroscleróticomacrovasculares (enfermedad que afecta a las arterias que irrigan el corazón, el cerebro y las extremidades inferiores) (Brownlee, 2003).

Dentro de la DM existen dos tipos principales que hoy se denominan como Diabetes tipo 1 (antes “insulinodependiente”) y Diabetes tipo 2 (antes “no insulinodependiente”) y que se engloban en un grupo de entidades que presentan distintas etiologías, modalidades clínicas y diversas demandas terapéuticas (Contreras, 2004).

Definición

La DM se define como un trastorno crónico de base genética caracterizado por concentraciones plasmáticas de glucosa anormalmente elevadas (hiperglucemia), secreción insuficiente de insulina y reactividad anormal de las células diana o ambas (Figuerola, 2003). Presenta tres tipos de manifestaciones que se muestran a continuación:

1. Síndrome metabólico, consiste en hiperglucemia, glucosuria, polifagia, polidipsia, poliuria y alteraciones en el metabolismo de los lípidos y de las proteínas como consecuencia de un déficit absoluto o relativo en la acción de insulina (Garner y Shoback, 2008; Silverthorn, 2008; Vinay y col.; 2008).
2. Síndrome vascular, que puede ser macro y microangiopático que afecta a todos los órganos, pero especialmente al corazón, a la circulación cerebral y periférica, a los riñones y a la retina (Garner y Shoback, 2008; Silverthorn, 2008; Vinay y col.; 2008).
3. Síndrome neuropático, que puede ser a su vez autonómico y periférico (Garner y Shoback, 2008; Silverthorn, 2008; Vinay y col., 2008).

I.3.1. Clasificación de la Diabetes

De acuerdo a la clasificación aprobada por la Asociación Americana de Diabetes y avalada por la Organización Mundial de Salud (OMS), se clasifica la DM de la siguiente manera (Alpizar, 2008).

- Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)
- Diabetes Mellitus tipo 2
- Otros tipos específicos de diabetes
- Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)

I.3.2. Diabetes Mellitus Tipo 1

Es un grupo de trastornos caracterizados por altos niveles de glucosa en sangre. Las células del páncreas y sus productos de secreción de insulina son fundamentales en la fisiopatología de la DM1, parte de una deficiencia absoluta de insulina debido a la destrucción autoinmune de células β productoras de insulina del páncreas (Bell y col., 2001; Lopes y Paes, 2011). Afecta a la insulina que influye en el metabolismo de los carbohidratos, la estimulación de la captación de la glucosa en el músculo esquelético y la supresión de la producción de glucosa desde el hígado, inhibe la liberación de los AG del tejido adiposo y estimula la incorporación de aminoácidos en las proteínas (Niswender, 2011).

Los factores de riesgo no modificables de la DM1 han sido establecidos, por ejemplo la base genética, algunos determinantes ambientales como la raza, zona geográfica y otros factores (Contreras, 2004).

En general la DM1 se caracteriza por una destrucción total de los islotes pancreáticos de células β y una insulinopenia total. Los pacientes dependen de la administración diaria de insulina para sobrevivir (por ello, también recibió la denominación de diabetes mellitus insulino dependiente o DMID) (Lavin, 2003). La DM1 se puede clasificar en:

1. **DM1 Autoinmunitaria**, se define por la presencia de anticuerpos anticélulas insulares (ICA), antiinsulina (IAA), autoanticuerpos contra la descarboxilasa del ácido glutámico (anti-GAD) y autoanticuerpos contra la fosfatasa de la tirosina IA-2 e IA-2 β . Por lo menos uno y habitualmente varios de estos anticuerpos están presentes en el 85 a 90% de los individuos cuando se detecta por primera vez hiperglucemia (Figuerola, 2003; Contreras, 2004).

También la enfermedad tiene fuertes asociaciones HLA. Los alelos HLA-DR/DQ pueden ser ya sea predisponentes o protectores (Contreras, 2004).

La velocidad de la destrucción celular es variable, rápida en algunas personas y lenta en otras. La forma de destrucción rápida se observa comúnmente en niños; la forma de destrucción lenta en general ocurre en adultos y se denomina diabetes autoinmunitaria latente en adultos (LADA) (Figuerola, 2003).

2. **DM1 Idiopática**, en la que se desconoce la etiología o la patogenia de la destrucción, no se puede demostrar la presencia de trastornos autoinmunitarios (no incluye las formas de destrucción de la célula beta en las que se pueda identificar una causa específica) (Figuerola, 2003; Contreras, 2004).

Los individuos con esta forma de diabetes sufren de cetoacidosis episódica y presentan diversos grados de deficiencia insulínica entre los episodios. Esta forma de diabetes carece de evidencias inmunológicas de autoinmunidad y tampoco tiene relación con el sistema HLA (Contreras, 2004).

La enfermedad por lo general afecta a personas menores de 30 años de edad con mayor incidencia durante la pubertad. La destrucción autoinmunitaria de las células β no tiene lugar de manera aguda, los síntomas clínicos si ocurren de esta manera (McPhee y Ganong, 2007).

Los individuos con DM1 tienen pocas células β , con lo que no pueden liberar suficiente insulina para provocar la captación de glucosa por las células del músculo esquelético, corazón o tejido adiposo. Así después de una comida rica en glúcidos la glucosa se acumula hasta niveles anormalmente elevados en la sangre, condición conocida como hiperglucemia. Incapaz de captar la glucosa, el músculo y el tejido graso utilizan los ácidos grasos de los triacilgliceroles almacenados como combustible principal. En el hígado, la Acetil CoA procedente de esta degradación de los ácidos grasos se convierte en “cuerpos cetónicos” (acetoacetato y β -hidroxibutirato) que se exportan a otros tejidos para su utilización como combustibles (Cox y Nelson, 2008).

Estos compuestos son de gran importancia para el cerebro que utiliza los cuerpos cetónicos como combustible alternativo cuando no hay glucosa su disposición (los ácidos grasos no pueden pasar a través de la barrera hematoencefálica, por lo que no pueden utilizarse como combustible por las neuronas cerebrales) (Cox y Nelson, 2008).

La sobreproducción de acetoacetato y de β -hidroxibutirato conduce a su acumulación en la sangre, y el consiguiente descenso del pH sanguíneo produce cetoacidosis, una situación que pone en peligro la vida. La inyección de insulina permite invertir esta secuencia de acontecimientos: GLUT 4 se desplaza a las membranas plasmáticas de la formación de pentosas fosfato a través de la ruta de la ruta de las pentosas fosfato, la cual también se inicia en glucosa-6-fosfato de los adipocitos y hepatocitos, las células captan y fosforilan la glucosa y descienden los niveles de glucosa sanguínea, reduciéndose de este modo la producción de cuerpos cetónicos (Cox y Nelson, 2008).

Dentro de la DM dependiente de la insulina, un pequeño porcentaje tiene incluida la autoinmunidad primaria (idiopática), al concurrir enfermedades autoinmunitarias endocrinas como tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves-Basedow, enfermedad de Addison, insuficiencia gonadal primaria y otro tipo de enfermedades autoinmunitarias, como anemia perniciosa, enfermedades del tejido conjuntivo, enfermedad celiaca y miastenia grave (Islas y Revilla, 2005).

I.3.4. Etiopatogenia

La etiología exacta de la DM1 autoinmune es compleja, y aún no se comprende completamente, es probable que el comienzo de la enfermedad se desencadene por factores ambientales o en individuos genéticamente susceptibles. Los sujetos con susceptibilidad genética tienen una masa normal de células β al momento del nacimiento, luego comienza la pérdida de ellas, por una destrucción autoinmune, que se produce en meses o años, tiempo en donde el individuo permanece asintomático y euglicémico. Se caracteriza por degradación tisular, glucosuria, poliuria, polidipsia, polifagia y cetoacidosis metabólica (Tabla 2) (Contreras, 2004; Silverthorn, 2008).

La captación de nutrientes en la sangre y su metabolización por el hígado, el músculo esquelético en reposo, el tejido adiposo y otros órganos insulino-dependientes se ven afectados en ausencia de insulina y están gravemente disminuidos. Las células entran en un metabolismo de ayuno por falta de nutrientes (Contreras, 2004).

Presentación Clínica

Los signos y síntomas tienen relación con la presencia de hiperglucemia y los efectos derivados en el equilibrio de líquidos y electrolitos. Debido a que las infecciones pueden precipitar la presentación inicial, puede haber infección, fiebre, dolor de garganta, tos o disuria. El inicio de los síntomas también puede ser insidioso, especialmente en personas mayores con DM1 y puede ocurrir en un periodo de tiempo que va de semanas e incluso de varios meses (Larsen y col., 2004).

Tabla 2. Alteraciones Metabólicas en Ausencia de Insulina

		ALTERACIÓN
METABOLISMO	PROTEÍNAS	Sin glucosa para la obtención de energía y aminoácidos para sintetizar proteínas, los músculos degradan sus proteínas para la producción de ATP. Los aminoácidos abandonan a los músculos y son transportados al hígado.
	GRASAS	El tejido adiposo degrada sus depósitos de grasas. Los ácidos grasos entran en sangre y son transportados a hígado. Sin embargo el hígado tiene capacidad limitada de degradar los ácidos grasos, por lo que el exceso de éstos provoca que los ácidos grasos se conviertan en cetonas.
	GLUCOSA	En ausencia de insulina, la glucosa se mantiene en sangre produciendo hiperglucemia. El hígado, es incapaz de captar y metabolizar esta glucosa, iniciando las vías de ayuno de glucogenólisis y gluconeogénesis, provocando una producción mayor de glucosa a partir de glucógeno y empeora la hiperglucemia.
POLIFAGIA		En el cerebro, los tejidos no insulino-dependientes como lo son la mayoría de las neuronas, su metabolismo lo hacen de manera habitual. Las neuronas siendo el centro de saciedad del cerebro y sensibles a insulina, son incapaces de captar glucosa plasmática, aumentando la ingestión excesiva de alimento.
DIURESIS OSMÓTICA/POLIURIA		La hiperglucemia de la diabetes hace que las concentraciones de glucosa plasmática excedan su umbral renal, saturando la reabsorción de glucosa. La glucosa filtrada no se reabsorbe y se excreta en orina (poliuria). La presencia de soluto adicional en el túbulo colector provoca que se reabsorba menos agua y se excrete más. La pérdida de agua en orina se debe a los solutos no reabsorbidos conocida como diuresis osmótica.
POLIDIPSIA		La diuresis osmótica disminuye el volumen sanguíneo y reduce la presión arterial. La presión arterial desencadena mecanismos homeostáticos de control, como secreción de ADH, aumento de la sed (polidipsia) y compensaciones cardiovasculares.
ACIDOSIS METABÓLICA		Los tejidos entran en glucólisis anaerobia (que crea ácido láctico) si la compensación cardiovascular fracasa y la presión arterial disminuye hasta el punto en que la perfusión de los tejidos periféricos se torna insuficiente. El ácido láctico sale de las células y entra en sangre.

Respuesta del metabolismo en ausencia de insulina (Silverthorn, 2008).

Factores Genéticos

La predisposición genética a la DM1 se expresa mediante los alelos del complejo de histocompatibilidad que es una familia de genes, expresada en el brazo corto del cromosoma 6 que permiten la identificación de las moléculas propias y las invasoras (extrañas), y depende de varios genes localizados en loci diferentes (Contreras, 2004; Escobar y Tébar, 2009).

En etapas iniciales hay una filtración linfocitaria, principalmente a base de CD8⁺ en los islotes y una expresión de antígenos HLA clase II. Se detectan ICA (anticuerpos secundarios) no involucrados en la respuesta autoinmune, pero son un marcador importante en el proceso de la enfermedad (Ferreira y col., 2005).

Factores Ambientales

Entre los posibles factores que desencadenan la DM1 en individuos genéticamente susceptibles se encuentran los virus, las toxinas ambientales y los alimentos.

La incidencia de DM1 tiene una variación estacional, con un incremento de la tasa de inicio durante el otoño e invierno. Una infección viral podría precipitar la enfermedad. Entre los virus relacionados que hay mayor evidencia en el desarrollo de DM1 es el virus de la rubeola. La infección congénita representa una probabilidad del 20% de presentar DM1. También las infecciones por enterovirus, citomegalovirus, virus de coxsakie, parvovirus B19 y rotavirus pueden infectar directamente las células β y causar citólisis, o bien inducir una respuesta inmune como ocurre con el virus de coxsakie B4 debido a su homología con GAD (Escobar y Tébar, 2009).

Terapéutica

Hay dos objetivos íntimamente relacionados que centran a la terapia de la diabetes:

- A) Mejorar la utilización de la glucosa y otros nutrientes en los tejidos como, aminoácidos, glicerol, ácidos grasos y cuerpos cetónicos (Flórez, 2008).
- B) Normalizar al máximo posible los niveles de glucemia sin perturbar de manera notable el estilo de vida del paciente (Flórez, 2008).

El tratamiento se basa en la dieta ajustada a las necesidades vitales de cada persona así como la administración de la insulina y los hipoglucemiantes orales (Flórez, 2008).

El tratamiento con insulina imita mediante la aplicación de inyecciones, el patrón de secreción de la hormona en la persona no diabética. La insulina es secretada a dos velocidades diferentes: 1) secreción basal lenta a lo largo de las 24 h que da lugar a los reducidos niveles de insulina presentes entre las comidas y durante la noche, 2) secreción más rápida en el momento de las comidas (Contreras, 2004).

La secreción de insulina disminuye conforme avance la DM por lo que la combinación de agentes hipoglucemiantes ha sido poco eficaz. Esto conlleva a la administración de la hormona de la insulina para sobrevivir con DM (Flores y col., 2007). Cabe mencionar que el control glucémico de éstos pacientes está subordinado al adecuado aporte de insulina exógena durante las 24 h del día. La sustitución de insulina exógena basal es difícil durante las horas nocturnas. Estos pacientes tienen

un requerimiento variable de insulina durante la noche, debido a que tienen una menor sensibilidad insulínica en el hígado (Contreras, 2004).

Las preparaciones de insulina se clasifican de acuerdo a su origen en bovina, porcina y humana además de la duración de su acción, rápida (R), intermedia (I) y lenta (L). Actualmente la insulina de origen animal ha sido sustituida por la insulina humana (H) de origen recombinante (Flores y col., 2007).

Hace algunos años se obtuvo la insulina semisintética, al reemplazar la alanina con treonina en la insulina porcina. Asimismo, se produjo la insulina humana biosintética, con tecnología de DNA recombinante. La insulina H es menos inmunogénica que la de origen animal (Flores y col., 2007).

Insulina Rápida

En este grupo se encuentra la insulina clásica o bien cristalina. Se administra antes de la comida, cuya duración es entre 6 a 8 h. Se administra habitualmente por vía subcutánea, de modo que su efecto máximo corresponde con la elevación de la glicemia posprandial. Han surgido otras insulinas de acción ultrarrápida dentro del grupo de los *análogos de insulina* (Contreras, 2004).

Análogos de insulina de acción corta: Han sido introducidos análogos monoméricos de insulina con la finalidad de acelerar la absorción de insulina inyectada por vía subcutánea (Contreras, 2004).

Las moléculas de insulina porcina purificadas e insulina humana, tienen una alta tendencia a asociarse en forma de hexámeros, la forma predominante de las insulinas de uso habitual. La disociación de la insulina humana en moléculas monoméricas es lenta en el sitio de la inyección subcutánea, y por lo tanto su absorción es también lenta ya que la insulina se absorbe en la forma monomérica. El tratamiento preprandial con preparados de insulina de acción corta (purificada de porcino o humana) resulta en aumento precoz de la absorción intestinal de glucosa. Por esta razón, aumenta la glicemia en exceso 1 a 2 h después de la ingestión de la comida. Sin embargo, 4 a 5 h después de la inyección de insulina subcutánea, la absorción continúa desde los sitios de inyección, produciendo elevación inapropiada de la insulina en sangre, aumentando el riesgo de hipoglucemia ya que aún continúa la absorción de los alimentos (Contreras, 2004)

Insulina Intermedia

Este grupo de acción intermedia pertenece a 2 tipos principales:

Insulina isofana: Es una suspensión insoluble de insulina preparada mediante la combinación de la insulina con protamina (proteína obtenida de un tipo de trucha) y con iones de zinc a pH neutro. El contenido de protamina es de 0.4 mg por cada 100 UI. También es denominada esta insulina como NPH (Protamina Neutra Hagedorn) (Contreras, 2004).

Insulina lenta: Es una insulina insoluble preparada mediante la adición de un exceso de iones de zinc a la hormona (Contreras, 2004).

La insulina isofana y lenta tienen una duración de 8-12 h tras la inyección subcutánea, aunque la insulina NPH parece tener una duración más prolongada y un pico de acción más tardío (Contreras, 2004).

Existen diferentes tipos de insulina con tiempos de acción distintos y que proporcionan un efecto para cada necesidad en el paciente diabético (Tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de los Diferentes Tipos de Insulina

Tipos de Insulina	Inicio de Acción (min.)	Acción Óptima (h)	Duración máxima (h)
Acción rápida análoga	10-20	1-3	3-5
Acción corta (regular)	30	2.5-5	8
Acción intermedia (NPH)	90	4-12	24
Premezclada (70/30)	30	2-12	24
Premezclada análoga (70/30)	10-20	2-3	Hasta 24

Acción de diferentes tipos de Insulina
(Tomada de Novo Nordisk, 2003).

I.4. Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2)

La prevalencia de la DM en todo el mundo, especialmente de la DM2, está aumentando rápidamente (Van der Linden y col., 2009).

La consecuencia final de la combinación de distintos defectos metabólicos resulta, a su vez, de la interacción de factores determinantes genéticos y ambientales. Aunque se le considera como una sola enfermedad, se trata de un trastorno genéticamente heterogéneo con una expresión final común. Es probable que en cada población predomine un tipo genético específico (Gómez y Aguilar, 2004).

Las anomalías fisiopatológicas mejor identificadas comprenden defectos en la secreción y la acción de la insulina. Estos defectos cambian en la expresión a lo largo de la historia natural de la enfermedad. Algunos se inician tiempo antes de que pueda hacerse el diagnóstico clínico de la enfermedad y continúan cambiando conforme esta avanza. Así, los mecanismos fisiopatológicos y las anomalías metabólicas de la DM2 varían en magnitud y aún en la

naturaleza, según la etapa de la historia natural de la enfermedad en que se estudien (Gómez y Aguilar, 2004).

La DM2 se caracteriza por resistencia insulínica en músculo, hígado y tejido adiposo que quizá comienza en una fase preclínica (probablemente en el estadio de tolerancia a la glucosa). La deficiencia de la secreción insulínica origina hiperglucemia descompensada y precipita la expresión clínica de la enfermedad (LeRoith y col., 2003).

La DM2 no depende de la insulina exógena para prevenir cetonuria y no son propensos a sufrir cetosis, algunos casos requieren de insulina para corregir (LeRoith y col., 2003).

No se conocen los genes que originan la mayor parte de los casos de DM2, sin embargo, se encuentra muy ligada a determinados factores genéticos. Es muy probable que las causas de la DM2 sean factores ambientales y del modo de vida que se añaden a la predisposición genética. Uno de estos factores es la obesidad, la prevalencia y frecuencia de la DM2 (LeRoith y col., 2003).

La resistencia a la insulina es el factor que correlaciona la obesidad y la diabetes. El riesgo de diabetes se incrementa al aumentar el índice de masa corporal, lo que sugiere una relación dosis-repuesta entre la grasa corporal y la resistencia a la insulina (Vinay y col., 2008).

En la DM2, los músculos y las células grasas son "resistentes" a las acciones de la insulina y los mecanismos de compensación que se activan en las células β a secretar más insulina no son suficientes para mantener los niveles de glucosa en sangre dentro de un rango fisiológico normal (Bell y col., 2001).

Los adipocitos liberan una gran variedad de factores (AG libres y adinopectinas), que pueden desempeñar una función en la modulación de la resistencia a la insulina en los tejidos periféricos. El exceso de AG libres y de resistina se asocia con una resistencia a la insulina; por el contrario, la adinopectina, cuyas concentraciones están disminuidas en la obesidad, es una adinopectina que aumenta la sensibilidad a la insulina. Diversos factores son los que relacionan la obesidad entre la resistencia a la insulina, que incluyen a los AG libres y los productos específicos de los adipocitos (adinopocitocinas) (Vinay y col., 2008).

I.5. Síndrome Metabólico (SM)

El SM es una condición que se caracteriza por una menor sensibilidad de los tejidos periféricos, como el músculo y el hígado a la acción de la insulina, permitiendo una elevación compensatoria de su secreción lo que ocasiona la hiperinsulinemia (Flores y col., 2007). Constituye en realidad una enfermedad única, la enfermedad metabólica o quizá metabólico-vascular (Braguinsky, 2006).

El SM obedece a defectos hereditarios en las enzimas metabólicas (50%), obesidad (25%), desnutrición *in útero* y a factores ambientales como una deficiente actividad física, tabaquismo, alcoholismo (25%), entre otros (Flores y col., 2007).

La insulinoresistencia se considera la anomalía clave en la DM2 y a menudo precede a los hallazgos clínicos de la diabetes en 5 a 6 años resulta de gran utilidad la identificación temprana de sujetos en riesgo en sus etapas iniciales (Martínez y col., 2002).

El SM incrementa el riesgo de complicaciones crónicas de la diabetes, se asocia a una mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular en general y de enfermedad coronaria en particular, con incremento de 5 veces más en la frecuencia de mortalidad cardiovascular (Martínez y col., 2002).

Características Diferenciales entre la DM1 y DM2

La DM2 difiere de la DM1 en distintas características (Tabla 4), el cual es más frecuente.

Tabla 4. Diferencias entre la DM1 y la DM2

Parámetro	DM1	DM2
Clínica	Peso normal Disminución importante de la insulina sanguínea Anticuerpos contra las células de los islotes Cetoacidosis frecuente	Obesidad Aumento de la insulina en sangre (precoz); descenso normal a moderado de la insulina (tardío) Ausencia de anticuerpos contra las células de los islotes Cetoacidosis infrecuente; coma hiperosmolar no cetósico
Aspectos genéticos	Relación con genes HLA del MHC de clase II	Sin relación con HLA Relación con genes candidatos <<diabetógenos>>
Patogenia	Destrucción autoinmunitaria de las células β mediada por linfocitos T y mediadores humorales Déficit absoluto de insulina	Resistencia a la insulina en el músculo esquelético, tejido adiposo e hígado Disfunción de las células β y déficit relativo de insulina
Células de los islotes	Insulinitis precoz Atrofia y fibrosis marcada Depleción de células β	Ausencia de insulinitis Atrofia focal y depósito de amiloide Depleción leve de células β

Comparación de la DM1 y la DM2 (Vinay y col., 2008).

I.6. Tipos Específicos de Diabetes

Son formas comunes, y el defecto o el proceso que lleva a la enfermedad se pueden determinar de una manera bastante específica. Se diferencian hasta 8 subtipos (tabla 5) (Figuerola, 2003).

Tabla 5. Clasificación de la Diabetes con Base en su Defecto Clínico

<p>1. Defectos genéticos en la función de la célula β</p> <p>HNF-4 alfa HNF-1 alfa Glucocinasa Otros</p>	<p>2. Inducida por tóxicos o agentes químicos</p> <p>Ácido nicotínico Glucocorticoides Hormona tiroidea Otros</p>
<p>3. Defectos Genéticos de la acción de la insulina</p> <p>Insulinorresistencia tipo A Leprechaunismo Síndrome de Rabson.Medenhall Otros</p>	<p>4. Infecciones</p> <p>Rubéola congénita Citomegalovirus Otros</p>
<p>5. Enfermedades del páncreas exocrino</p> <p>Pancreatopatía fibrocalculosa Pancreatitis Traumatismos Otros</p>	<p>6. Formas no comunes de diabetes inmunitaria</p> <p>Síndrome autoinmunitario de insulina (anticuerpos contra insulina) Anticuerpos antirreceptores de insulina Otros</p>
<p>7. Endocrinopatías</p> <p>Cushing Acromegalia Feocromocitona Somatostatina Otros</p>	<p>Otros síndromes genéticos</p> <p>Down Ataxia de Friedreich Klinefelter Wolfram Turner Otros</p>

(Tomada de Figuerola, 2008).

I.7. Diabetes Mellitus Gestacional

Se define como una alteración del metabolismo de la glucosa que se presenta durante la gestación (Alpizar, 2008).

I.8. Diabetes Experimental

La Diabetes puede ser inducida de manera experimental en animales de laboratorio utilizando sustancias químicas que alteran la función pancreática, por ejemplo: la estreptozotocina (STZ), que dependiendo de la dosis utilizada y la edad en la cual sea administrada, puede inducir la DM1 ó DM2, debido a que la STZ disminuye la secreción y biosíntesis de la insulina (Szkudelski, 2001).

Los agentes químicos que producen diabetes se clasifican dentro de 3 categorías, que incluyen agentes que 1) dañan específicamente a las células β (STZ); 2) que causan inhibición temporal de la producción de insulina y/o su secreción (alloxán) y 3) que disminuyen la eficacia metabólica de la insulina sobre los tejidos donde actúa(dexametasona). El agente más comúnmente utilizado es la STZ.

Estreptozotocina (STZ)

La STZ es sintetizada por *Streptomyces achromogenes* y se utiliza para inducir tanto una DM1 como una DM2 (Szkudelski, 2001).

El rango de la dosis de STZ no es tan estrecho como en el caso del alloxán. La dosis única intravenosa en ratas adultas para inducir la DM1 es entre 40 y 60 mg/kg de peso corporal, pero las dosis más altas (100 mg/kg) también son utilizadas (Szkudelski, 2001).

Mecanismo de Acción

La acción de STZ en células β se acompaña de alteraciones características de la insulina en sangre y las concentraciones de glucosa. La STZ es absorbida por las células pancreáticas β a través de GLUT 2 (transportador de glucosa). Al estar en el interior de las células se metaboliza, liberándose óxido nítrico (NO), este es responsable del efecto citotóxico de la STZ. Otros responsables de la muerte de las células β , son las especies reactivas de oxígeno (ROS) como el peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (OH), éstos van a inhibir el Ciclo de Krebs y por tanto no se lleva a cabo la formación de ATP, además de daño al ADN, se inhibe la síntesis de insulina, su secreción, y da lugar a la muerte de las células β (Fig. 10) (Szkudelski, 2001; Orozco, 2008).

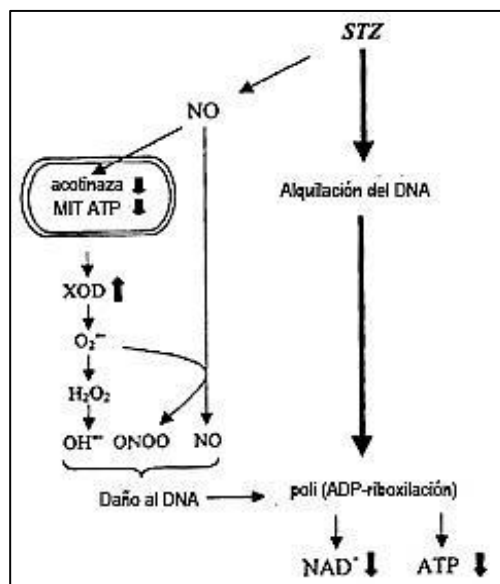


Figura 10. Mecanismo de acción de Estreptozotocina. Induce una serie de eventos tóxicos en las células β del páncreas, MIT-mitocondria; XOD-xantina oxidasa (Szkudelski, 2001).

Alloxán

Agente diabético descubierto por Dunn y Mc Letchie, el cual produce necrosis de las células de los islotes del páncreas de conejos. *In vitro*, el alloxán posee una capacidad específica inhibitoria y citotóxica sobre las células β , sin afectar a otras células de los islotes. Ejerce su efecto interactuando en la membrana de las células β originando una necrosis selectiva. Inhibe la liberación de insulina a la estimulación con glucosa y a dosis elevadas produce necrosis de las células con una deficiencia de insulina y un aumento en la cetosis (Fig. 11) (Szkudelski, 2001).

Mecanismo de Acción

El alloxán tiene una gran afinidad por células que contienen compuestos sulfidril (SH), formando radicales alloxán (HA) y reduciendo glutatión (GSH). Estos radicales inhiben las glucoquinasas (GK) responsables de la secreción de insulina por glucosa. Después se presenta una reoxidación dando paso a la generación de nuevas ROS, radicales superóxido y iones férricos (Fe^{3+}), trayendo como consecuencia daño al DNA (Szkudelski, 2001).

Por otro lado, las ROS generan disturbios en la homeostasis de calcio intracelular. Se despolariza la membrana, lo que ocasiona que incremente el calcio intracelular, permitiendo la liberación de la insulina junto con ROS y reduciendo significativamente la glucosa en sangre (hipoglucemia), seguido de alteraciones en la sensibilidad a la insulina (Szkudelski, 2001).

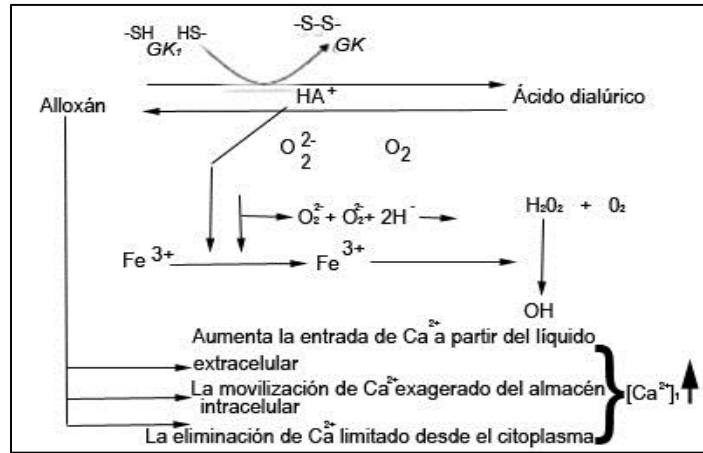


Figura 11. Mecanismo de acción de Alloxán. Induce generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en las células β del páncreas de rata. Gka, Gki-glucocinasa activa e inactiva respectivamente; HA⁺-radicales de alloxán. [Ca²⁺]_i-concentración de calcio intracelular(Szkudelski, 2001).

I.9. Relación entre Diabetes y Ácidos Grasos

I.9.1. Ácidos grasos (AG)

Existen tres clases básicas de AG: saturados, monoinsaturados y poliinsaturados. Sus propiedades físico-químicas y efectos metabólicos están determinados por la longitud de la cadena hidrocarbonada de los AG, junto con el grado de insaturación (número de dobles enlaces CH=CH) (Mataix y Gil, 2004).

I.9.2. Ácidos Grasos Poliinsaturados Omega-3(AG ω -3)

Los AG ω -3 se encuentran en pequeñas cantidades en algunos aceites vegetales, pero su fuente principal se encuentra en algunos animales marinos (como sardina, salmón, hígado de bacalao, entre otros) (Mataix y Gil, 2004).

Hay un gran interés sobre los efectos de los AG ω -3 en los diabéticos, ya que esta enfermedad se asocia frecuentemente a dislipidemias y a un mayor riesgo de aterosclerosis, con frecuencia se prescriben AG ω -3 en la diabetes y las dislipidemias (Nassif y Meriño, 2003).

Se ha descrito que algunos aceites de pescado pueden aliviar los efectos negativos que producen los productos finales de la glucosilación avanzada sobre la relajación del endotelio, mediada por el óxido nítrico (Nasiff y Meriño, 2003).

El músculo esquelético requiere de la acción de la insulina para la captación de la glucosa. La unión de la insulina a su receptor inicia una cascada de eventos que culmina con el transporte de glucosa dentro de la célula para que sea metabolizada o almacenada como glucógeno. Las propiedades físico-químicas de las membranas están determinadas por la naturaleza de los AG que la componen, especialmente en la fracción fosfolipídica, y esto puede influir en diversas funciones celulares, por ejemplo, parece ser que la composición de la membrana celular del miocito puede influir en la acción de la insulina (Pérez y Guerrero, 2006).

Al incrementar los AG poliinsaturados en la membrana de las células en cultivo se mejora la respuesta a la insulina por mecanismos no determinados, probablemente asociados a mayor fluidez de la membrana, a un aumento en el número de receptores; un efecto contrario ocurre cuando la concentración de AG saturados de la membrana se incrementa (Pérez y Guerrero, 2006).

En individuos sanos, la resistencia periférica a la insulina provocada por la dieta de lípidos saturados puede ir acompañada de la secreción de insulina aumentada, de tal manera que se mantiene la tolerancia a la glucosa. La sustitución de los AG ω -3 por un pequeño porcentaje de las grasas saturadas, éstos AG normalizan la acción de la insulina y previenen la resistencia a la insulina en respuesta a la alta saturación de alimentación grasa, tanto en el hígado y tejidos periféricos (Greenwood y col., 2003; Han y col., 2008).

I.10. Plantas Medicinales

Como alternativa a los medicamentos ortodoxos disponibles, las plantas son consideradas una fuente potencial para el tratamiento de la diabetes dentro de las prácticas tradicionales de la etnomedicina (Afifi-Yazar y col., 2011).

Algunas plantas son consideradas medicinales y pueden ser consumidas a una dosis adecuada y son útiles para el tratamiento de determinadas enfermedades. Existen entre 200 000 y 250 000 especies de plantas y sólo se han estudiado alrededor del 10% de ellas, partiendo de sus posibles aplicaciones medicinales (Charles, 1997; Esteva, 2005).

Las plantas medicinales se definen como cualquier vegetal que contenga, en cualquiera de sus órganos alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos, o que se pueda emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutica (Kuklinski, 2003). Muchas de las plantas utilizadas contienen principios activos cuyos efectos pueden ser comprobados farmacológicamente y la acción de los extractos de plantas pueden estar relacionadas en general con la de sus componentes aislados (Charles, 1997).

Una renovada atención en las últimas décadas a las medicinas alternativas y terapias naturales ha estimulado una nueva ola de interés en la investigación de las prácticas tradicionales. El reino vegetal se ha convertido en un objetivo para la búsqueda de nuevos fármacos y actividad biológica de sus componentes (Eidi y Eidi, 2009).

El impacto de las complicaciones de la DM, su tratamiento farmacológico y las hospitalizaciones a nivel mundial no han sido completamente descritos, por lo que éstos factores son esenciales para entender la carga económica que genera esta enfermedad (Van der Linden y col., 2009).

Actualmente existen empresas dedicadas al desarrollo de nuevas fórmulas para la elaboración de extractos que contribuyan en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas por ejemplo Omnilife, Nadian Plus, entre otras. La empresa Nadian plus desarrolló un Extracto Herbolario (EH) que pretende apoyar en el tratamiento alternativo y/o complementario de pacientes con DM1 y que genere resultados positivos no tóxicos; el objetivo es administrar una dosis vía oral del EH promoviendo una mejor calidad de vida del paciente y la posibilidad de prevenir enfermedades.

El contenido del EH que desarrolló esta empresa está integrado por distintas plantas, entre las que se encuentra la Ámula de Monterrey, el Hormiguillo, la Guayaba y el Pino. Parte de la composición de estas plantas presenta actividad antioxidante, los cuales desempeñan un papel importante en la protección de estructuras celulares dañadas en reacciones con radicales libres, éstos atacan a los AG saturados de las biomembranas causando así peroxidación de lípidos y la disminución en la permeabilidad membranal así como daño a proteínas membranales (Tenorio y col., 2006).

I.10.1. Componentes Conocidos del Extracto Herbolario (EH)

1) *Ámula de Monterrey*

Especie: *Calea integrifolia* (D.C.).

Nombre común: Ámula de Monterrey, prodigiosa.

Composición química: Taninos y Flavonoides.

Acción Farmacológica: Antiespasmódico de vías biliares, antidiabético (Waizel, 2006).

2) *Hormiguillo*

Especie: *Cecropia obtusifolia*

Nombre común: Hormiguillo.

Composición química: Ramnosa, glucosa xilosa, 5-(etoxi)-metil furfura, estigmasterol. Esteroles y taninos del grupo pirogalol.

Acción Farmacológica: Su aplicación principal se reporta en casos de diabetes. Para malestares de presión arterial y problemas renales, También recibe amplio uso contra piquetes de alacrán, hormigas y excesiva salivación. Analgésico o antipirético (Colas, 1996; Callejas, 2006).

3) *Lágrimas de San Pedro*

Especie: *Rhipsalis baccifera*

Nombre común: Injerto, lágrimas de San Pedro, mazorquita, nigülla, tripa de diablo; Puebla: patlac tlac, tski tsk; San Luis Potosí: xi'il uxum, xi'il boo'waat (tenek).

Composición química: Alcaloides y saponinas.

Acción Farmacológica: Tratamiento de fracturas, diabetes, promover el crecimiento del cabello y el fortalecimiento de la flora intestinal (Colás, 1996).

4) *Pino*

Especie: *Pinus sp.*, *Pinus pinaster*, *Pinus sylvestris*, *Pinus palustris*, *Pinus elliotti*, *pinus halapensis* y otros. Fam. Pináceas otros géneros también permiten obtener la trementina. Abies, Latix y Picea.

Nombre común: Pino silvestre, Pino.

Composición química: La esencia o fracción volátil contiene: Hidrocarburos monoterpénicos bicíclicos: Limoneno, α y β -pineno. Sesquiterpenos. Monoterpenos: Borneol. Ésteres terpénicos: Acetato de bornilo. La colofonia (residuo no volátil) o fracción resinosa contiene principalmente: Ácidos diterpénicos (60%) sobre todo ácido dextro y levopirámico y ácido abiético (resultado de la isomerización del ácido levopirámico durante el proceso de obtención, al calentar). El ácido abiético es el producto mayoritario en la colofonia. También contiene lignanos, polisacáridos y antocianósidos (Kuklinski, 2000).

Acción Farmacológica: Tiene acción antiséptica tanto en las vías respiratorias como en las vías urinarias. Tiene efecto irritante, sobre la piel es rubefaciente y por vía interna es expectorante. También presenta acción estimulante. Es antipirético, depurativo y diurético (Castillo y Martínez, 2007).

5) *Guayabo*

Especie: *Psidium guajava L.*

Nombre común: Guayaba. Cat: Guiaba. Gal: Guaiaba.

Composición química: Flavonoides: quercetina, guyaverina. Taninos hidrolizables.

Aceite esencial: Cariofileno, óxido de cariofileno, beta-bisaboleno, aromadendreno, beta-selineno, alfafineno, 1.8-cineol, selin-11-en-4-alfa-ol, Triterpenoides, Ácido oleánico, Ácido ursólico, Ácido crataególico, Ácido guyavólico, Beta-sitosterol (Río y col. 2006).

Acción Farmacológica: Se ha descrito que tiene actividad antioxidante, hepatoprotectivas, antialérgicas, antimicrobianas, antigenotóxicas, antiplasmódicas, cardioactivas, antitusivas, antidiabéticas y antiinflamatorias (Ross, 2003 y Waizel, 2006).

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo General

Evaluar los efectos de un Extracto Herbolario (Nadian plus) utilizado en el tratamiento de Diabetes Mellitus en un modelo experimental Tipo 1 con Estreptozotocina en ratas wistar para valorar sus posibles efectos hipoglucemiantes.

III.1.1. Objetivos Específicos

- Generar una Diabetes Mellitus Tipo 1 en ratas wistar macho a través de una dosis única de 60 mg/Kg de Estreptozotocina y comprobar la hiperglucemia a las 48 h de la administración.
- Evaluar el efecto de un Extracto Herbolario y una dieta con suplemento de Ácidos grasos Omega 3 midiendo parámetros bioquímicos (glucosa, colesterol, triacilglicéridos y bilirrubinas), enzimáticos (transaminasas), fisiológico (peso), nutricionales (consumo de agua y alimento) en individuos sanos e individuos diabéticos.
- Comparar el efecto de un Extracto Herbolario en individuos diabéticos con tratamiento de Insulina de Acción Intermedia versus Insulina de Acción Rápida mediante la determinación de parámetros bioquímicos, enzimáticos, fisiológico, nutricionales y análisis histopatológico.
- Valorar el posible daño de la administración con el Extracto Herbolario y la dieta con el suplemento de Ácidos grasos Omega 3 a través del análisis histológico de los órganos hígado, riñón y páncreas en individuos sanos y diabéticos.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

IV. 1. Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron grado analítico. La STZ de Sigma Aldrich, el alcohol etílico y el alcohol absoluto fueron adquiridos de J.T. Baker. Los Kits enzimáticos para las pruebas bioquímicas (TGO, TGP y Bilirrubinas Directa y Total) fueron de Wiener Lab. Se empleó insulina de acción intermedia e insulina de acción rápida Humulin de los Laboratorios Eli Lilly. El Formaldehído y el paraformaldehído fueron adquiridos de J.T. Baker. La Hematoxilina de Harris y Eosina amarillenta fueron de Laboratorios Santa Cruz, la parafina para inclusión fue de la marca Merck. Finalmente se utilizó Pentobarbital sódico Anestesal de los Laboratorios Pfizer.

La solución en gotas del EH fue donado por los Laboratorios Nadian plus. Las cápsulas de AG ω -3 de aceite de salmón (540 mg de ácido eicosapentaenoico y 360 mg de ácido docosahexaenoico/ cápsula) fueron obtenidas de la Casa comercial General Nutrition Center (GNC).

IV.2. Inducción de Diabetes

Para la inducción de un modelo experimental de DM1 se administró una única dosis por inyección intraperitoneal de STZ (60 mg/kg de peso corporal) en 150 μ l de amortiguador de citratos (pH 4.5).

IV.2.1. Modelo Experimental

Se emplearon ratas wistar macho de 10 semanas de edad y se distribuyeron en 10 lotes de 5 animales cada uno a través del método de Distribución Japonesa (Cruz y col., 2009). Se mantuvieron en cajas de acrílico, bajo condiciones de temperatura de 22°C, 12 h luz y 12 h oscuridad en el bioterio de FES-Cuautitlán. Se realizó un seguimiento de peso semanal a todos los lotes en balanza granataria de la marca Ohaus. Se les proporcionó una dieta comercial de nutricubos cuyo contenido fue de 18% proteína, 5% grasa y 5% fibra, a todos los lotes se les dio agua y alimento *ad libitum*.

Tabla 6. Procedimiento de los Tratamientos

Lote	STZ (60mg/Kg de peso corporal) Vía intraperitoneal	Buffer Citratos (pH 4.5) Vía intraperitoneal	Suplemento alimenticio AG- ω 3 Vía oral	EH (12 gotas/70Kg de peso corporal) Vía intraperitoneal	Insulina (0.1-0.4 UI/Kg) Vía subcutánea	Alimento y Agua
C	-----	150 μ L única dosis.	-----	-----	-----	<i>Ad libitum</i>
C/AG- ω 3	-----	150 μ L única dosis.	1 dosis semanal de ácido eicosapentaenoico (EPA) 360 mg/Kg de peso corporal y ácido docosahexaenoico (DHA) 240 mg/kg de peso.	-----	-----	<i>Ad libitum</i>
C/EH	-----	150 μ L única dosis.	-----	1 dosis diaria disuelta en 10 mL de agua.	-----	<i>Ad libitum</i>
STZ	Disuelta en buffer de citratos (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	-----	-----	<i>Ad libitum</i>
STZ/ AG- ω 3	Disuelta en buffer de citratos (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	1 dosis semanal de ácido eicosapentaenoico (EPA) 360 mg/Kg de peso corporal y ácido docosahexaenoico (DHA) 240 mg/kg de peso.	-----	-----	<i>Ad libitum</i>
STZ/EH	Disuelta en buffer de citratos (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	1 dosis diaria disuelta en 10 mL de agua. 2 H después de la administración con Insulina.	-----	<i>Ad libitum</i>
STZ/I.I	Disuelta en buffer de citratos (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	-----	1 dosis diaria de insulina acción intermedia.	<i>Ad libitum</i>
STZ/EH/I.I	Disuelta en buffer de citratos (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	1 dosis diaria disuelta en 10 mL de agua. 2 H después de la administración con Insulina.	1 dosis diaria de insulina acción intermedia.	<i>Ad libitum</i>
STZ/I.R	Disuelta en buffer de citrato (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	-----	1 dosis diaria de insulina acción rápida.	<i>Ad libitum</i>
STZ/EH/I.R	Disuelta en buffer de citrato (pH 4.5) única dosis.	150 μ L única dosis.	-----	1 dosis diaria disuelta en 10 mL de agua. 2 H después de la administración con Insulina	1 dosis diaria de insulina acción rápida.	<i>Ad libitum</i>

Lotes: C (Control), C/AG ω -3 (Control/Ácidos Grasos Omega 3), C/EH (Control/Extracto Herbolario), STZ (Estreptozotocina), STZ/AG ω -3 (Estreptozotocina/Ácidos Grasos Omega 3), STZ/EH (Estreptozotocina/Extracto Herbolario), STZ/I.I (Estreptozotocina/Insulina Intermedia), STZ/EH/I.I (Estreptozotocina/Extracto Herbolario/Insulina Intermedia, STZ/I.R (Estreptozotocina/Insulina Rápida) y STZ/EH/I.R (Estreptozotocina/Extracto Herbolario/Insulina Rápida).

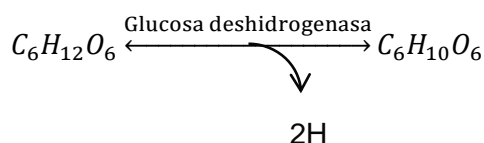
IV. 3. Determinaciones Bioquímicas

IV. 3.1. Determinación de glucosa, colesterol y triacilglicéridos en sangre

A cada rata se le determinó glucosa, colesterol y triacilglicéridos por punción en cola, utilizando tiras reactivas. Para la determinación de glucosa se empleó glucómetro AccuChek de los Laboratorios Roche y se monitoreó diario; se utilizó equipo AccuTrend para la valoración de colesterol y triacilglicéridos de los Laboratorios Roche. Con la finalidad de determinar los valores normales en cada uno de los parámetros; posteriormente se hicieron valoraciones 1 vez por semana de cada uno de ellos.

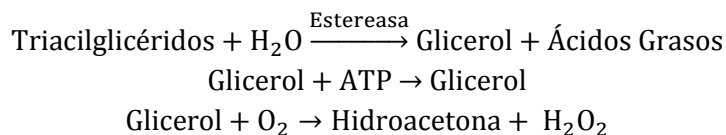
1) Principio del Test para glucosa

Amperometría: En presencia de la coenzima (PQQ), la enzima glucosa deshidrogenasa de la tira reactiva convierte la glucosa en la muestra de sangre en gluconolactona. Esta reacción crea una corriente que el medidor interpreta para la glucemia.



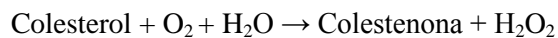
2) Principio del Test para triacilglicéridos

Los triacilglicéridos son escindidos inicialmente por una estereasa a glicerol y ácidos grasos libres. Mediante otros dos pasos enzimáticos, el glicerol se convierte en fosfato de hidroacetona y peróxido de hidrógeno. En presencia de peroxidasa, el peróxido de hidrógeno provoca la oxidación de un indicador a un colorante, y su concentración se determina mediante fotometría de reflectancia.



3) Principio del Test para colesterol

Desdoblamiento enzimático de los ésteres de colesterol en AG y colesterol; oxidación de colesterol a colesteno con formación simultánea de peróxido de hidrógeno que provoca la oxidación de un indicador a su radical catiónico azul.



IV.4. Obtención de Suero

Se anestesiaron las ratas con Pentobarbital sódico (40 mg/Kg de peso) y se les realizó punción cardiaca obteniendo aproximadamente 5 mL de sangre. Posteriormente se centrifugó la sangre a 1500 rpm por 15 minutos (Cruz y col., 2009) para obtener suero y finalmente se realizaron determinaciones de enzimas hepáticas (TGO, TGP, BD y BI).

IV.4.1. Determinación de TGO y TGP en Suero

En 2 tubos de fotocolorimetría marcados B (blanco) y D (desconocido), se colocó lo que se muestra en la tabla 7.

Tabla 7. Procedimiento para la Determinación de TGO y TGP en suero

Sustrato (TGP o TGO)	B	D
Colocar en baño de Agua a 37° C +/- 0,5 °C unos minutos		
Suero	250 µl	250 µl
Agua destilada	50 µl	
Mezclar por agitación suave exactamente 30 minutos y agregar		
Reactivo 2,4- DNFH (dinitrofenilhidrazina)	250 µl	250 µl
Mezclar. Dejar 10 minutos a 37°C. Luego agregar		
Diluyente para enzimas	2.5 mL	2.5 mL

(Tomada de la Metodología de Wiener Lab., 2002).

Se mezcló cada tubo por inversión y se retiraron del baño. Después de 2 minutos se leyó absorbancia en fotocolorímetro con filtro verde (500-550nm); en espectrofotómetro a 505 nm, se llevó el aparato a cero D.O. (densidad óptica) con agua destilada; y se midieron las absorbancias de cada suero de todos los lotes en una celda de cuarzo de 1x1 cm (Metodología de Wiener Lab., 2002).

1) *Fundamento del Método de TGO y TGP*

La TGO cataliza la siguiente reacción:



La TGP cataliza la siguiente reacción:



El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm (Metodología de Wiener Lab., 2002).

IV. 4.1.2. Determinación de Bilirrubinas Directa y Total en Suero

En 3 tubos de ensayo marcados como Blanco (B), BD y BT y se agregó en los tubos como se muestra en la tabla 8:

Tabla 8. Procedimiento para la Determinación de BD y BT en suero

	B	BD	BT
Muestra (Suero)	100 µl	100 µl	100 µl
Agua Destilada	1.25 mL	1.25 mL	-----
Desarrollador	-----	-----	1.25 mL
Reactivo Sulfanílico	100 µl	-----	-----
Diazorreactivo	-----	100 µl	100 µl

(Tomada de la Metodología de Wiener Lab., 2002).

Se mezcló cada tubo inmediatamente y se leyeron a los 5 min en el espectrofotómetro a 530 nm, se llevó el aparato en cero con agua destilada. Las lecturas se hicieron entre 4-15 min, excepto BD que se leyó exactamente a los 5 min y se midieron las absorbancias de cada suero de todos los lotes en una celda de cuarzo de 1x1 cm (Metodología de Wiener Lab., 2002).

2) *Fundamento del Método de BD y BT*

La bilirrubina reacciona específicamente con el ácido sulfanilicodiazotado produciendo un pigmento color rojo-violáceo (azobilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm. Si bien la bilirrubina conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la bilirrubina no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso que posibilite su reacción. Para que reaccione la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción (Metodología Wiener Lab., 2002).

IV. 5. Obtención de Órganos

Para extraer los órganos (hígado, páncreas y riñones), se sacrificó cada rata por medio de sobredosis de pentobarbital sódico (40 mg/kg). Colocándolo en una posición decúbito dorsal, se extendieron las extremidades en una base metálica mediante cinta adhesiva. Se tomó en cuenta la ubicación anatómica de los órganos, se diseccionó un corte por la técnica de Y invertida exponiendo la zona ventral, se extrajeron los órganos hígado, páncreas y riñones (Cruz y col., 2009).

IV.6. Histología

IV.6.1. Fijación e Inclusión de Órganos

Se extrajeron los órganos (hígado, páncreas y riñones), se lavaron con solución salina 0.15 M y se colocaron en paraformaldehído al 4% en PBS durante al menos 72 h. Al término del tiempo, los órganos se colocaron en agua de grifo por 30 min para retirar el fijador. Después se pasaron por distintas concentraciones de alcohol durante 30 min en orden creciente como se muestra en la tabla 9.

Tabla 9. Deshidratación de los Tejidos

Etanol (%)	Tiempo (min)
40	30
50	30
60	30
70	60
80	60
90	60
96	60
100	60

Procedimiento de la deshidratación de los tejidos a diferentes concentraciones de Etanol y Tiempo.

Una vez deshidratados los órganos, se aclararon con xilol-etanol (1:1) por 30 min, posteriormente en una solución de xilol (100%) durante 15 min. El órgano se infiltró durante 24 h en parafina (57-60°C). Finalmente los órganos fueron incluidos en un bloque de parafina, previamente identificados para su corte.

IV.6.2. Montaje de los Cortes

Los bloques de parafina fueron cortados en micrótopo (aprox. 3-5 micras) y se colocaron sobre portaobjetos previamente gelatinizados, se añadieron gotas de Ruyter hasta dejar extendido el corte. Las laminillas se mantuvieron en una estufa a 40°C para aumentar la adhesión del corte sobre el portaobjetos, hasta que se secaron.

IV.6.3. Tinción Hematoxilina-Eosina

Una vez secas las muestras, se realizó tinción a las laminillas de Hematoxilina-Eosina como se muestra en la tabla 10.

Tabla 10. Metodología de Tinción Hematoxilina-Eosina

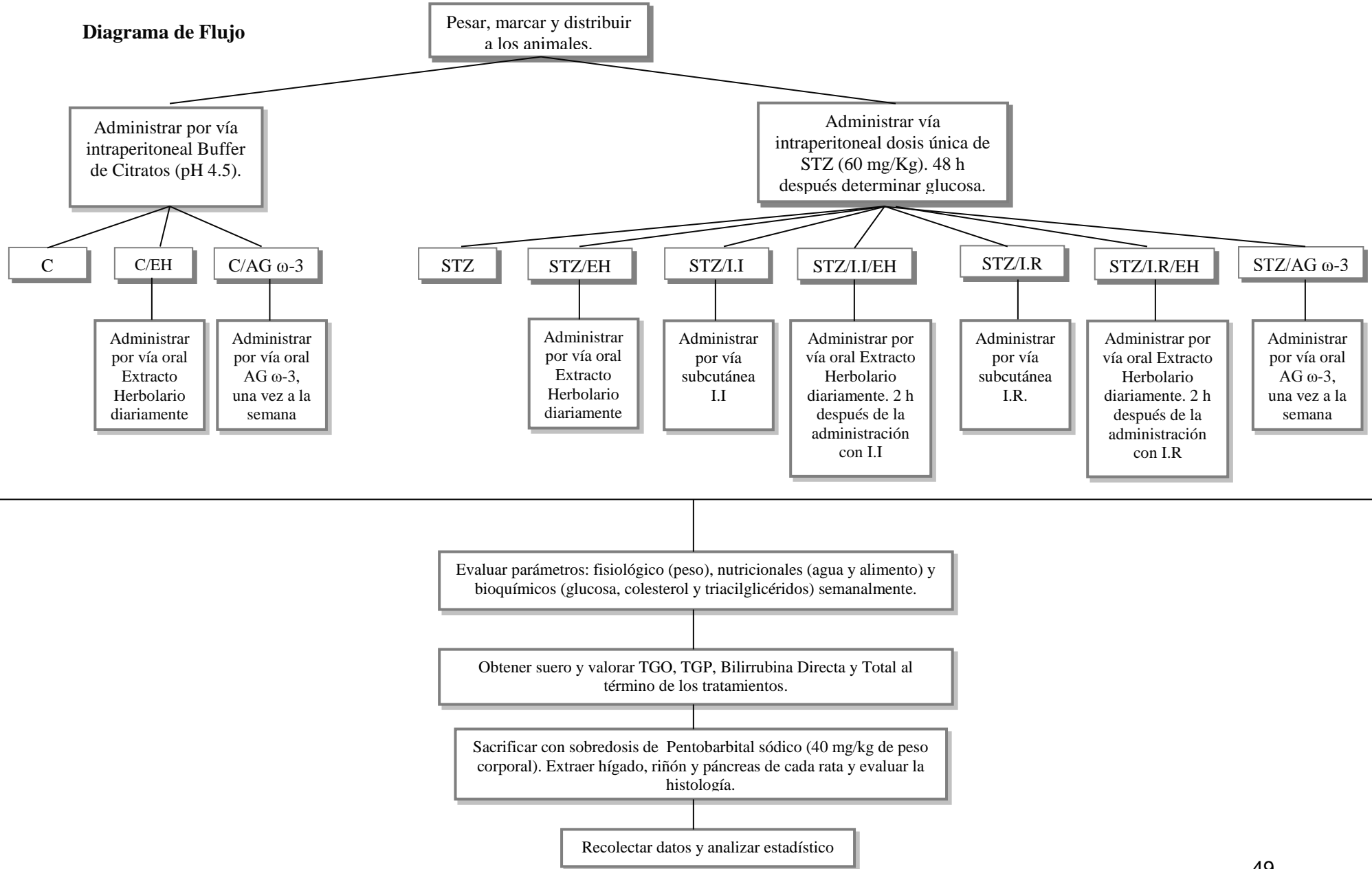
Reactivo	Tiempo (min)
Xilol I	5
Xilol II	5
Alcohol-Xilol	3
OH 100%	3
OH 90%	2
OH 80%	2
OH 70%	1
Agua corriente	3
Hematoxilina de Harris	6
Agua Corriente (Lavado)	
Alcohol ácido	15 segundos
Agua Corriente	1
Eosina	4
Agua Corriente (Lavado)	
OH 70%	1
OH 90%	1
OH 100%	2
OH 100%	3
Xilol I	5
Xilol II	5

Metodología Hematoxilina-Eosina de los cortes histológicos (Luna, 1958).

IV.7. Análisis Estadístico

Los resultados fueron analizados mediante ANOVA simple (n=5), seguido de una prueba de Fisher con una $p < 0.05$.

Diagrama de Flujo



V. RESULTADOS

V.I. Efecto de un EH con posibles propiedades terapéuticas para el control de la Diabetes Mellitus sobre parámetros: fisiológico (peso), nutricionales (consumo de agua y alimento), bioquímicos, enzimáticos y análisis histopatológico.

Lotes: C, C/EH, STZ y STZ/EH

La DM1 es una enfermedad crónico-degenerativa caracterizada por una hiperglicemia, con problemas a nivel metabólico de los carbohidratos, las grasas y las proteínas. Es el resultado de una secreción insuficiente de insulina, una reactividad anormal de las células diana o de ambas (Garner y Shoback, 2008; Silverthorn, 2008; Vinay y col., 2008). Presenta manifestaciones clínicas tardíamente en ausencia de insulina, generalmente de forma aguda o subaguda cuando se han destruido la mayoría de las células β (Rubio y col., 2012). Suele presentar algunos síntomas como poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso, entre otras manifestaciones clínicas (Griffin, 2012).

A) Parámetros: Fisiológico (peso) y Nutricionales (consumo de agua y alimento)

En la Figura 12A se muestra los posibles efectos del EH durante el seguimiento del peso corporal de ratas diabéticas (inducidas con STZ) y ratas normales (tratadas con y sin EH). Durante el tratamiento se observa un peso corporal bajo y un aumento en el consumo de alimento y agua, como se muestra en las Figuras 12C y 12D. Esta sintomatología es típica de una diabetes.

La administración de STZ ocasiona la destrucción de células β y aumentan las concentraciones de glucosa en sangre (hiperglucemia), debido a la ausencia de insulina. En la Figura 12C se muestra las diferencias significativas en el consumo de alimento que existen entre las ratas diabéticas (STZ) contra ratas normales (EH), ésta diferencias puede deberse a la inducción con STZ. La insulina envía señales al hipotálamo para que éste regule la conducta alimentaria sin embargo en ausencia de insulina, las neuronas son incapaces de captar la glucosa plasmática y aumenta la ingesta excesiva de alimento (polifagia) (Silverthorn, 2008; Palma e Iriarte, 2012).

En el consumo de agua (Fig. 12D) se observa una diferencia significativa de ratas diabéticas (STZ 69.7 mL) contra el consumo de ratas normales (26 mL). En condiciones normales, para mantener la homeostasis hidroelectrolítica, el organismo cuenta con mecanismos como el de la sed, la cual se activa por la disminución de los volúmenes intracelular y/o extracelular (Grimaldi, 2012). En la hiperglucemia, aumenta la sed (polidipsia), debido a que las altas concentraciones de glucosa exceden el umbral renal, saturando la reabsorción de glucosa, es decir que la glucosa filtrada, no se reabsorbe y es excretada en orina (poliuria) (Silverthorn, 2008).

Por otra parte, los parámetros fisiológicos y nutricionales en los lotes administrados con el EH (Figura 12) no se observa una diferencia significativa contra los lotes control (C) y STZ (Sin EH). Lo que indica que el EH no ejerce un efecto en individuos sanos e individuos diabéticos.

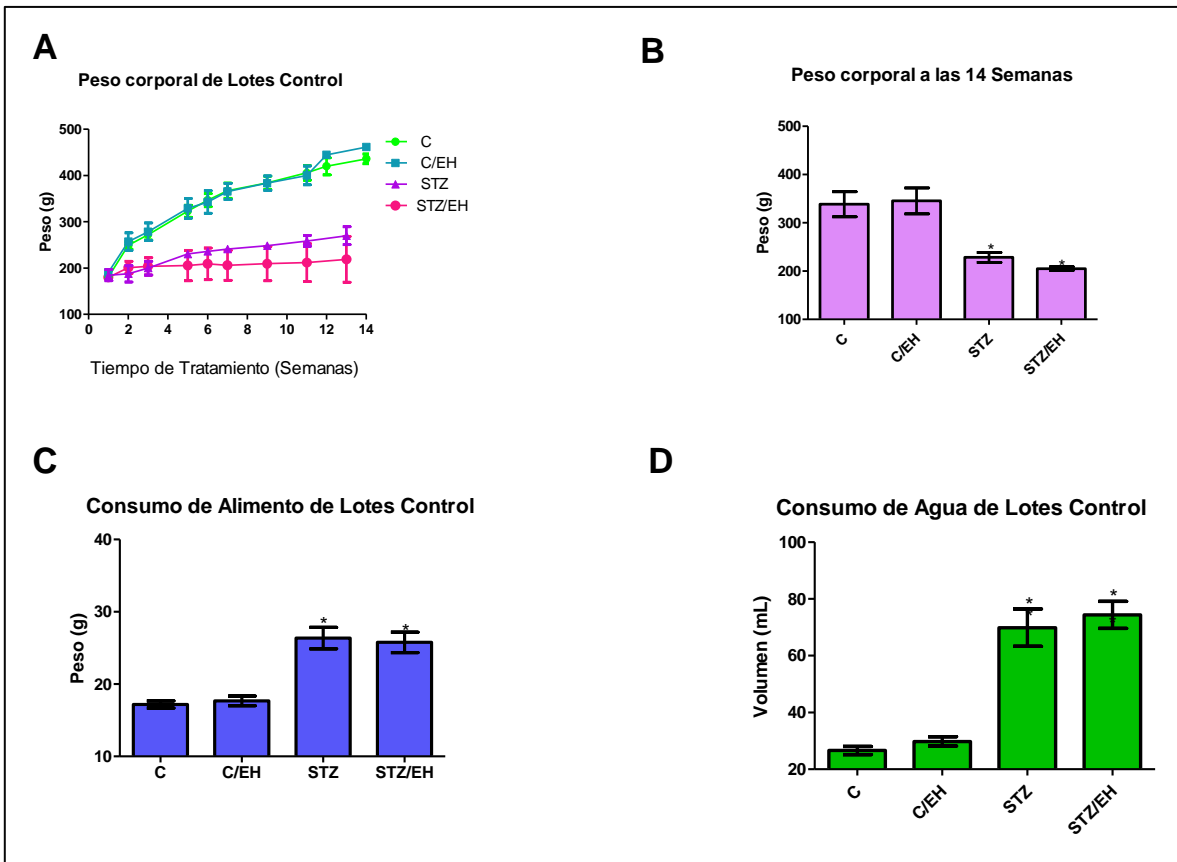


Figura 12. Efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento. A) Seguimiento del peso corporal de ratas diabéticas (inducidas con STZ) y normales (tratadas con EH). B) Peso corporal de ratas diabéticas (inducidas con STZ) y normales (tratadas con EH) al final de los tratamientos ($P>0.05$). C) Peso del consumo de alimento en ratas diabéticas (inducidas con STZ) y normales (tratadas con EH) al final de los tratamientos ($P>0.05$). D) Volumen del consumo de agua en ratas diabéticas (inducidas con STZ) y normales (tratadas con EH) al final de los tratamientos ($P>0.05$).

B) Glucosa

En la Fig. 13 se muestran las concentraciones de glucosa. Los lotes control mantuvieron una concentración de 70-100mg/dL. La concentración de glucosa (Figura 13B) en el lote C/EH no presenta diferencia significativa con respecto al lote control (C) al finalizar el tratamiento. Esta tendencia nos sugiere que el EH por sí solo no presenta algún efecto hipoglucemiante en individuos sanos.

Por otro lado; los lotes STZ y STZ/EH presentaron una glucosa basal de 89 y 104 mg/dL (Fig. 13A) respectivamente. Se puede observar que después de la inducción con STZ los niveles de glicemia van aumentando (por arriba de los 400 mg/dL).

En la Fig. 13B se observa que hay una diferencia significativa de los lotes STZ y STZ/EH con respecto a sus controles (C y C/EH). Esta tendencia que presenta el lote STZ se explica ya que

la STZ causa destrucción irreversible de las células β de los islotes del páncreas, causando degranulación o reducción de la secreción de insulina y con ello la hiperglucemia (Bell y col., 2001). El lote STZ/EH mantiene concentraciones por arriba de los 400 mg/dL, lo que indica que el EH no ejerce una disminución de la concentración de glucosa en individuos con DM1.

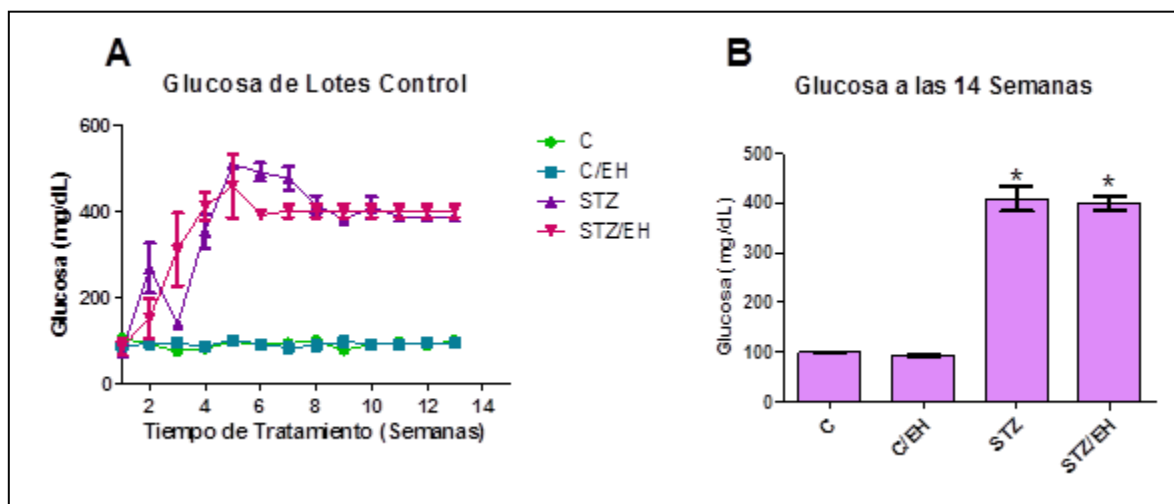


Figura 13. Efecto del EH e un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de glucosa en sangre. **A)** Seguimiento de los niveles de glucosa durante las 14 semanas de tratamiento ($p < 0.05$). **B)** Concentración de glucosa de ratas normales (C y C/EH) comparados con ratas diabéticas (Inducidas con STZ) de los lotes STZ y STZ/EH.

C) Colesterol

En la Fig. 14 se observan las concentraciones de colesterol en sangre. En la Fig. 14A se muestra el seguimiento de los lotes control, donde la tendencia es similar durante las semanas de tratamiento. Los lotes C y C/EH no presentan diferencia significativa (Fig. 14B), por lo que la administración del EH no disminuye la concentración de colesterol en individuos sanos.

En la Fig. 14A los lotes STZ y STZ/EH presentaron valores basales de 150 y 157 mg/dL de colesterol respectivamente; después de la inducción con STZ las concentraciones de colesterol aumentaron, éstos resultados nos sugieren que la STZ aumenta los niveles de colesterol cuando se presenta un modelo de diabetes aumenta la lipólisis.

Por otro lado, durante el seguimiento del lote STZ/EH se observa una diferencia significativa en la concentración de colesterol, éstas concentraciones disminuyeron al administrar el EH; estadísticamente el lote STZ/EH es similar a los lotes control, lo que indica que al administrar el EH disminuyen las concentraciones de colesterol en individuos diabéticos.

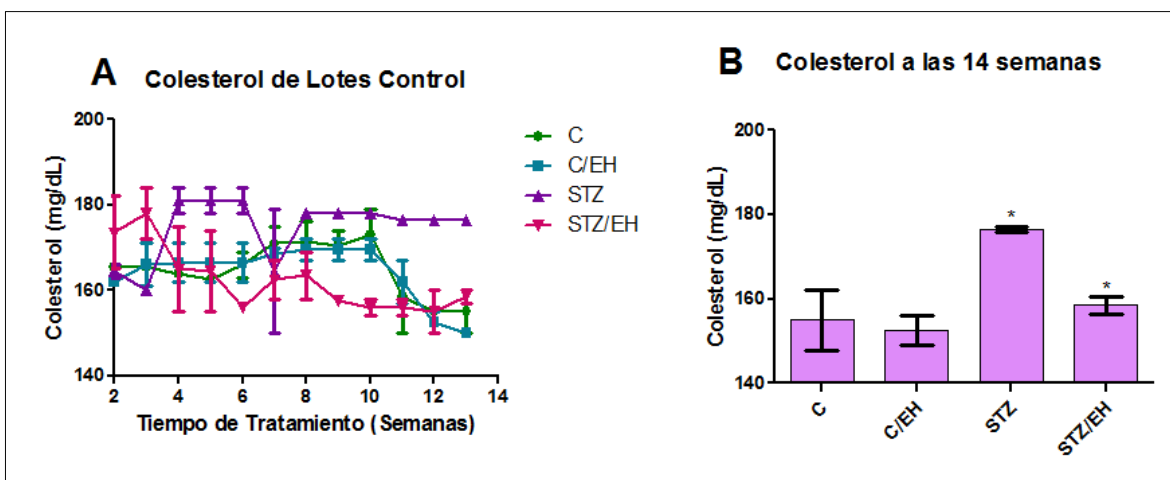


Figura 14. Efecto del EH sobre la concentración de colesterol en sangre. A) Seguimiento de los niveles de colesterol durante las 14 semanas de tratamiento ($P < 0.05$). B) Concentraciones de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH comparados con sus respectivos controles (C y C/EH).

D) Triacilglicéridos

En la Fig. 15 se observa que en el lote STZ se incrementa la concentración de triacilglicéridos en suero. En la Figura 15B se observa que en el lote STZ se elevan los triacilglicéridos hasta concentraciones de 241 mg/dL con respecto al lote C (138.5 mg/dL) presentando diferencias estadísticamente significativas. Por otra parte, el lote C/EH no presenta diferencia significativa con respecto al lote C, aún cuando el lote C/EH presenta una concentración de triacilglicéridos relativamente menor (134.5 mg/dL) a los niveles del lote C, por lo que el EH ejerce un efecto sobre la disminución de la concentración de triacilglicéridos en individuos sanos.

El lote STZ/EH sugiere que hay un efecto sobre la concentración de triglicéridos en individuos diabéticos; presentando diferencias significativas, los niveles de triacilglicéridos en este grupo fueron de 147.5 mg/dL, el EH mantiene las concentraciones de triacilglicéridos, aunque a partir de la semana 10 se observa una disminución de triacilglicéridos en individuos diabéticos, con una tendencia similar a los lotes control, lo que sugiere que el EH ejerce un efecto sobre la concentración de triacilglicéridos.

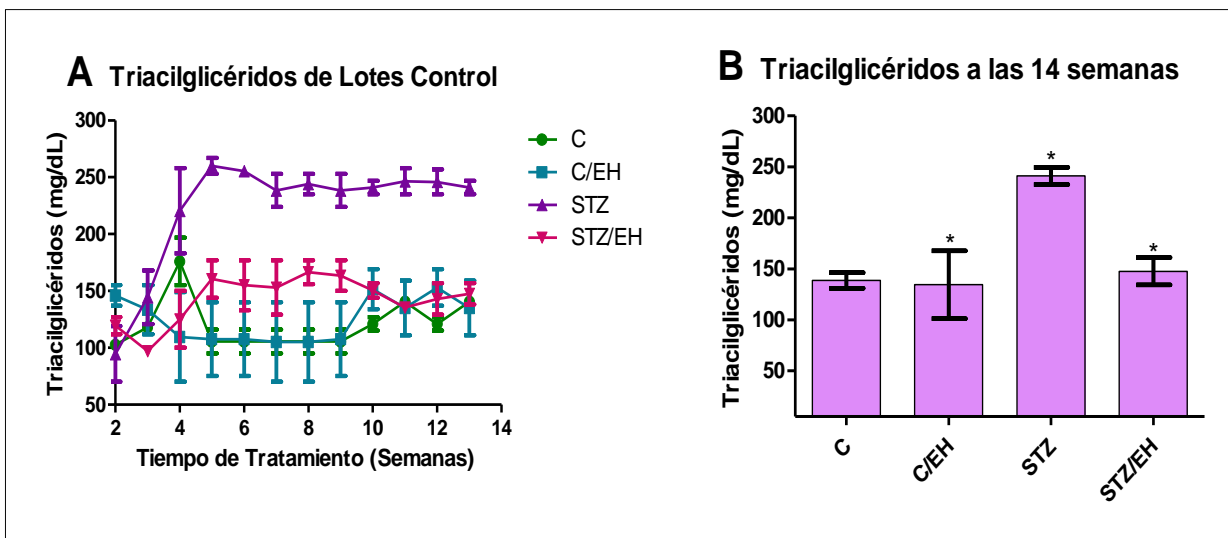


Figura 15. Efecto del EH sobre la concentración de Triacilglicéridos en sangre. A) Seguimiento de los niveles de triacilglicéridos durante las 14 semanas de tratamiento ($P < 0.05$) B) Concentración de triacilglicéridos de los lotes STZ, STZ/EH comparados con sus respectivos controles (C y C/EH).

E) Transaminasas (TGO y TGP)

Las transaminasas son enzimas intracelulares que se encuentra en niveles altos en el corazón, las células del hígado, las células del músculo esquelético y en menores cantidades en otros tejidos (Spinreact, 2004).

Las transaminasas trabajan en conjunción aunque no son específicas de enfermedad hepática, se emplean para el diagnóstico y seguimiento.

Al término del tratamiento, se realizó punción cardíaca a todos los lotes para la obtención de suero y se determinó la concentración de TGO y TGP con la finalidad de descartar un posible daño hepático provocado directamente con la administración de EH durante la experimentación.

La Figura 16 muestra las concentraciones de TGO y TGP al final del tratamiento de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH. El lote C/EH presenta una ligera variación en la concentración de TGO comparado con el lote C sin embargo, esta diferencia no indica una posible alteración en las enzimas cardíacas o del músculo esquelético.

Las enzimas TGO y TGP trabajan en conjunto, cuando ésta última se encuentra alta nos indica un posible daño hepático. En la tabla 11 se observa una concentración de 16 UI/L del lote C/EH lo que sugiere que la administración del EH aparentemente no genera un posible daño hepático en individuos sanos, ya que las concentraciones normales de TGP oscilan entre 17-50 UI/L ((Cruz y col., 2009).

Por otra parte, las ratas diabéticas (STZ y STZ/EH) presentan concentraciones elevadas de TGP. La elevación de TGP puede ser posiblemente por una inflamación del hígado. En el caso del

lote STZ/EH se observa una concentración de TGP mayor (101 UI/L) comparada contra la concentración del lote STZ (85 UI/L), lo que indica que el EH no ejerce un efecto favorecedor sobre las concentraciones de las enzimas (TGO y TGP).

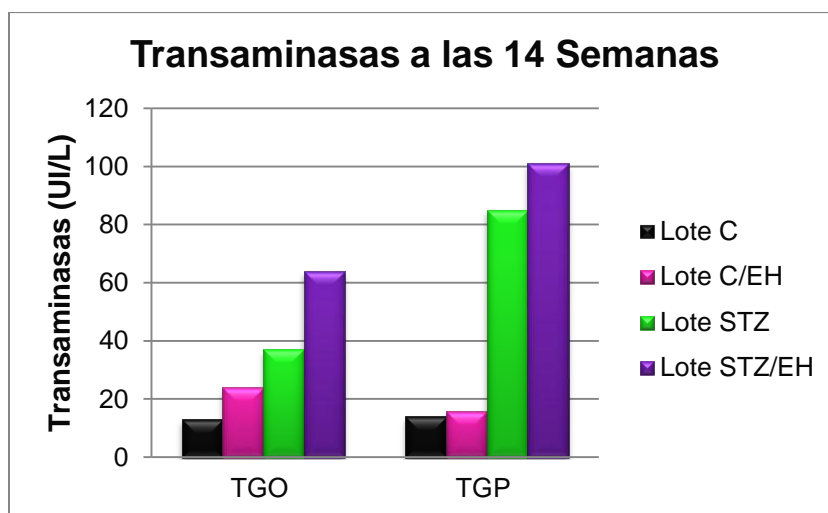


Figura 16. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH al final del tratamiento.

Tabla 11. Concentración de Transaminasas (TGO y TGP) de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH

Lote	TGO	TGP
	UI/L	
C	13	14
C/EH	24	16
STZ	37	85
STZ/EH	64	101

F) Bilirrubinas (BD y BT)

Las alteraciones en la producción de la bilirrubina, en la captación o la conjugación provocan elevaciones de los niveles séricos de bilirrubina no conjugada (BI); mientras que las alteraciones en la excreción biliar cursan con elevaciones de la bilirrubina conjugada (BD) y permiten que la bilirrubina pueda pasar a la orina (urobilinógeno).

Las hiperbilirrubinemias son trastornos que pueden cursar con un síndrome icterico. La elevación de la bilirrubina depende de la BI o BD (Spinreact, 2004).

La Figura 17 muestra las concentraciones de Bilirrubinas en sangre y se observa que las concentraciones son menores de los lotes control (C y C/EH) comparadas contra las concentraciones de los lotes diabéticos (STZ y STZ/EH). Las concentraciones de Bilirrubina Total se elevan cuando hay un aumento de la hemólisis, alteraciones genéticas, anemia neonatal, alteraciones eritropoyéticas o presencia de drogas. La Bilirrubina Directa aumenta cuando se presenta colestasis hepática, alteraciones genéticas y alteraciones hepáticas.

En condiciones normales la BD se encuentra menor al 20% de la concentración total (BT). El lote C/EH (Figura 17) presenta una concentración menor de BD con respecto a la BT, lo que indica que aparentemente el EH no ejerce un efecto sobre las concentraciones de Bilirrubinas.

Por el contrario, las ratas diabéticas (inducidas con STZ) presentan una concentración de BT mayor con respecto a los lotes control (C y C/EH) lo que probablemente estos lotes presentan un trastorno icterico intra hepático o post hepática.

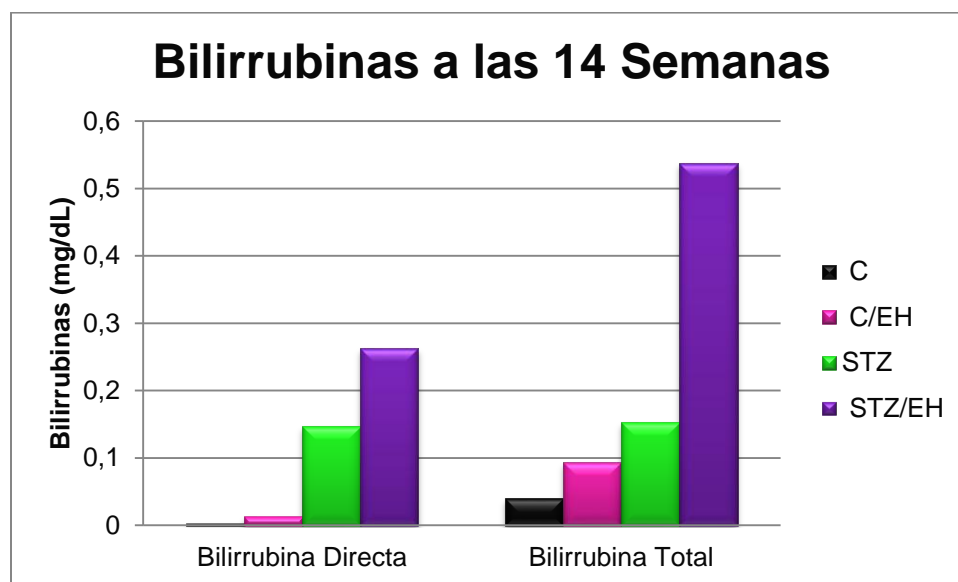


Figura 17. Concentración de Bilirrubinas Directa y Total de los C, C/EH, STZ y STZ/EH al final del tratamiento.

Tabla 12. Concentración de BD y BT de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH

Lote	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Total
C	0,003	0,04
C/EH	0,01	0,09
STZ	0,14	0,15
STZ/EH	0,26	0,53

G) Histología

La DM es una deficiencia en la secreción o acción de la insulina. Los pacientes diabéticos también presentan estrés oxidativo, lo que conduce a la peroxidación lipídica y daño en los tejidos. La Hiperglucemia genera especies reactivas del oxígeno (ROS) y el daño de la membrana. (Cuchillo y col., 2005, Elberry y col., 2011).

En la Figura 18 se muestra que los lotes control (C y C/EH) no presentan cambios patológicos aparentes en el páncreas, hígado y riñón.

Los lotes con STZ muestran una degeneración albuminosa leve en hígado y riñón. En el páncreas se observa atrofia y necrosis leve. Estos datos nos muestran que la administración del EH aparentemente no ejerce un efecto sobre la morfología celular y el daño que se observa en la Figura 18 del lote STZ/EH puede ser por la administración de STZ, ya que es un compuesto citotóxico que alquila al DNA, provocando la destrucción de las células.

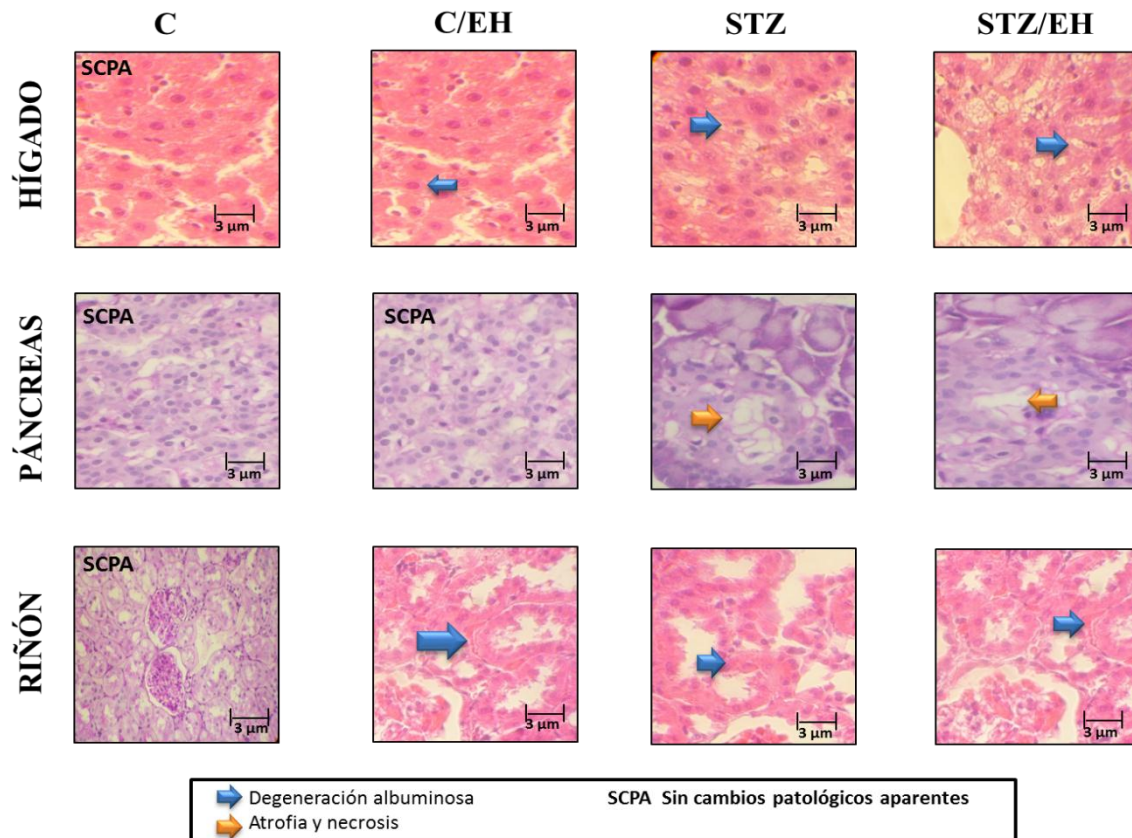


Figura 18. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH. Se observan los efectos del EH sobre los lotes control y lotes inducidos con STZ.

V.2. Efectos de la acción de la Insulina Intermedia (I.I) en un modelo experimental de ratas wistar con DM1 comparada con los efectos del EH sobre parámetros: fisiológico (peso), nutricionales (consumo de agua y alimento), bioquímicos, enzimáticos y análisis histopatológico.

Lotes: STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH

En DM1 por definición requiere terapia de insulina exógena. La insulina administrada ya sea por la vía subcutánea o intravenosa, produce hiperinsulinemia periférica y necesita mantener normalizada la glucosa en sangre (Bennik y col., 2005).

La I.I es una suspensión cristalina de insulina humana con protamina y zinc que proporciona una insulina de acción intermedia con un inicio de acción más lento y una duración de actividad más prolongada (menos de 24 h) que el de la insulina rápida (PLM, 2009).

El principal sitio de acción de la insulina es el músculo esquelético, mientras que el hígado es el principal sitio de almacenamiento de la glucosa en forma de glucógeno. Con las terapias de la diabetes moderna, es posible alcanzar rápidamente y mantenerla normoglucemia en la DM1 y la DM2 (Kourtoglou, 2011).

A) Parámetros: Fisiológico (peso) y Nutricionales (consumo de agua y alimento)

La administración de insulina puede mejorar la calidad de vida de individuos diabéticos, debido a que muchos órganos son dependientes de la insulina. La insulina puede minimizar algunas alteraciones metabólicas, acompañada de una adecuada dieta y ejercicio.

Se observa en la Figura 19 los parámetros fisiológicos y nutricionales de los lotes administrados con I.I (STZ/I.I) comparados con los lotes tratados con el EH (STZ/I.I/EH). Las ratas diabéticas (STZ) presentaron una tendencia similar en el peso corporal (Fig. 19A) con respecto a las ratas con I.I (STZ/I.I), sin embargo, al final de los tratamientos (Fig. 19B) se observa una diferencia significativa en el aumento del peso corporal (STZ 228.5 g y STZ/I.I 258.3 g).

En el caso de los lotes tratados con EH no se observa un cambio significativo del peso corporal del lote STZ/EH (205,1g) contra el peso del lote STZ/I.I/EH (207.5 g), lo que indica que el EH aparentemente no ejerce un efecto sobre el peso corporal de ratas diabéticas.

El consumo de alimento de las ratas diabéticas (STZ 25.4 g y STZ/EH 24.7 g) contra ratas con tratamiento I.I (STZ/I.I 25.9 g y STZ/I.I/EH 24.4 g) no presenta una diferencia significativa como se muestra en la Figura 19C. Por lo que, los efectos de la I.I no son significativos sobre la ingesta de alimento.

En la Figura 19D se observa que el consumo de agua de los lotes tratados con I.I (STZ/I.I y STZ/I.I/EH) presenta una diferencia significativa con los lotes diabéticos (STZ y STZ/EH). Esta diferencia puede ser debido que al modular las concentraciones plasmáticas de glucosa mediante la administración de insulina, se envía la señal al hipotálamo y se libere la ADH, en presencia de esta

la permeabilidad se incrementa considerablemente, el agua es reabsorbida libre de solutos. El hipotálamo es la región cerebral clave en el control de la alimentación.

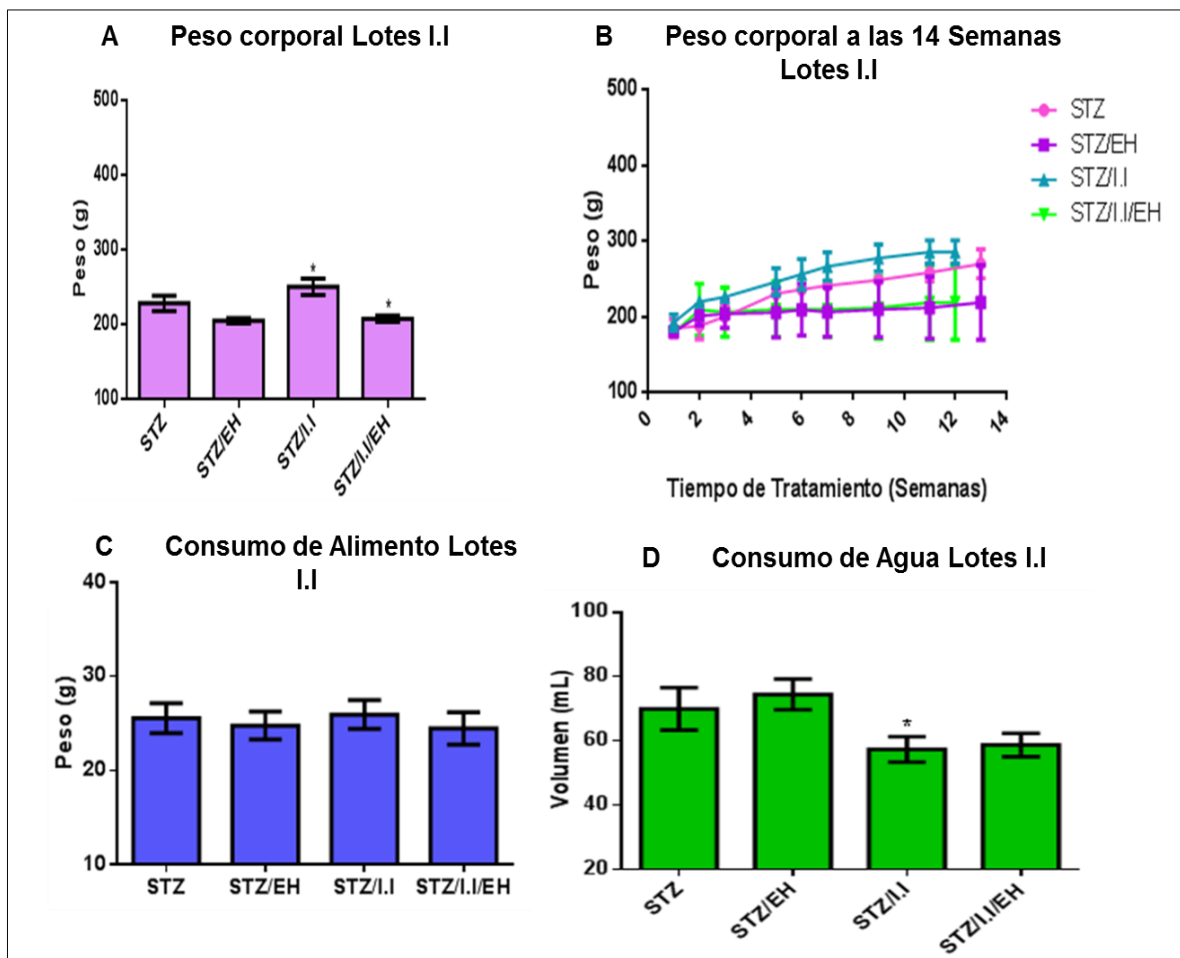


Figura 19. Efecto de la I.I comparada con el efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento. A) Seguimiento del peso corporal durante el tratamiento. B) Peso corporal al final del tratamiento. C) Peso del consumo de alimento en al final de los tratamientos. D) Volumen del consumo de agua al final de los tratamientos.

B) Glucosa

En la Fig. 20A se observa que los niveles de glucosa en sangre de los lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH comparados con sus respectivos controles (STZ y STZ/EH) presentan una tendencia similar sin embargo, se observa que al final del tratamiento (Fig. 20B) los lotes tratados con I.I presentan una diferencia significativa con una concentración de 258.5 mg/dL (STZ/I.I) con respecto al lote STZ. La insulina funciona para activar sistemas de transporte y las enzimas que intervienen en la utilización y depósito intracelular de glucosa, aminoácidos y AG e inhibe procesos catabólicos como la degradación de glucógeno, lípidos y proteínas (Rodríguez, 2003). Además de reducir la concentración de glucosa en sangre.

El Lote STZ/I.I/EH (284 mg/dL) no presenta una diferencia significativa con respecto al lote STZ/I.I sin embargo, se observa una diferencia con respecto a los lotes STZ y STZ/EH, esta disminución de la concentración de la glucosa se debe a la acción de la I.I ya que el EH no presenta una disminución estadística significativa sobre la concentración de glucosa en individuos diabéticos.

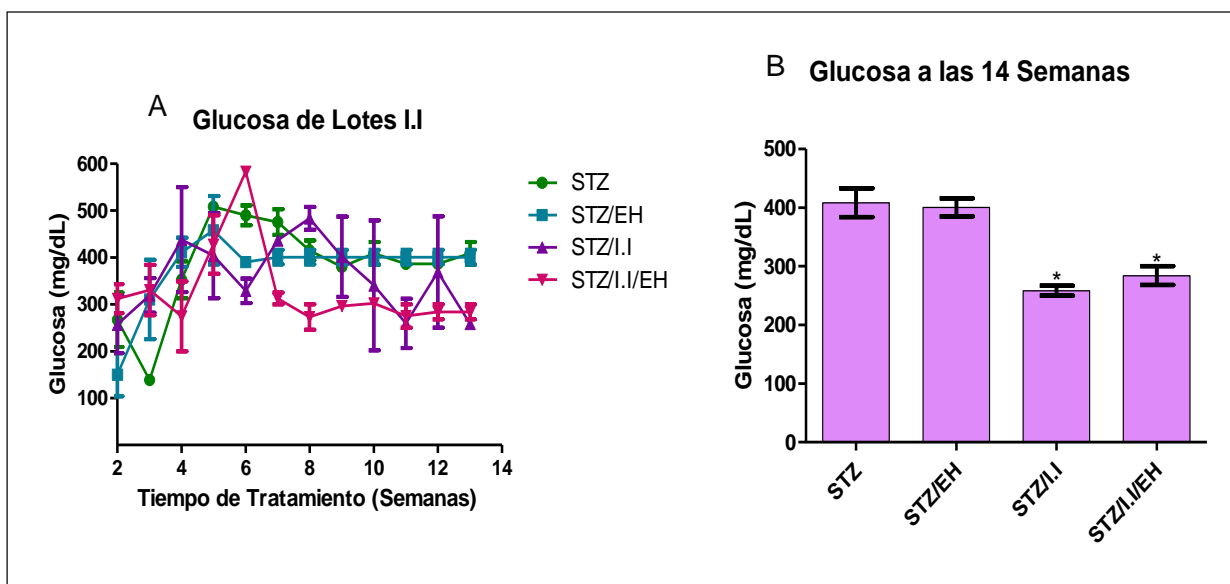


Figura 20. Efectos de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de glucosa en sangre. A) Seguimiento de los niveles de glicemia durante las 14 semanas de tratamiento B) Concentración de glucosa en sangre de los lotes STZ, STZ/I.I, STZ/EH y STZ/I.I/EH.

C) Colesterol

En la Fig. 21 se observa la concentración de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH. En la Fig. 21A se muestra el seguimiento de la concentración de colesterol de todos los lotes y éstos presentan una tendencia similar.

Al final del tratamiento (Fig. 21B) se muestra que los lotes administrados con I.I no presentan una diferencia significativa sobre la concentración de colesterol, lo que indica que la acción de I.I no fue capaz de disminuir las concentraciones de colesterol, aun cuando presenta una concentración de 162.5 mg/dL (Lote STZ/I.I) con respecto al lote STZ (176,5 mg/dL).

En el lote STZ/I.I/EH las concentraciones de colesterol al final del tratamiento experimental (Fig.21B) no mostraron diferencia estadísticamente significativa, la concentración de colesterol basal es de 150 mg/dL, al dar seguimiento los niveles de colesterol mantienen una tendencia similar (150-177 mg/dL). Esto podría sugerir que el extracto administrado con insulina en ratas diabéticas, no ejerce un efecto sobre la concentración de colesterol.

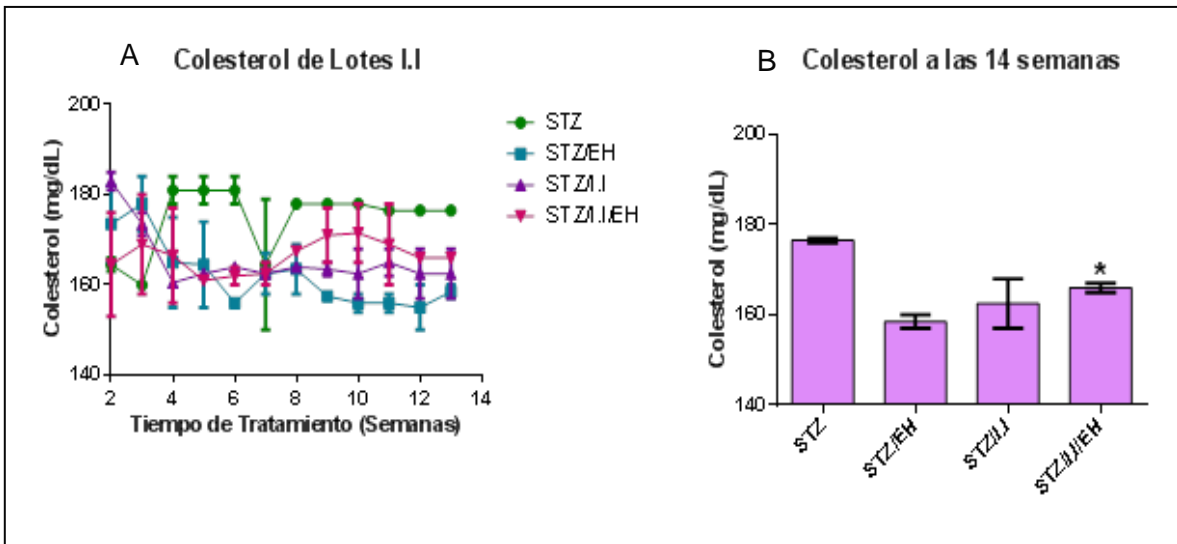


Figura 21. Efectos de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH durante las 14 semanas de tratamiento. A) Seguimiento de los niveles de colesterol durante las 14 semanas de tratamiento ($P < 0.05$). B) Concentración de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH comparados con lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH.

D) Triacilglicéridos

En la Fig. 22 se muestra las concentraciones de triacilglicéridos de los lotes tratados con I.I y se observa que durante el seguimiento (Fig. 22A) los lotes STZ/I.I, STZ/EH/I.I, presentan una tendencia similar en la concentración de triacilglicéridos (entre 70-150 mg/dL).

Al final del tratamiento los lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH muestran una disminución en la concentración de triacilglicéridos (139 y 154 mg/dL respectivamente) con respecto al lote STZ (241 mg/dL). Se observa que esta disminución es debido a la administración de insulina.

Por su parte el lote STZ/I.I/EH no presenta diferencia significativa con respecto al lote STZ/I.I. lo que sugiere que el EH no funciona como potenciador de la I.I, sin embargo favorece en la disminución de triacilglicéridos en individuos diabéticos.

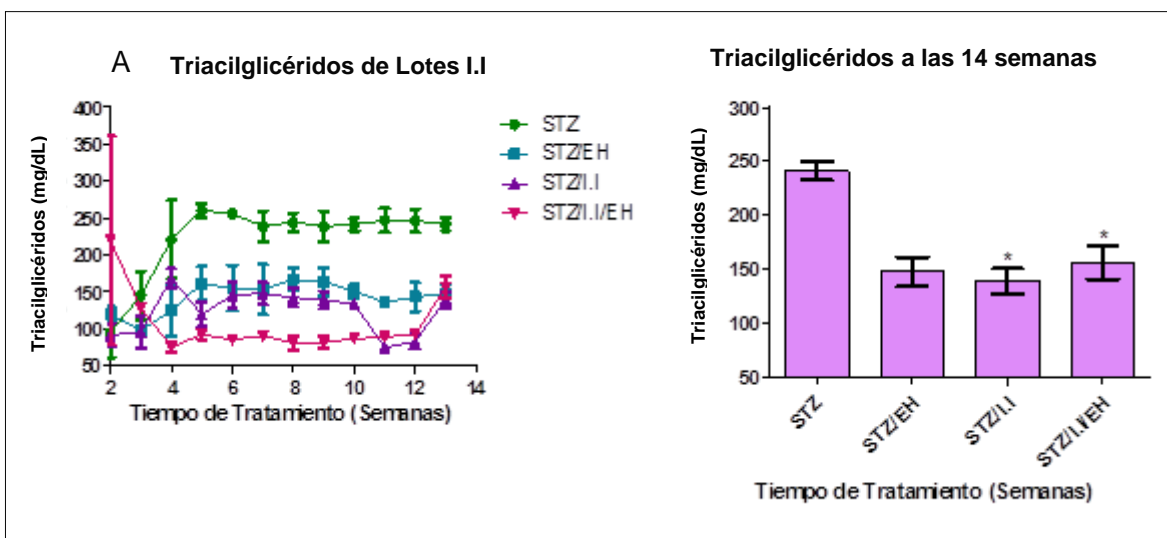


Figura 22. Efecto de la acción de la I.I comparada con el efecto del EH sobre la concentración de triacilglicéridos de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH. A) Seguimiento de los niveles de triacilglicéridos durante las 14 semanas de tratamiento ($P < 0.05$). B) Concentración de triacilglicéridos de los lotes STZ, STZ/EH comparados con los lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH.

E) Transaminasas (TGO y TGP)

En la Fig. 23 se muestra la concentración de transaminasas (TGO y TGP) de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH. En los lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH se observa un aumento significativo en la concentración de TGO y TGP; como se mencionó anteriormente, las transaminasas son marcadores sensibles cuando existe una lesión hepática, sin embargo TGP es específica, pero no existe una correlación entre las cifras en la elevación de transaminasas con el grado de lesión hepática (Romero, 2001).

En el caso de STZ/EH se observa una elevación importante en TGP, siendo marcador de un posible daño hepático, considerando que los niveles normales de TGP son de 17-50 UI/L (Cruz y col., 2009). El lote STZ/EH tiene una concentración de TGP de 101 UI/L (Tabla 13) lo que indica que el EH no sugiere un efecto favorecedor a nivel hepático en individuos con diabetes. Por otra parte, al administrar I.I se observa una disminución importante en TGP (51 UI/L).

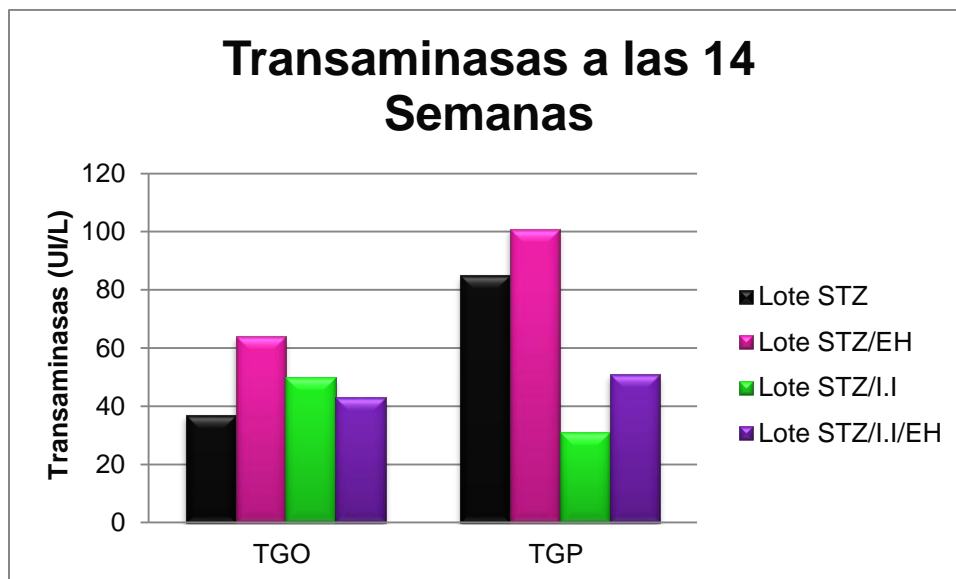


Figura 23. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH a las 14 semanas de tratamiento.

Tabla 13. Concentración de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH

Lote	TGO	TGP
	UI/L	
STZ	37	85
STZ/EH	64	101
STZ/I.I	50	31
STZ/I.I/EH	43	51

F) Bilirrubinas (BD y BT)

La bilirrubina es un metabolito secundario, producido por degradación de los grupos hemo de la hemoglobina, mayoritariamente, en las células del sistema retículo endotelial (médula ósea, bazo e hígado).

La bilirrubina se une a la albúmina. Este complejo se disocia y la bilirrubina sola, penetra en la célula hepática. La bilirrubina como tal se une a la albúmina. Este complejo se disocia y la bilirrubina sola, penetra en la célula hepática. Ahí se conjuga (bilirrubina de reacción directa) con ácido glucurónico formando un mono y di glucuronido, por acción de la enzima glucuronil

transferasa, o en menor medida con grupos sulfatos, para luego ser excreta a los canalículos biliares por un proceso activo contra un gradiente de concentración.

En la Fig. 24 se muestran las concentraciones de Bilirrubinas al finalizar los tratamientos. Se observa que los lotes administrados con EH (STZ/E.H y STZ/I.I/EH) tienen una mayor concentración de BT comparado con los lotes STZ y STZ/I.I. Las concentraciones de Bilirrubinas está aumentada cuando existe una obstrucción del árbol biliar intrahepático, extrahepático, daño hepatocelular, entre otras causas.

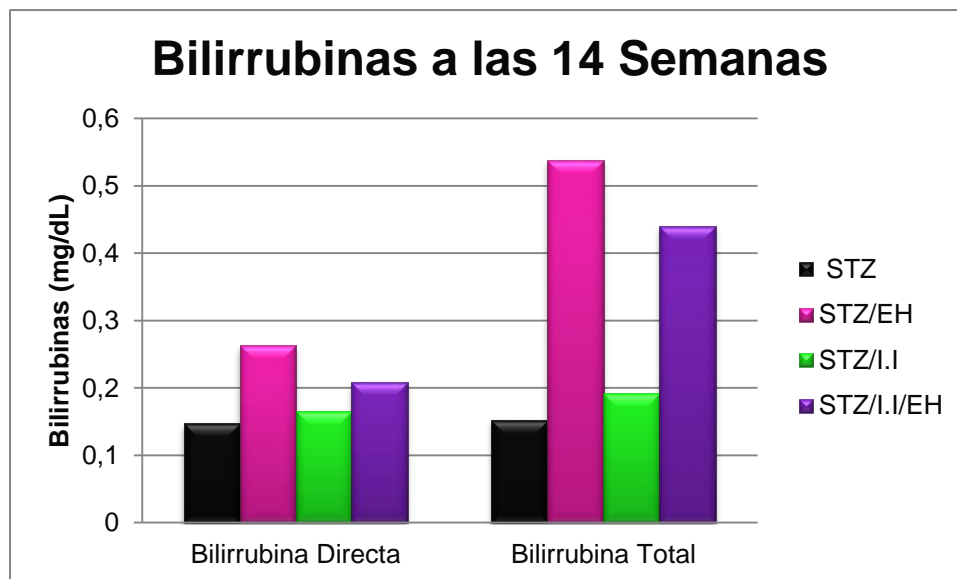


Figura 24. Concentración en suero de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH al final del tratamiento.

Tabla 14. Concentración de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I Y STZ/I.I/EH

Lote	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Total
STZ	0.14	0.15
STZ/EH	0.26	0.53
STZ/I.I	0.16	0.19
STZ/I.I/EH	0.20	0.44

G) Histología

En la Fig. 25 se observa una degeneración grasa y albuminosa de leve a moderada en el hígado de los lotes STZ/I.I y STZ/I.I/EH considerando que el daño generado en éstos lotes es causado por la administración de STZ. El páncreas presenta atrofia y necrosis leve, sin embargo se observa que la administración de la I.I evitó un daño mayor generado por la STZ. En el riñón se observa una esclerosis glomerular moderada y degeneración albuminosa leve, cuando hay deficiencia de insulina, una de las complicaciones metabólicas es la nefropatía diabética. La hiperglucemia promueve el estrés oxidativo y por lo tanto, la generación de ROS desencadenando una disminución en la defensa oxidativa y acumulación de grasa (Abdulqader y col., 2011; Richardson y col., 2011).

En el lote STZ/I.I/EH se muestra una atrofia y necrosis de leve a moderada en el páncreas, así como degeneración grasa y albuminosa en riñón. Éstos datos nos indican que el EH junto con la administración de I.I no detienen el daño causado por la administración de STZ, agravando la destrucción de células en el páncreas y riñón.

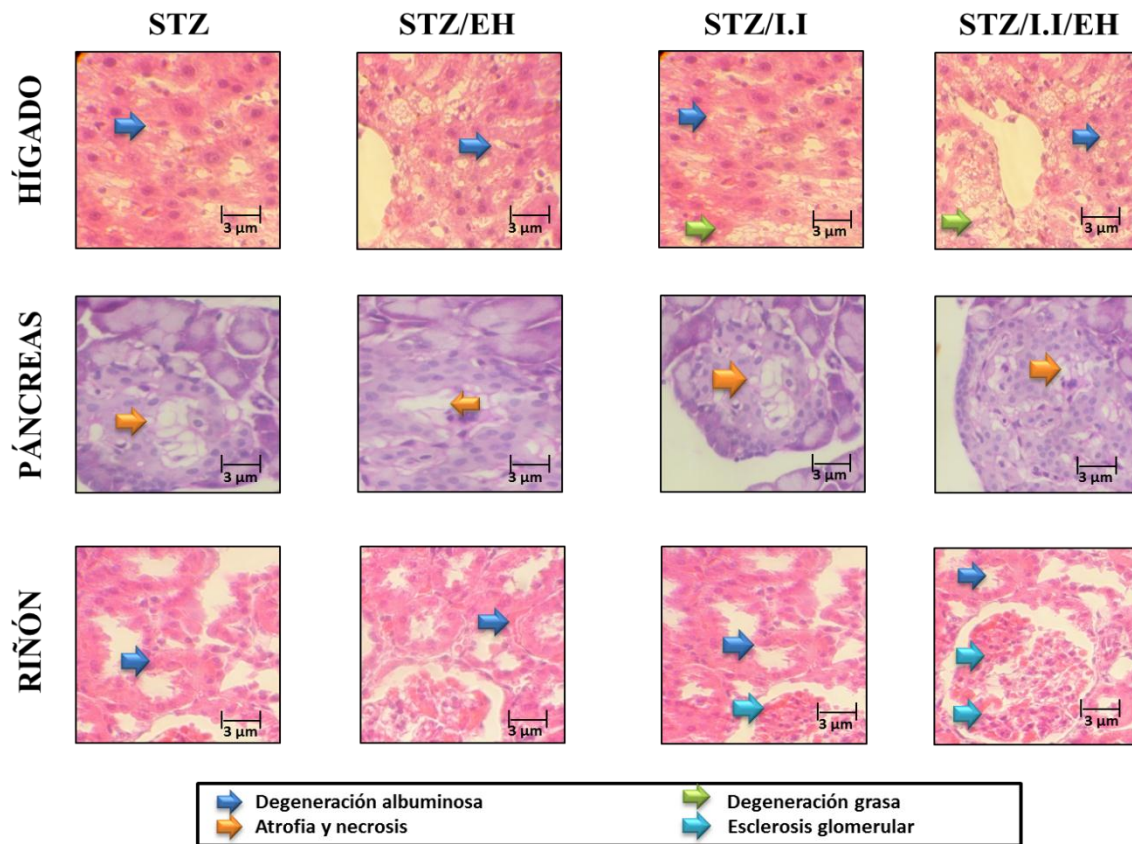


Figura 25. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH. Se observan los efectos del EH y de la insulina de acción intermedia.

V.3. Efecto de la acción de Insulina Rápida (I.R) comparada con el efecto del EH en un modelo de Diabetes Mellitus 1 sobre parámetros: fisiológico (peso), nutricionales (consumo de agua y alimento), bioquímicos, enzimáticos y análisis histopatológico.

Lotes: STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH

La insulina es un regulador esencial del metabolismo y produce efectos directos e indirectos en casi todos los tejidos (Anania y Parekh, 2007).

La I.R consiste en cristales de insulina zinc disuelto en un líquido transparente, de insulina humana de origen ADN recombinante. Produce efecto con rapidez y tiene una duración de actividad relativamente corta (4-8 h) (PLM, 2009).

A) Parámetros: Fisiológico (peso) y Nutricionales (consumo de agua y alimento)

Como se muestra en la Figura 26B, el peso corporal de las ratas con I.R y EH (STZ/I.R/EH) presentó diferencias significativas con respecto al lote STZ/EH a lo largo del tratamiento, lo que indicaría que el EH conlleva una ganancia de peso cuando es administrado con I.R.

Por otra parte, en la Figura 26C y 26D se observa una diferencia significativa del lote STZ/EH/I.R (22 g) en el consumo de alimento y agua con respecto al lote STZ/EH (26.7 mL) al finalizar el tratamiento, lo que aparentemente indica que el EH al administrarse junto con la insulina ejerce un efecto. Disminuyendo las cantidades en la ingesta de alimento y agua.

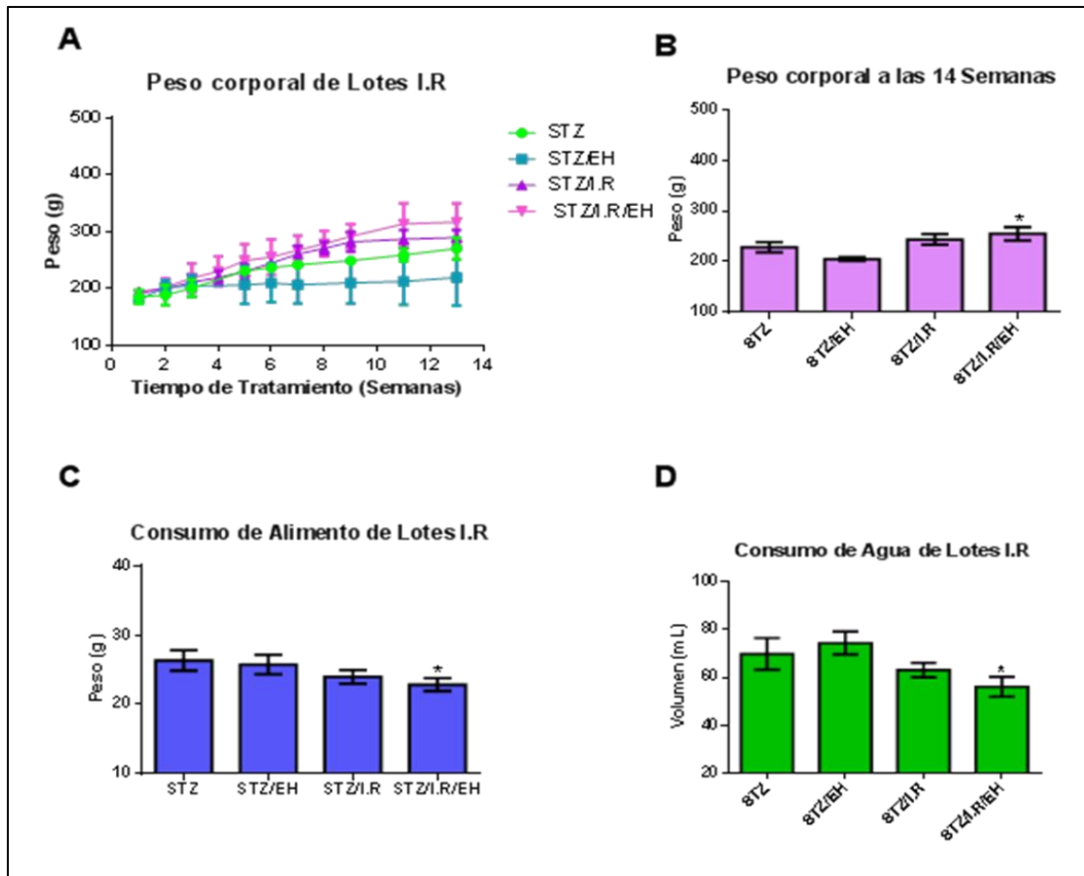


Figura 26. Efecto de la I.R comparada con el efecto del EH sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento. A) Seguimiento del peso corporal durante el tratamiento. B) Peso corporal al final del tratamiento. C) Peso del consumo de alimento en al final de los tratamientos. C) Peso del consumo de agua al final de los tratamientos.

B) Glucosa

En la Fig. 27 se muestran las concentraciones de glucosa de los lotes STZ/I.R y STZ/I.R./EH, al dar seguimiento a éstos lotes (Fig. 27A) se observa que presentan concentraciones de glucosa por debajo de los lotes STZ y STZ/EH. Lo que indica que la acción de la I.R disminuye los niveles de glucosa. Por su parte, el lote STZ/I.R./EH se observa que el EH actúa como un posible potenciador de la I.R, ya que mantuvo sus niveles de glucosa de (77-107 mg/mL) durante el tratamiento; esto sugiere que el EH puede ejercer un efecto junto con la administración de I.R, disminuyendo los niveles de glucosa en individuos diabéticos.

Se muestra una diferencia significativa del lote STZ/I.R./EH con una concentración de glucosa de 87 mg/dL con respecto a los lotes STZ (408.5 mg/dL) y STZ/EH (400.5 mg/dL), como se mencionó anteriormente la administración del EH junto con la acción de I.R disminuye estadísticamente las concentraciones de glucosa en individuos diabéticos.

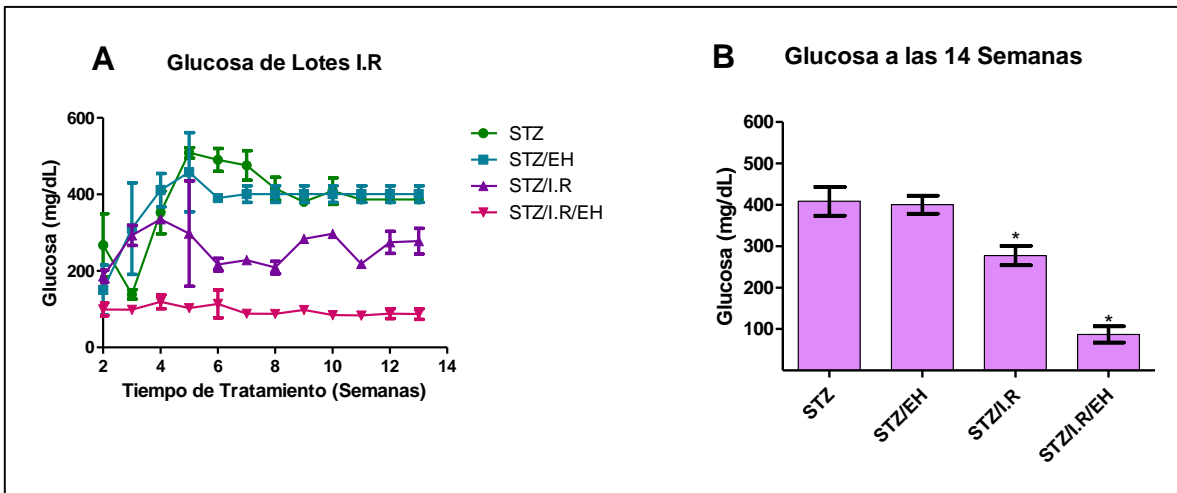


Figura 27. Efecto de la acción de I.R comparada con el efecto del EH sobre la concentración de glucosa en sangre. A) Seguimiento de la concentración de glucosa en sangre durante las 14 semanas de tratamiento. B) Se muestran las concentraciones de glucosa del comportamiento de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH a las 14 semanas de Tratamiento.

C) Colesterol

Durante el seguimiento de colesterol en las semanas de tratamiento, se observa (Fig. 28) que los lotes STZ/I.R y STZ/I.R/EH tienden a disminuir sus niveles de colesterol con respecto a sus controles (STZ y STZ/EH). La administración de insulina disminuye las concentraciones de colesterol, ya que cuando se encuentra aumentada la concentración de glucosa en sangren el tejido adiposo, la glucosa se almacena principalmente como lípido, promoviendo la lipogénesis, con ello el desarrollo de hipercolesteronemia (cuando los niveles de glucosa están aumentados anormalmente) (Vinay y col., 2008).

La ausencia de insulina desencadena alteraciones en el metabolismo de las grasas, de tal manera que la administración de insulina exógena regula el metabolismo de grasas (Silverthorn, 2008).

Como se mencionó anteriormente, la administración de insulina disminuye las concentraciones de colesterol, debido a la disminución de la degradación de lípidos. En la Fig. 28B se muestra la diferencia significativa que hay en el lote STZ/I.R así como en el lote STZ/I.R/EH con respecto al grupo STZ, sin embargo el lote STZ/I.R/EH de concentración 152 mg/dL no presenta diferencia significativa con respecto al lote STZ/EH (158.5 mg/dL). Lo anterior, nos sugieren que el EH no potencia los efectos de la I.R en la disminución de colesterol.

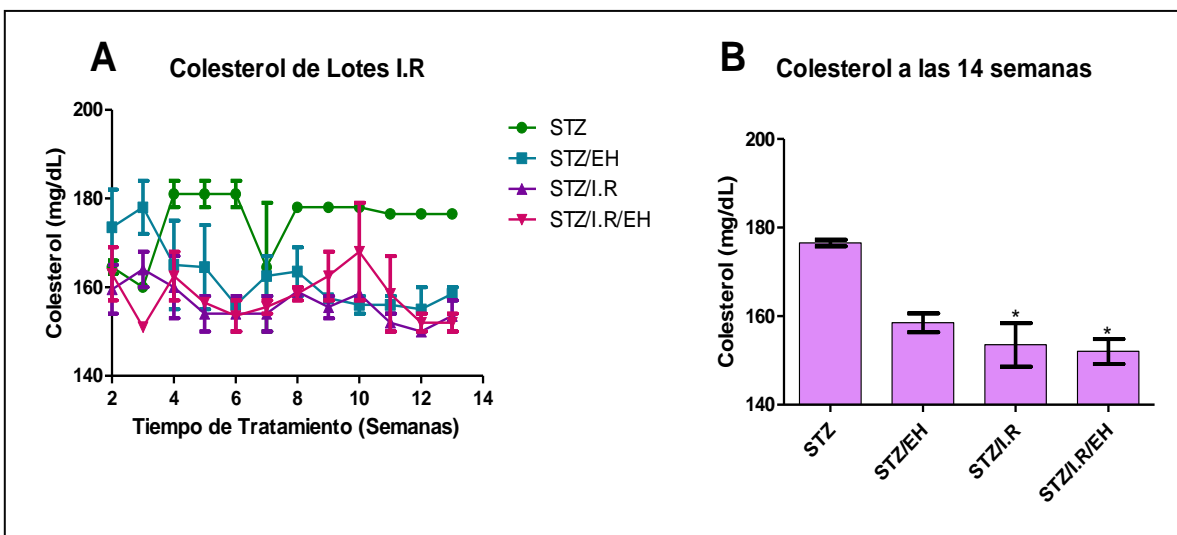


Figura 28. Efecto de la acción de I.R. comparada con el efecto del EH sobre la concentración de colesterol en sangre. A) Seguimiento de la concentración de colesterol en sangre durante las 14 semanas de tratamiento. B) Concentración de colesterol en sangre de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R. y STZ/I.R./EH a las 14 semanas de tratamiento.

D) Triacilglicéridos

Los triacilglicéridos en sangre juegan un papel importante, sin embargo, cuando hay un desbalance en un aumento anormal de glucosa, éstos a su vez se ven afectados ya que disminuye la lipólisis en el adipocito. Normalmente la glicemia se mantiene dentro de límites estrechos por el balance de la entrada de glucosa a la sangre desde el hígado y como consecuencia de la absorción intestinal después de las comidas y la captación de glucosa por los tejidos periféricos como el músculo (Rodríguez, 2003).

La Fig. 29 muestra la concentración de triacilglicéridos en sangre de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R. y STZ/I.R./EH, donde se observa que los lotes STZ/I.R. (y STZ/I.R./EH) presentan concentraciones de triacilglicéridos menores al lote STZ, lo que indica que la administración de insulina disminuye las concentraciones de triacilglicéridos ya que la insulina tiene efectos metabólicos.

En la Fig. 29B se observa que no hay diferencia significativa entre los lotes STZ/EH, STZ/I.R. y STZ/I.R./EH, lo que indica que el EH no ejerce un efecto potenciador al ser administrado con I.R., al finalizar el tratamiento se observa una concentración de triacilglicéridos de 142 mg/dL (STZ/I.R./EH) mientras que el lote STZ/EH tiene una concentración de triacilglicéridos de 147.5 mg/dL, estadísticamente no hay diferencia significativa.

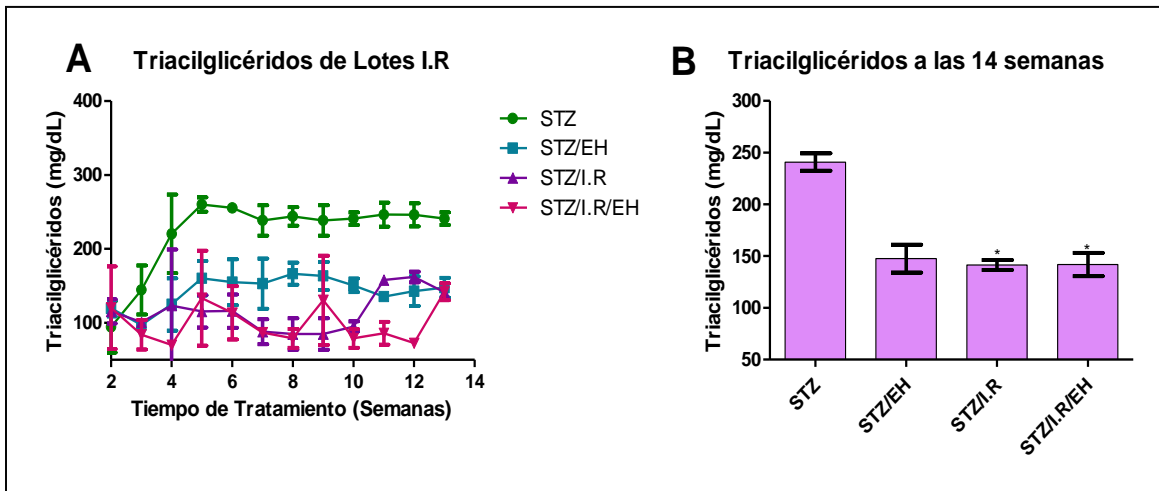


Figura 29. Efecto de la acción de la I.R comparada con el efecto del EH sobre los niveles de triacilglicéridos en sangre de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH. A) Seguimiento de los niveles de triacilglicéridos durante las 14 semanas de tratamiento. B) Concentración de Triacilglicéridos en sangre a las 14 semanas de tratamiento.

E) Transaminasas (TGO y TGP)

En la Fig. 30 se muestran las concentraciones de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH. Los lotes STZ/I.R y STZ/EH presentan elevación en los niveles de TGP, se observa una concentración de 102 mg/dL, aunque era de esperarse, ya que se trata de ratas diabéticas y este incremento está relacionado con la administración de STZ.

Por otra parte, el lote STZ/I.R/EH presenta concentraciones menores de TGO y TGP (10 y 35 mg/dL respectivamente), tratándose de un lote diabético, se observa que la administración del EH ejerce un efecto sobre la concentración de las enzimas TGO y TGP.

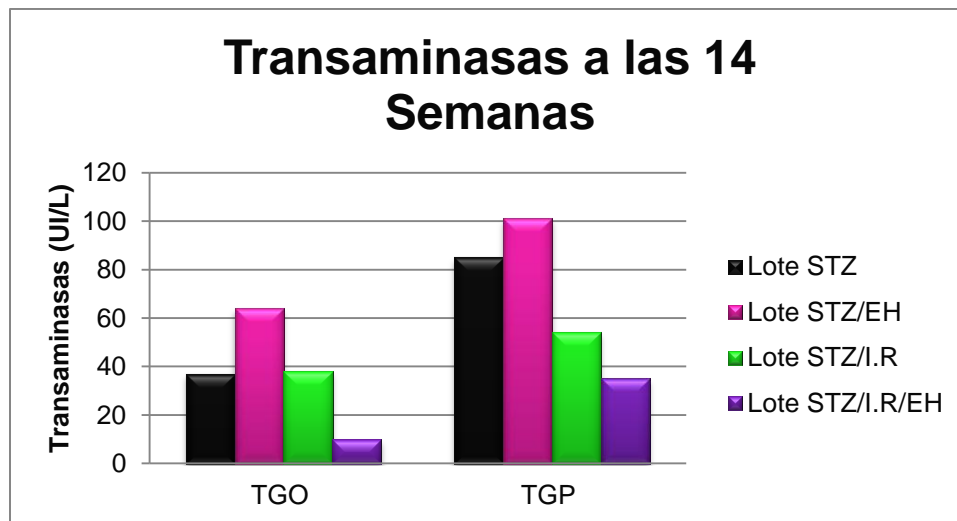


Figura 30. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH al final del tratamiento.

Tabla 15. Concentración de Transaminasas (TGO Y TGP) de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R Y STZ/I.R/EH

Lote	TGO	TGP
	UI/L	
STZ	37	85
STZ/EH	64	101
STZ/I.R	38	54
STZ/I.R/EH	10	35

F) Bilirrubinas (BD y BT)

En la Fig. 31 se muestran las concentraciones de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH. El lote STZ/I.R presenta una elevación en BT con una concentración de 0.53 mg/dL, lo que aparentemente sugiere una lesión hepática, sin embargo, esta elevación en las concentraciones de bilirrubinas puede ser respuesta a la administración de la STZ.

El lote STZ/I.R/EH tiene una concentración de BT de 0.07 mg/dL es similar al lote control, lo que indicaría que ejerce un efecto al administrar I.R y EH.

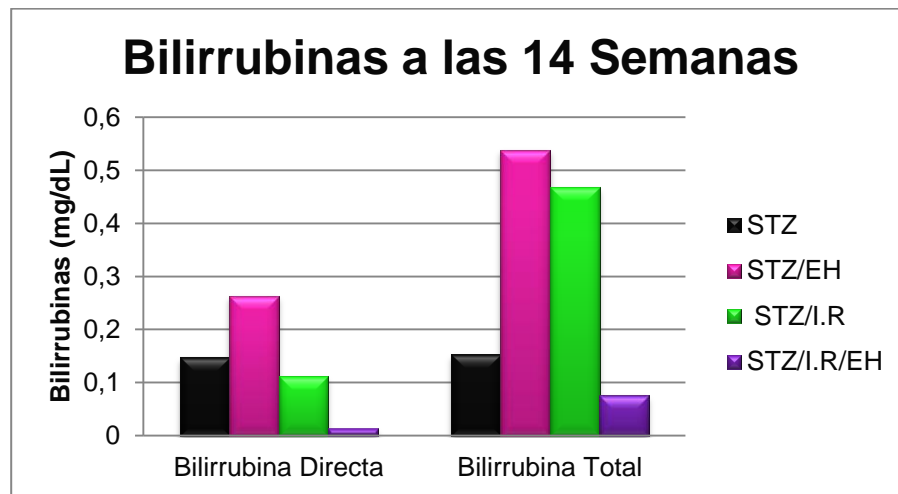


Figura 31. Concentración en suero de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH al final del tratamiento.

Tabla 16. Concentración de BD y BT de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH al final del tratamiento

Lote	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Total
STZ	0.14	0.15
STZ/EH	0.26	0.53
STZ/I.R	0.11	0.46
STZ/I.R/EH	0.01	0.07

G) Histología

En el lote STZ/I.R se observa (Fig. 32) una degeneración albuminosa leve en hígado. El daño en este lote es menor que en ratas diabéticas, lo que indica que la administración de I.R. disminuye los efectos de las consecuencias de las concentraciones elevadas de glucosa en sangre. En el páncreas se observa atrofia y necrosis leve, así como esclerosis glomerular leve en riñón.

El lote STZ/I.R./EH presenta degeneración albuminosa y grasa leve en hígado y nefritis intersticial leve en riñón. El efecto de la STZ provoca daño a nivel renal, ya que se presenta estrés oxidativo el cual contribuye a la patogénesis de la DM y sus secuelas causando nefropatía. Los riñones son especialmente propensos a los daños causados por los radicales libres (García y col., 2010).

La administración del EH no generó un daño mayor en los órganos analizados (hígado, riñón y páncreas), se observa que hay un daño pero no tan severo como en los órganos del lote administrado con STZ.

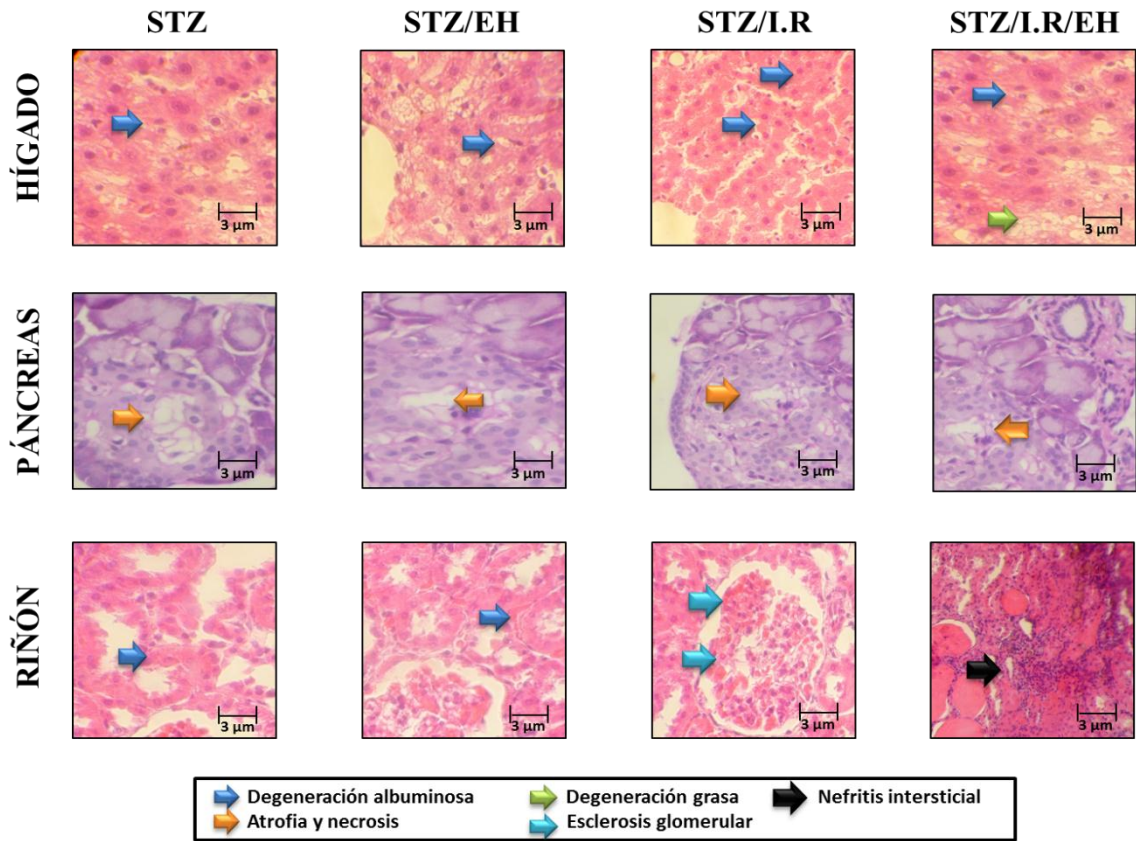


Figura 32. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.R y STZ/I.R/EH. Se observan los efectos del EH y de la insulina de acción rápida.

V.4. Posibles efectos de los Ácidos Grasos ω -3 en un modelo de DM1 sobre parámetros: fisiológico (peso), nutricionales (consumo de agua y alimento), bioquímicos, enzimáticos y análisis histológico.

Lotes: C, C/AG ω -3, STZ y STZ/AG ω -3

Los efectos de los AG ω -3 ha suscitado un interés en los diabéticos debido a que esta enfermedad se asocia frecuentemente a dislipidemias y a un mayor riesgo de aterosclerosis; con frecuencia se prescriben los AG ω -3 en la diabetes y en las dislipidemias (Nassif y Meriño,2003).

Los AG ω -3, poseen efectos antiinflamatorios, como reguladores del metabolismo lipídico y la reducción al riesgo de enfermedades cardiovasculares (Domingo y col., 2011).

A) Parámetros: Fisiológico (peso) y Nutricionales (consumo de agua y alimento)

En la Figura 33 se muestran los efectos de los AG ω -3 sobre los parámetros fisiológicos y nutricionales de los lotes C, C/AG ω -3, STZ y STZ/AG ω -3. Se observa que durante el seguimiento del peso corporal (Fig. 33A) hay una ganancia de peso mayor de los lotes administrados con AG ω -3 (C/AG ω -3, STZ/AG ω -3) comparado con el lote C.

Por otro parte, en la Fig. 33C se observa una diferencia significativa de las ratas diabéticas tratadas con AG ω -3 (24 g) en el consumo de alimento con respecto a su control (C/AG ω -3). Lo que sugiere que los AG ω -3 ejercen un efecto sobre la ingesta de alimento, aun cuando se trata de un lote diabético.

Como se puede observar en la Figura 33D el consumo de agua disminuye significativamente en las ratas diabéticas con AG ω -3 con un volumen de 47 mL a diferencia del lote STZ de 69 mL, esta respuesta aparentemente es al efecto de la administración de AG ω -3.

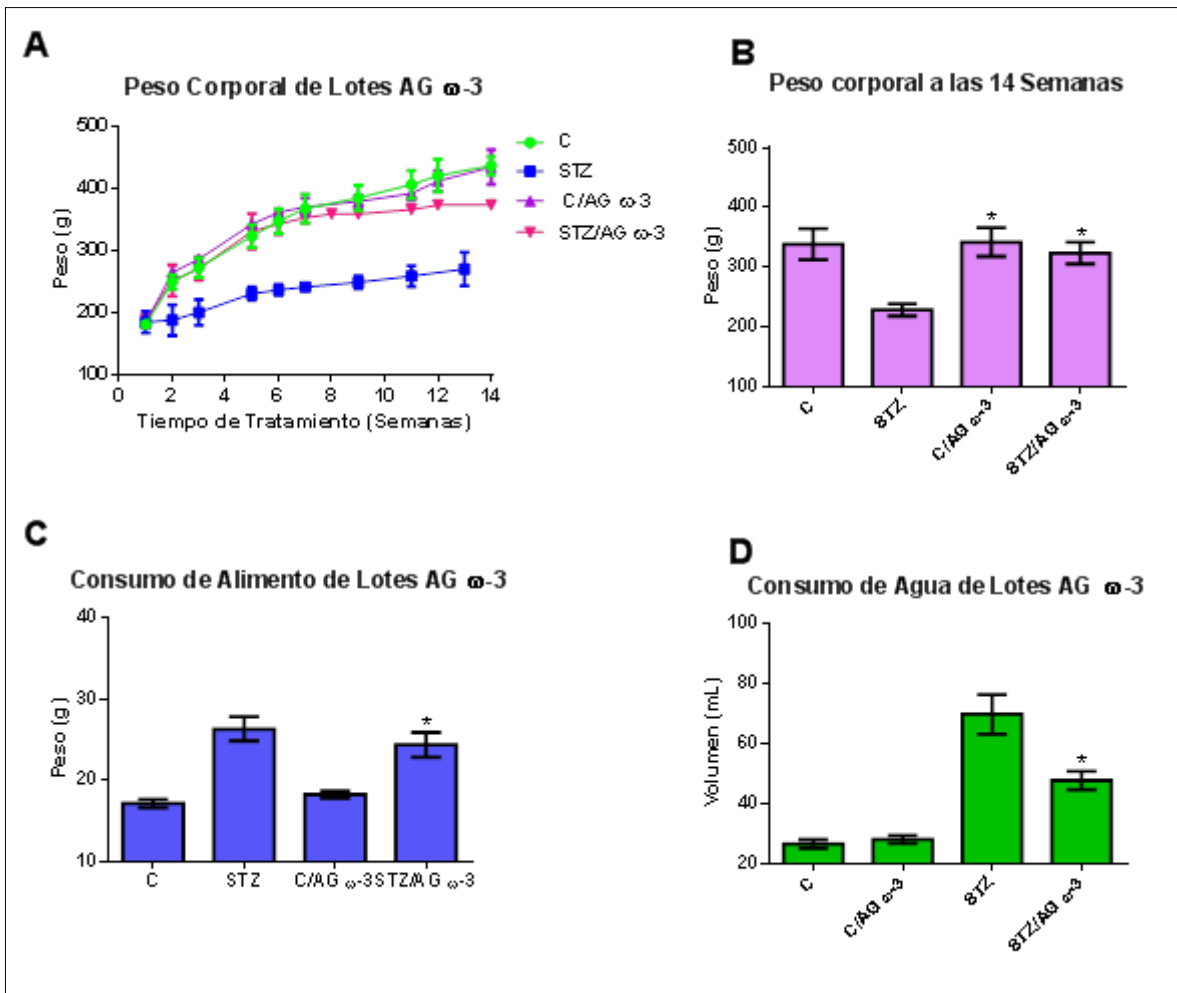


Figura 33. Efecto de los AG ω -3 sobre el peso corporal, consumo de agua y alimento. A) Seguimiento del peso corporal durante el tratamiento. B) Peso corporal al final del tratamiento. C) Peso del consumo de alimento en el final de los tratamientos. D) Peso del consumo de agua al final de los tratamientos.

B) Glucosa

En la Fig. 34, se observan que los niveles de glucosa en el lote C/AG ω -3 no presentan una diferencia significativa con respecto al lote C, de tal manera que la administración de AG ω -3 no genera un efecto sobre la concentración de glucosa en individuos sanos.

Por otra parte, durante el seguimiento de la concentración de glucosa (Fig. 34A) el lote STZ/AG ω -3, presenta una disminución significativa al final del tratamiento, se observa una concentración de 128 mg/dL con respecto al lote STZ (408 mg/dL), la administración de los AG ω -3 disminuyen la concentración de glucosa en individuos diabéticos.

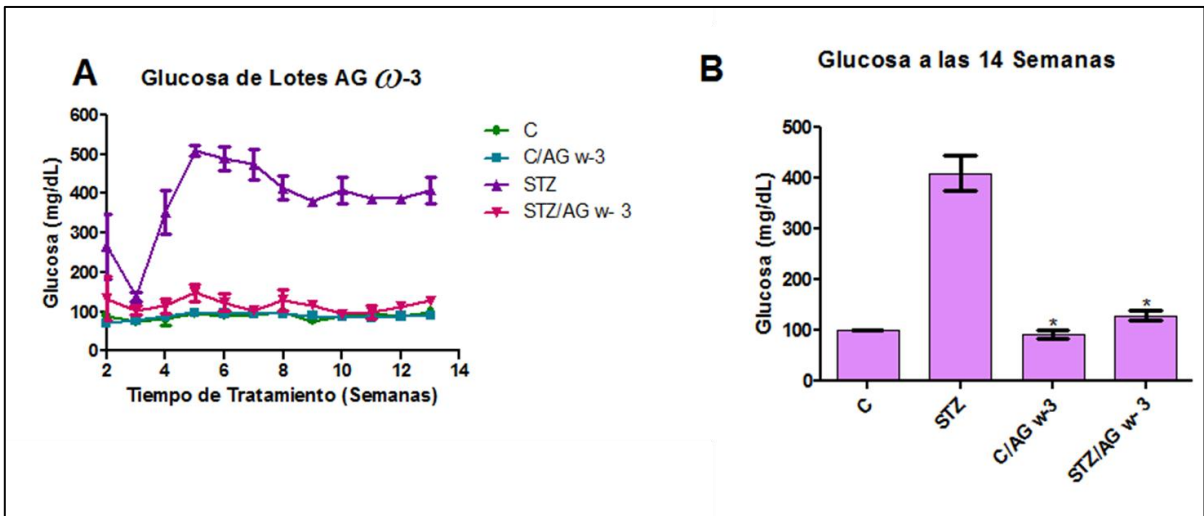


Figura 34. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de glucosa en sangre. A) Seguimiento de las concentraciones de glucosa de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3 B) Concentración de glucosa de los lotes administrados con AG ω -3 durante las 14 semanas de tratamiento.

C) Colesterol

En la Fig. 35B se muestra que en los lotes C y C/AG ω -3 no presentan una diferencia estadística significativa sobre la concentración de colesterol. Los AG ω -3 no disminuyen los niveles de colesterol en individuos sanos. Durante el seguimiento del tratamiento (Fig. 35A) se observa una tendencia similar con el lote C.

Por otro lado, el lote STZ y el STZ/AG ω -3 presentan una diferencia significativa, la administración de los AG ω -3 disminuye los niveles de colesterol en individuos con diabetes.

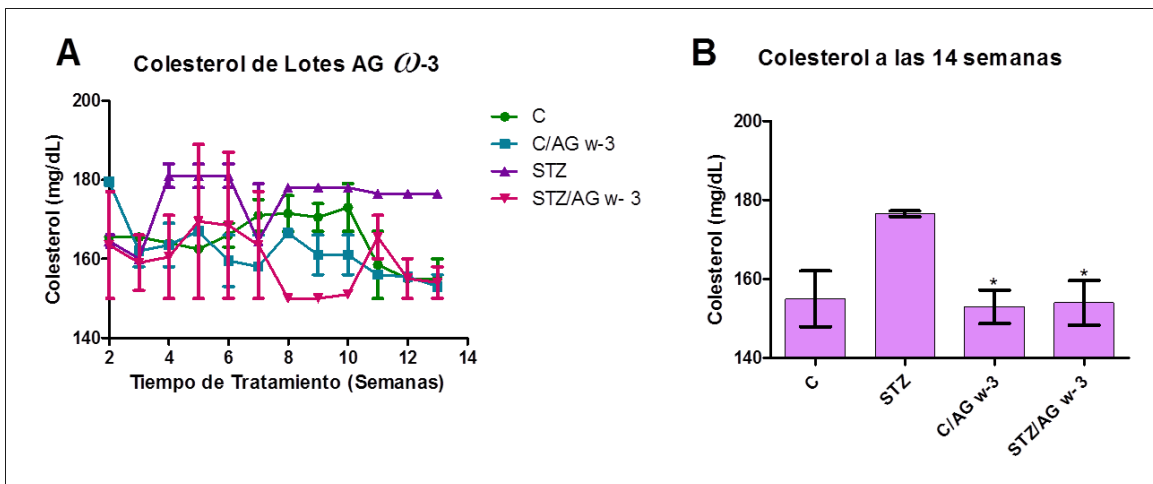


Figura 35. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de colesterol en sangre. Se muestran las concentraciones de colesterol del comportamiento de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3 en las 14 semanas de tratamiento.

D) Triacilglicéridos

Se observa una disminución significativa en los niveles de triacilglicéridos en los lotes C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3, de tal manera que la administración de AG ω -3 en individuos con diabetes disminuye la concentración de triacilglicéridos.

Durante el seguimiento del tratamiento (Fig. 36A), se observa que el lote STZ/AG ω -3 tiene una tendencia similar a los lotes C y C/AG ω -3 con una concentración final de 168 mg/dL para el lote STZ/AG ω -3. Los AG ω -3 mejoran el perfil lipídico en individuos diabéticos.

La administración de AG ω -3 al lote C/AG ω -3 no presenta diferencia significativa (Fig. 36B) con respecto al lote C, por lo que los AG ω -3 no afectan en la concentración de triacilglicéridos de individuos sanos.

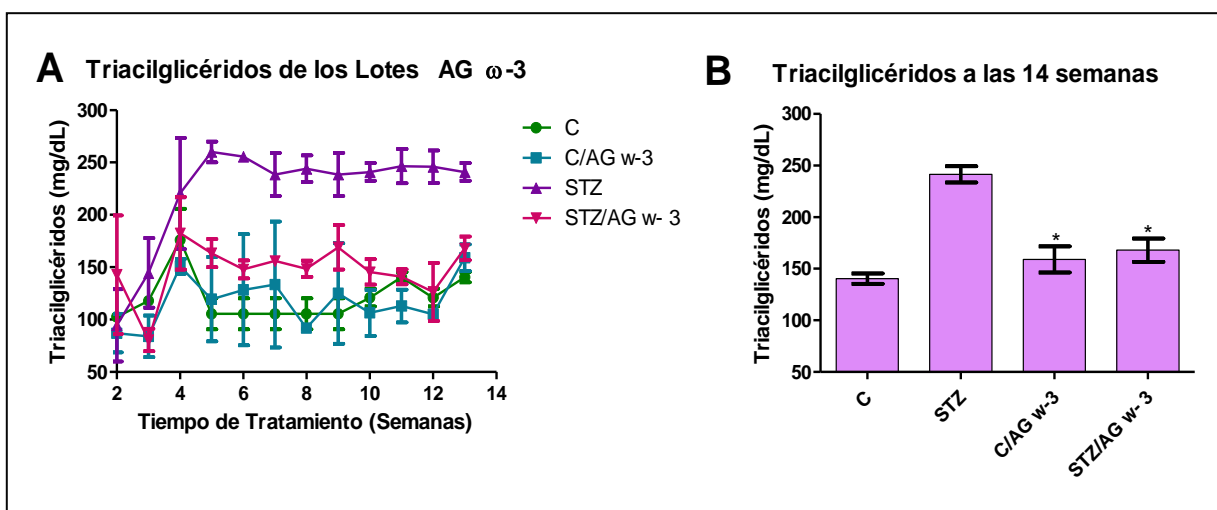


Figura 36. Efecto de los AG ω -3 en un modelo experimental de DM1 sobre la concentración de triacilglicéridos en sangre. Se muestran las concentraciones de triacilglicéridos del comportamiento de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3 durante las 14 semanas de tratamiento.

E) Transaminasas (TGO y TGP)

En los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3 (Fig. 37) se observan los niveles de TGO y TGP, donde los lotes administrados con AG ω -3, no presentan un efecto a nivel hepático. La administración de los AG, no sugiere una lesión en hígado.

En la tabla 17 se muestran las concentraciones de TGO y TGP, se observa una concentración de 30 y 25 mg/dL respectivamente para ratas diabéticas con el suplemento AG ω -3. La elevación de las enzimas transaminasas con un marcador en las lesiones hepáticas, sin embargo el lote STZ/AG ω -3 y C/AG ω -3, no presentan lesión hepática.

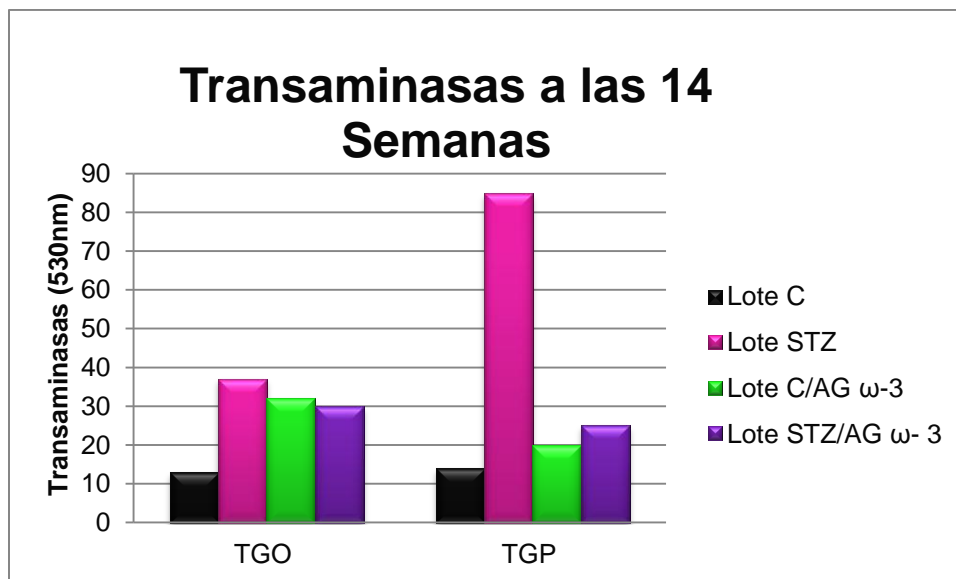


Figura 37. Concentración en suero de TGO y TGP de los lotes C, STZ, C/AG ω-3 y STZ/AG ω-3a las 14 semanas.

Tabla 17. Concentración de Transaminasas (TGO Y TGP) de los lotes C, STZ, C/AG ω-3 y STZ/AG ω-3

Lote	TGO	TGP
	UI/L	
C	13	14
STZ	37	85
C/AG ω-3	32	20
STZ/AG ω-3	30	25

F) Bilirrubinas (BD y BT)

En la Fig. 38 se muestran los niveles de concentración de BD y BT, el lote C/AG ω-3 muestra una concentración de Bilirrubina total de 0.04 mg/dL igual a la concentración del lote C (0.04 mg/dL) lo que indica que los AG no ejercen un efecto en individuos sanos.

El lote STZ/AGω-3, presenta una elevación significativa (0.228 mg/dL) con respecto al lote C (0.04 mg/dL), por lo que podría considerarse que existe una alteración post-hepática por una obstrucción en las vías biliares, sin embargo, este efecto puede atribuirse más que a la

administración de los AG ω -3, a la diabetes, ya que por sí sola puede generar efectos a nivel hepático.

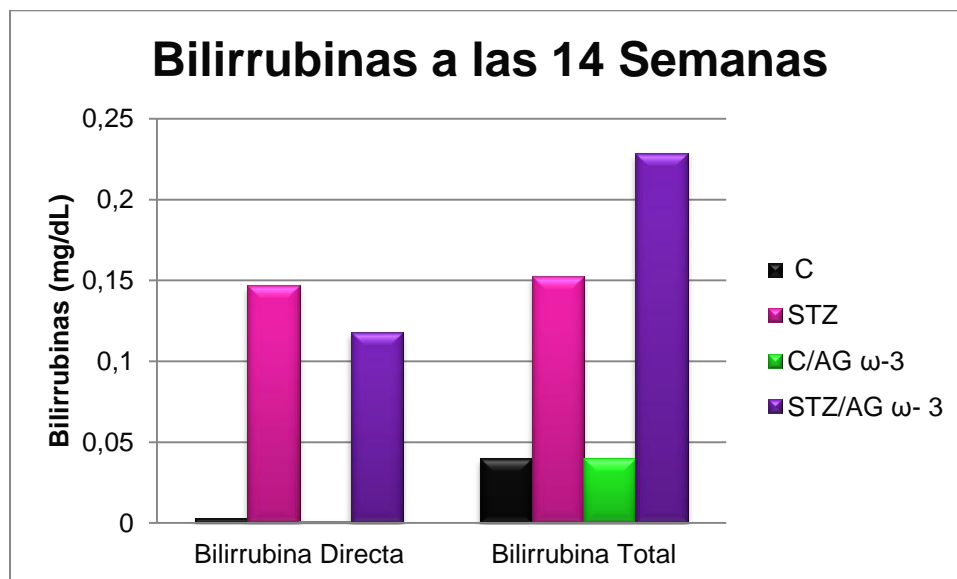


Figura 38. Concentración en suero de BD y BT de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3 al final de las 14 semanas de tratamiento.

Tabla 18. Concentración de BD y BT de los lotes C, STZ, C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3

Lote	Bilirrubina Directa	Bilirrubina Total
C	0.003	0.040
STZ	0.147	0.152
C/AG ω -3	0.001	0.040
STZ/AG ω -3	0.118	0.228

G) Histología

En la Fig. 39 se observa que en el lote C/AG ω -3 presenta una degeneración albuminosa leve en hígado y riñón. El páncreas no presenta cambios patológicos aparentes. El lote STZ administrado con AG ω -3 se observa degeneración albuminosa en hígado y riñón leve así como atrofia y necrosis en el páncreas. Los AG ω -3 son potentes moléculas de señalización, además de que pueden influir en la inflamación a través de una variedad de mecanismos (Calder, 2011), de tal manera que la administración del suplemento de AG ω -3 contrarresta los efectos causados en un individuo con DM, evitando que el daño sea menos severo.

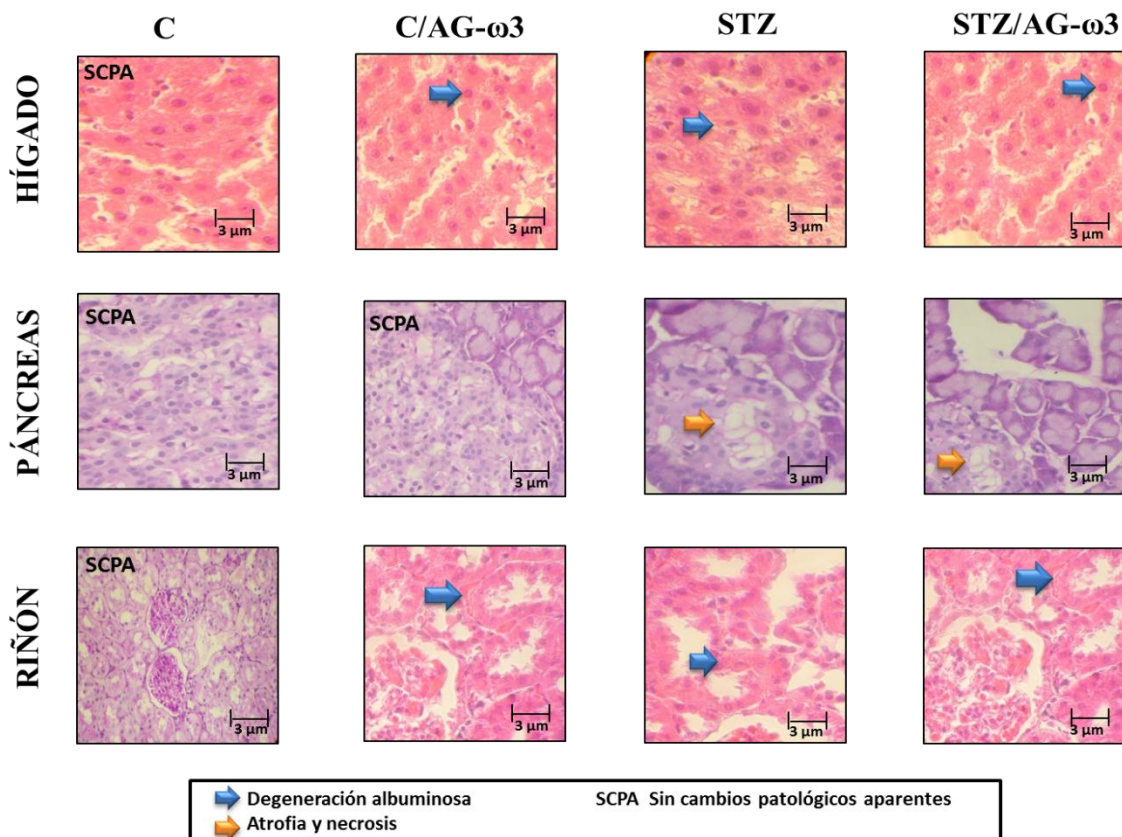


Figura 39. Cortes histológicos de hígado, páncreas y riñón de los lotes C, C/AG ω -3, STZ y STZ/AG ω -3. Se muestran los efectos de los AG ω -3 en ratas diabéticas y ratas control.

VI. DISCUSIÓN

La DM es un desorden metabólico o grupo heterogéneo de trastornos caracterizados por altos niveles de glicemia, resultado de un defecto en la secreción y/o acción de la insulina (Heydari y col., 2010). Es una de las enfermedades crónico-degenerativas más graves y costosas siendo la primera causa de muerte en México (Bell y col., 2001; Río y col., 2009).

Actualmente la medicina alternativa, la terapia génica y la terapia natural han tenido especial interés en la investigación de nuevas alternativas para el desarrollo de fórmulas que apoyen en el tratamiento de la DM y tratar de disminuir el mayor número de efectos secundarios (Eidi y Eidi, 2009).

En el presente estudio se administró (60 mg/kg de peso) de STZ en ratas jóvenes macho, por vía intraperitoneal con el objetivo de valorar los efectos del EH en un modelo de DM1 sobre la concentración de parámetros bioquímicos (glucosa, triacilglicéridos, colesterol, bilirrubinas y transaminasas) y la histología de órganos (hígado, páncreas y riñón).

VI. 1. Glucosa

La DM1 es un trastorno caracterizado por la deficiencia en la secreción de insulina. Para el desarrollo de un modelo de diabetes se requiere de la administración de un agente capaz de desencadenar un descontrol sobre los niveles de glucosa, tal es el caso de la STZ.

La administración por vía intraperitoneal de la STZ produjo un aumento en los niveles de glucosa de los grupos STZ y STZ/EH (Fig. 13) cuyos valores oscilan entre 400-500 mg/dL generando un modelo de diabetes.

La concentración de glucosa de los lotes tratados con STZ se encontraba por encima de los 400 mg/dL durante todo el tratamiento, con pequeñas variaciones, más que un error en los tratamientos se trata de una señal que indica el desarrollo de la diabetes.

La administración de STZ, eleva las concentraciones de glucosa, como se observa en la Figura 13. La STZ es un agente diabetogénico y es utilizado para inducir DM en animales experimentales (Like y Rossini, 1976). La STZ se absorbe por las células β del páncreas a través de GLUT2 (transportador de glucosa). La STZ alquila al DNA por la fracción nitrosoarea induciendo la muerte de las células β (productoras de insulina). La STZ producen ROS y NO (especies reactivas) y pueden participar en la fragmentación del DNA (Eidi y Eidi., 2009). De tal manera que la alquilación del DNA y la producción de especies reactivas, fragmentan las células β del páncreas (productoras de insulina), provocando deficiencia en la secreción de insulina y por consiguiente el aumento de la concentración de glucosa en sangre (Szkudelski, 2001).

Por otra parte, el lote STZ/EH mostró concentraciones que oscilaron entre 350-416 mg/dL (Fig. 13A), el comportamiento de este lote no presentó diferencia significativa con respecto al lote STZ, lo que sugiere que el EH por sí solo no ejerce un efecto sobre las concentraciones de glucosa.

El lote control (Fig.13A) mantuvo niveles de glucosa normales durante el tratamiento (85-100 mg/dL) que comparados con el lote C/EH, éste presentó una tendencia similar que el lote C, ya que las concentraciones de glucosa oscilaron entre 89-104 mg/dL. En la Fig. 13B se observa que no hay diferencia significativa entre los lotes C y C/EH, al finalizar el tratamiento estos grupos tienen concentraciones de 99.5 mg/dL y 94 mg/dL respectivamente. Lo que indica que la administración del EH en el grupo control (Lote C/EH) no ejerce un efecto hipoglucemiante sobre la concentración de glucosa en individuos sanos considerando que mantienen una dieta normal.

Por otra parte, en el grupo diabético tratado con I.I (STZ/I.I) (Fig. 19A) la concentración de glucosa oscila entre 250-495 mg/dL. La I.I es una suspensión sintetizada de una cepa especial no patógena de *Escherichia coli*, modificada genéticamente mediante la adición de un gen humano y como actividad principal es la regulación del metabolismo de la glucosa, reducir el riesgo de complicaciones a largo plazo ocasionados por la hiperglucemia (Yale, 2004; PLM, 2009; Conall y Dinneen, 2010; Didangelos e Iliadis, 2011).

Se observa que al administrar I.I se disminuyen los niveles de glucosa con respecto al lote diabético (STZ). Al finalizar el tratamiento, en la Fig. 19B, el lote STZ/I.I presenta una concentración de glucosa de 258.5 mg/dL mientras que el lote STZ tiene una concentración de 408 mg/dL, sin embargo, el lote STZ/I.I presenta algunas variaciones durante el seguimiento de glucosa. Es posible que estas variaciones se deban al tiempo de actividad de la insulina (6-12 h), pues el inicio de acción es más lento pero su actividad es más prolongada,

En el lote STZ/I.I/EH (Fig. 19A) durante el seguimiento de la concentración de glucosa, las concentraciones se mantienen similares a partir de la semana 7 hasta finalizar el tratamiento, sin embargo, el lote STZ/I.I/EH (284 mg/dL) no presenta diferencia significativa como se observa en Figura 19B con respecto al lote STZ/I.I de concentración de 258.5 mg/dL, lo que indica que la administración del EH en el grupo diabético no disminuye las concentraciones de glucosa. El EH no ejerce un efecto hipoglucemiante.

El EH puede contener algunas propiedades que pudieran fungir como hipoglucemiantes, sin embargo, aparentemente no disminuyeron las concentraciones de glucosa al administrarse con I.I. El EH contiene distintas plantas como Guayaba, hormiguillo, Ámula de Monterrey y de las cuales se han reportado efectos en la DM sin embargo se desconoce el mecanismo.

Los niveles de glucosa, no disminuyeron considerando que a pesar de la administración de insulina, no simula completamente la secreción en un individuo sano. Además de que también pudiera influir la vía de administración tanto del EH como la vía de la insulina. La administración por vía oral tiene la desventaja de que haya inactivación a nivel del hígado (Flórez, 2008).

Por otra parte, algunos componentes que contiene el EH como lo son algunos antioxidantes y en particular ácido clorogénico, cuya función aparente es regular la hemoglobina glicosilada pudiera apoyar en la disminución de las concentraciones de glucosa.

En la Fig. 27A se observan las concentraciones de glucosa de los lotes STZ/I.I y STZ/I.R/EH durante las semanas de tratamiento, a los grupos diabéticos (STZ/I.R) se les administró insulina de acción rápida (I.R) para evaluar el efecto del EH.

El lote STZ/I.R presenta concentraciones de glucosa que oscilan entre 211-333 mg/dL con variaciones durante el tratamiento. La I.R consiste en cristales de insulina de zinc disueltos en un líquido transparente, por lo que su velocidad y duración no están modificadas, produce un efecto con rapidez y su duración es relativamente corta (6-8H) a diferencia de I.I (PLM, 2009). Las variaciones presentes durante el tratamiento pueden ser debido al efecto rápido de la I.R, por lo que no mantiene completamente el control de la glicemia. La acción de la I.R comienza en las primeras horas de ser administrada y el tiempo en circulación en sangre es más breve que la acción de I.I.

El tiempo que tarda la acción de la insulina depende de cada individuo y en ocasiones la acción de la I.I requiere de la administración de I.R para que durante la noche no haya episodios de hiperglucemia, sin embargo se consideró que la administración del EH podía ejercer un efecto en el que no existiera la necesidad de la administración de insulina de acción rápida.

En este caso, las concentraciones de glucosa, disminuyeron estadísticamente significativa. Aparentemente se observa un efecto del EH en individuos diabéticos y administrados con I.R, este efecto que como se mencionó anteriormente pudiera contener algunos componentes que funcionan como inhibidores de la translocasa de la glucosa-6-fosfato. La orientación de la gluconeogénesis y glucogenólisis con un inhibidos de la glucosa-6-fosfato lo que haría en una reducción de la producción de glucosa hepática. Otra posibilidad por la que pudiera considerarse el efecto, es el tiempo de acción en la que posiblemente actúa tanto el EH como la I.R, ya que este componente que posiblemente se encuentre en el EH, se debe a que actúa dentro de las primeras 5H de la administración (Andrade y Heinrich, 2005), es por eso que la acción sea más próxima cuando la insulina rápida está actuando. En cambio la acción de la insulina intermedia es más tardía en su efecto.

Por otro lado, la administración del EH junto con I.R (grupo STZ/I.R/EH), se observó una disminución significativa en las concentraciones de glucosa (Fig. 27 A), las cuales presentaron una tendencia similar con respecto a las concentraciones del lote control (C). En este caso, los resultados nos indican que la administración del EH junto con la I.R. produjo efectos favorecedores sobre las concentraciones de glucosa.

En la Figura 33 se observa las concentraciones de glucosa de los lotes tratados con AG ω -3. Los lotes control (C y C/AG ω -3) no presentaron diferencias significativas, por lo que al administrar AG ω -3 en individuos sanos no genera aumento sobre las concentraciones de glucosa. Los AG ω -3 son considerados ácidos grasos poliinsaturados esenciales y contribuyen en distintas funciones, principalmente en procesos antiinflamatorios, siendo ácidos grasos esenciales el organismo no es capaz de sintetizarlos por sí mismo y por tanto requieren ser consumidos a través de algunos vegetales y alimentos marinos (Mataix, 2004).

En la Fig. 33, se observan que los niveles de glucosa en el lote C/AG ω -3 no presentan una diferencia significativa con respecto al lote C, de tal manera que la administración de AG ω -3 no genera un efecto sobre la concentración de glucosa en individuos sanos.

Por otra parte, (Fig. 33A) el lote STZ/AG ω -3 (Fig. 32 A), presenta una disminución significativa al final del tratamiento cuya concentración es de 128 mg/dL con respecto al lote STZ (408 mg/dL), la administración de los AG disminuyen la concentración de glucosa en individuos diabéticos, ya que actúan los PPARs (Receptores Activadores del Proliferador de Peroxisomas) son receptores nucleares que pertenecen a la familia de factores de transcripción involucrados en la regulación de la homeostasis de los lípidos y en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa (Rodríguez-Cruz y col., 2005).

VI.1.2. Colesterol

En la Fig. 14A se muestra el seguimiento de los lotes control (C y C/EH), los cuales no presentan diferencia significativa (Fig. 13B), por lo que la administración del EH no disminuye la concentración de colesterol en individuos sanos.

En la fig. 13A los lotes STZ y STZ/EH presentaron valores basales de 150 y 157 mg/dL de colesterol respectivamente; después de la inducción con STZ las concentraciones de colesterol aumentaron, éstos resultados nos sugieren que la STZ aumenta los niveles de colesterol, cuando se presenta un modelo de diabetes aumenta la lipólisis.

El lote STZ/EH se observa una diferencia significativa en la concentración de colesterol, estas concentraciones disminuyeron al administrar el EH; de acuerdo a los resultados anteriores, la disminución de las concentraciones de colesterol puede ser por la presencia de taninos, algunos fitoesteroles y terpenos.

Los fitoesteroles son sustancias disueltas en grasa, considerados el principal nutriente hipocolesterolémico, pueden proteger el sistema cardiovascular, al inhibir la absorción intestinal del colesterol, tanto el contenido en una dieta como el biliar, sin modificar los niveles de las HDL; impide la re esterificación del colesterol a nivel de la actividad de la acetil-colesterol-acil transferasa (ACAT); aumentan la actividad y la expresión del transportador tipo ABC (transportadores de membrana dependientes de ATP) al acelerar el flujo de colesterol desde las células intestinales al lumen intestinal (Martínez y col., 2011).

El escualeno, un terpeno hipocolesterolémico, puede reducir colesterol esterificado, mediante la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LBD) en sangre (Martínez y col., 2011).

Por otra parte, en la Figura 20 se observa la concentración de colesterol de los lotes STZ, STZ/EH, STZ/I.I y STZ/I.I/EH, éstos presentan una tendencia similar.

Al finalizar el tratamiento (Fig. 20B) se muestra que los lotes administrados con I.I no presentan una diferencia significativa sobre la concentración de colesterol, lo que indica que la acción de I.I no fue capaz de disminuir las concentraciones de colesterol, aun cuando presenta una concentración de 162.5 mg/dL (Lote STZ/I.I) con respecto al lote STZ (176,5 mg.dL).

Las insulinas de acción intermedia tienen un perfil de acción demasiado corto que obliga la administración de varias veces al día. A este problema se le añade una gran variabilidad de absorción y acción que dificultan el adecuado manejo en la administración. El aumento de la glucosa no inhibe la lipólisis, eleva los ácidos grasos y el glicerol en el plasma (González y col. 1999; Calvo y col., 2005). Por lo que, la falta de administración de insulina durante la etapa nocturna, impide que se cubran las necesidades que demanda el aumento de la glucosa, ocasionando que en ausencia de insulina, aumenta la lipólisis.

En la Fig. 20B, se observa que al administrar el EH, no hay una diferencia significativa con respecto al lote STZ/I.I, como se mencionó anteriormente, hay una variabilidad de absorción, ocasionando que la disminución de las concentraciones de colesterol no sea significativa, sin embargo se observa que al comparar los lotes STZ y STZ/I.I/EH, en el lote STZ/I.I/EH disminuyen las concentraciones de colesterol, corroborando que los niveles de colesterol disminuyen en presencia de taninos, cuyos componentes se encuentran en el EH.

En la Fig. 28B se observa la diferencia significativa que hay en el lote STZ/I.R así como en el lote STZ/I.R/EH con respecto al grupo STZ, sin embargo el lote STZ/I.R/EH de concentración 152 mg/dL no presenta diferencia con respecto al lote STZ/EH (158.5 mg/dL), lo que sugiere que el EH funciona por sí solo en la disminución de colesterol, pero no tiene mayor efecto al administrar con I.R. La insulina rápida, tiene un efecto rápido y corto, logra disminuir las concentraciones de colesterol.

En los lotes administrados con AG ω -3 (Fig.35B) no hay diferencia significativa con respecto a los lotes control (C y C/AG ω -3).

Las concentraciones de colesterol en una DM suelen estar elevados, ya que la lipólisis está aumentada cuando hay ausencia de insulina. Así como se observa en la Figura 35B, sin embargo al administrar los AG ω -3 hay una disminución sobre las concentraciones de colesterol durante las semanas de tratamiento. Este efecto producido por los AG ω -3 se debe a que una proteína conocida como Receptor Activado de la Proliferación de Peroxisomas (PPAR) participa en la regulación que se expresa en los hepatocitos, cardiomiocitos y otros, esta proteína es requerida para que los ácidos grasos expresen su función en los procesos genéticos y participa en una extensa red de genes que regulan el metabolismo de lípidos y en la diferenciación de los adipocitos (Coronado y col., 2006).

VI.1.3. Triacilglicéridos

En la DM1 las concentraciones de triacilglicéridos se elevan debido a que la deficiencia de insulina, en el tejido adiposo, no tiene lugar la lipólisis y como consecuencia se elevan los ácidos grasos y glicerol en el plasma. Los ácidos grasos se utilizan en el músculo para la producción de energía,

mientras que en el hígado se utilizan para la síntesis de cuerpos cetónicos, con lo aparece cetosis y cetonuria. Además se puede de producir un acúmulo de triacilglicéridos en el hígado (González y col., 1999). De acuerdo a lo anterior, la elevación de los triacilglicéridos es por la ausencia de insulina, como se observa en la Figura 15 el lote STZ, presenta una elevación en las concentraciones de triacilglicéridos mayor a diferencia de los lotes C, C/EH y STZ/EH, esta respuesta puede ser consecuencia de la hiperglucemia (Elberry y col., 2011).

Los lotes Control (C y C/EH), presentan una tendencia similar en las concentraciones de triacilglicéridos. Lo que indica que al administrar el EH en individuos sanos, no causa una disminución en las concentraciones de triacilglicéridos, sin embargo el lote STZ/EH presenta una disminución similar a los lotes control, lo que indica que la actividad del EH puede ser el resultado de varios flavonoides que posiblemente estén presentes y ayudan a disminuir los niveles de colesterol y triacilglicéridos en la sangre mediante una modulación de su metabolismo y una mayor excreción del mismo. Este efecto es provocado por el incremento de la actividad de enzimas de lecitina colesterol aciltransferasa (LCAT), enzima presente en la superficie de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (González-Lavaut y col., 2007).

En la Fig. 22 se muestra las concentraciones de triacilglicéridos de los lotes tratados con I.I y se observa que durante el seguimiento (Fig. 22A) los lotes STZ/I.I, STZ/EH/I.I, presentan una tendencia similar en la concentración de triacilglicéridos (entre 70-150 mg/dL).

Al finalizar el tratamiento los lotes tratados con STZ/I.I y STZ/I.I/EH presentaron una disminución de triacilglicéridos, ya que la administración de I.I tiene una respuesta sobre los efectos en los parámetros bioquímicos como lo son los triacilglicéridos. Esta respuesta nos sugiere que la I.I responde adecuadamente, ya que inhibe la lipólisis en el tejido adiposo, posiblemente por activación de la fosfodiesterasa, que hidroliza el AMP cíclico. Esta inhibición disminuye la liberación de glicerol y ácidos grasos. Por el contrario, la insulina estimula la síntesis de ácidos grasos y triacilglicéridos en el tejido adiposo y el hígado (González y col., 1999), sin embargo al administrar del EH no ejerce un efecto potenciador sobre la disminución en las concentraciones de triacilglicéridos.

Por otra parte en la Fig. 29, los lotes administrados con I.R (STZ/I.R y STZ/I.R/EH) se encuentran con concentraciones de triacilglicéridos menores que el lote STZ, lo que indica que la insulina influye en la inhibición de la lipólisis como consecuencia de la regulación de la glicemia en individuos diabéticos. El lote STZ/I.R/EH presenta una tendencia similar al lote STZ/I.R, por lo tanto no hay un efecto potenciador sobre la disminución de las concentraciones de triacilglicéridos.

La composición del EH, como son los flavonoides actúan como potentes quelantes de metales, forman complejos con los radicales libre y como antioxidantes que rompen cadena, es decir, que finalizan la cadena de formación de especies pro-oxidantes mediante la donación o aceptación tanto de un átomo de hidrógeno como un electrón, sin embargo las funciones que ejerce no disminuye significativamente sobre las concentraciones de triacilglicéridos. Probablemente a que las cantidades en las que se encuentra cada uno de los componentes del EH no son lo suficientes para generar un impacto mayor (Tenorio y col., 2006).

En la Fig. 36B se observa que hay una diferencia significativa entre los lotes C/AG ω -3 y STZ/AG ω -3, si bien se conoce acerca de los beneficios que tienen los AG ω -3, ya son agonistas débiles del receptor (PPAR), cuando se comparan con agonistas farmacológicos, los AG ω -3 tienen efecto significativo en la sensibilidad a la insulina en varios tejidos sobre todo del músculo esquelético.

Los efectos de los receptores PPAR en el metabolismo van desde la proliferación peroxisomal, la oxidación aumentada de ácidos grasos y la disminución de niveles de triacilgliceroles plasmáticos.

VI.1.4. Transaminasas (TGO y TGP)

En diabetes las concentraciones de transaminasas se encuentran elevadas por una posible inflamación del hígado.

La Fig. 16 se muestran las concentraciones de TGO y TGP al final del tratamiento de los lotes C, C/EH, STZ y STZ/EH. El lote C/EH tiene un aumento significativo en la determinación de TGO comparado con el lote C, por lo que nos indica una posible alteración en las enzimas cardíacas o del músculo esquelético.

El lote STZ muestra concentraciones elevadas de transaminasas con respecto a su control. En diabetes las concentraciones de transaminasas se encuentran elevadas por una posible inflamación del hígado. El lote STZ/EH tiene valores altos de transaminasas por lo que el EH no favorece en la disminución de los niveles de las enzimas (TGO y TGP).

Para explicar la elevación de éstos parámetros se menciona lo siguiente: El hígado es considerado como el órgano metabólico central del cuerpo, mantiene la homeostasis de la glucosa y los lípidos. Las enzimas TGO y TGP están asociadas directamente con la conversión de aminoácidos a cetoácidos, el aumento de éstas enzimas indican una disfunción hepática (Ohgo y col., 2008) o podrían ser predictores significativos del síndrome metabólico y/o acumulación de grasa visceral (Ohgo y col., 2008).

Para los lotes con STZ/I.R./EH (Fig. 30) se observa que los parámetros de TGP y TGP presentan una elevación, corroborando que hay posibilidad de daño hepático, Cuando existen cambios en la concentración de glucosa y la insulina en la sangre, estas concentraciones reflejan las anormalidades en función de las células β (Szkudelski, 2001).

La insulina de acción rápida comienza su efecto dentro de los primeros 15 min y un efecto máximo de 30-70 min (Flórez, 2008), por tanto cuando la insulina se administra disminuye la gluconeogénesis aumentando la replicación del DNA y la síntesis de proteínas (Chauhan y Singh, 2010).

El EH genera efectos sobre la concentración de los parámetros bioquímicos e histológicos, sin embargo no actúa como un potenciador de la acción de I.R. Posiblemente esta disminución se

ejercida por los flavonoides, ya que retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos, éstos bloquean la acción letal de dichas sustancias sobre las células. Sus efectos citoprotectores son, por ejemplo, fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetasa. Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la autooxidación de los homogeneizados de cerebro. Asimismo, se ha comprobado su potente capacidad de inhibir *in vitro* la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) por los macrófagos y reducir la citotoxicidad de las LDL oxidadas (Flores y col., 2002).

De manera natural al consumir los flavonoides (contenidos en distintos frutos) la biotransformación de los flavonoides se lleva a cabo en el hígado (exponen grupos polares) y en el colon (degrada los flavonoides no absorbidos) que son conjugados con glicina, ácido glucorónico y sulfatos (Escamilla y col., 2009). La ruta por la cual se metabolizaron; pues si un flavonoide sólo es glucorinado se excreta por vía renal (como la catequina), pero si es metilado y sulfatado será excretado por la vía hepática (como la quercetina) (Escamilla y col., 2009). Los Flavonoides poseen propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antialérgicas, hepatoprotectoras, antitrombóticas, antivirales y anticarcinogénicas (Tenorio y col., 2006).

La combinación de propiedades antioxidantes, antiagregantes plaquetarios y vasodiladores. La quercetina como metabolitos metilados de ésta, ejercen efectos antihipertensivos y reducen la hipertrofia del ventrículo izquierdo, la disfunción endotelial y mejoran el estatus oxidativo plasmático y hepático (Tenorio y col., 2006).

En la Figura 37 se muestra que el efecto de los AG ω -3 tiene una tendencia similar con respecto al lote C, los AG ω -3 es un suplemento alimenticio que posee efectos sobre las células inflamatorias, parecen estar mediados por o al menos asociados con cambios en la composición de ácidos grasos de las membranas celulares. Los cambios en estas composiciones puede modificar la fluidez de la membrana, la formación de balsas de lípidos, la señalización celular que conduce a la expresión de genes alterados, y el patrón de lípidos y la producción de mediadores peptídicos.

VI.1.5. Bilirrubinas (BD y BT)

En la Figura 17, se muestran las concentraciones de lotes control (C y C/EH), tomando como referencia la elevación de absorción del lote STZ es mayor, partiendo de que presenta daño a nivel hepático, la STZ genera especies reactivas, las cuales generan daño en las células hepáticas. Las alteraciones en la producción de la bilirrubina, en la captación o la conjugación provocan elevaciones de los niveles séricos de bilirrubina no conjugada (BI); mientras que las alteraciones en la excreción biliar cursan con elevaciones de la bilirrubina conjugada (BD) y permiten que la bilirrubina pueda pasar a la orina (urobilinógeno).

Las hiperbilirrubinemias son trastornos que pueden cursar con un síndrome icterico. La elevación de la bilirrubina depende de la BI o BD.

El lote C/EH presenta una concentración menor de BD, lo que probablemente este lote no presente un trastorno, ya que el EH no ejerce un efecto sobre individuos sanos. El lote STZ presenta una elevación significativa en BD, lo que cursa de un cuadro similar al caso anterior.

Por otra parte el lote STZ/EH, presenta valores altos en BT (Tabla 12) lo que sugiere un trastorno prehepático, lo que probablemente es debido a una destrucción de eritrocitos, ya que el EH contiene saponinas, y éstas presumen de una actividad hemolítica, de acuerdo a su estructura, sin embargo, cuando la administración es por vía oral su toxicidad disminuye (Kuklinski, 2003),

El lote STZ/I.R/EH tiene una concentración de BT de 0.07 mg/dL es similar al lote control, lo que indicaría que ejerce un efecto al administrar I.R. La insulina no es capaz de contrarrestar los daños ocasionados por la administración de STZ, sin embargo es capaz de reducir las complicaciones que se generan en una diabetes.

El lote C/AG ω -3 comparado con los datos de transaminasas y bilirrubinas (Figuras 37 y 38) se encuentran elevados, con daño a nivel renal y hepático, puesto que se observa una degeneración albuminosa en ambos órganos. Lo que implica que el suplemento no modifica la concentración de glucosa, colesterol y triacilglicéridos; sin embargo puede generar posibles efectos, considerando que se trata de individuos sanos.

La glucosa circulante en exceso, provoca daño en órganos vitales (hígado, páncreas y riñón), tal como se muestra en la figura 15, donde se observa una degeneración albuminosa en hígado y riñón, al administrar el suplemento, éste detiene el daño como se observa en el lote STZ.

El efecto específico de los AG ω -3 es probable a nivel de la liberación de insulina de los islotes. Los efectos metabólicos de la insulina y el número de receptores de insulina se redujeron en los adipocitos del grupo con AG ω -3, el aumento de la sensibilidad supone que ocurre en los músculos y / o del hígado (Fickova y col., 2007).

La ingestión de EPA y DHA conduce a la 1) disminución de producción de los metabolitos de la prostaglandina E2, 2) disminución de las concentraciones de tromboxano A2, un agregador de plaquetas y la vasoconstricción potente Tor-, 3) disminución en la formación de leucotrieno B4, un inductor de la inflamación - información y un inductor potente de la quimiotaxis de leucocitos 4) aumento de las concentraciones de tromboxano A3, la debilidad de placa que agregador y vasoconstrictor, 5) aumento de las concentraciones de PGI3 prostaciclina, y 6) aumento de las concentraciones de leucotrieno B5, un inductor débil de la inflamación y el agente quimiotáctico (Simopoulos, 2006).

VI.1.6. Histología de los órganos hígado, riñón y páncreas

Al término del tratamiento, se realizó la extracción de algunos órganos para analizar el impacto que se ejerce al administrar tanto las insulinas rápida e intermedia como el EH. Se observó que no hubo efectos en los lotes control, como se observa en la Figura 18. Por otra parte se observa que los lotes tratados con STZ, presentaron algunas patologías como degeneración albuminosa

(hígado) y atrofia y necrosis (páncreas), estas lesiones son esclerosis glomerular (riñón). La degeneración albuminosa se debe a que la célula que se encuentra limitada en su aporte de oxígeno, ocurre un bloqueo de la fosforilación oxidativa. Por tanto los niveles intracelulares de ATP descienden rápidamente, además como el ATP existente se agota, se incrementa el nivel de fósforo inorgánico (Pi). Estos cambios activan la glucólisis anaeróbica, como una fuente alterna al proceso de producción de energía, por tanto se reducen los niveles de glucógeno celular.

Por otra parte la necrosis y atrofia son lesiones a nivel celular que pueden ser mortales en los tejidos de un individuo (necrosis), además de que se acompaña de alteraciones bioquímicas y estructurales que son irreversibles (Figura 18). Por otra parte, la atrofia es la disminución en el tamaño de un tejido o un órgano causado por la reducción de citoplasma y en número de organelos citoplasmáticos (Parakrama y Clive, 1994), estos daños son ocasionados por la STZ ya que es una sustancia citotóxica que actúa a nivel celular, además de que actúa en la membrana celular.

Tanto en la administración de I.I (Figura 25) como I.R (Figura 32), las insulinas no son capaces de regenerar el daño en los órganos sin embargo apoyan en reducir las complicaciones generadas por esos daños.

VII. CONCLUSIONES

La Estreptozotocina ha demostrado ser un agente eficaz en la inducción de la Diabetes, ya a que la concentración utilizada (60 mg/dL) se generó un modelo experimental de Diabetes Mellitus Tipo 1, ya a que a las 48 horas posteriores a la administración, se elevó drásticamente la concentración de glucosa (300 mg/dL), cabe mencionar que la administración de Estreptozotocina también dependerá de la sensibilidad según la especie animal, el sexo, la edad y el estado nutricional (Balibrea y Díaz, 2007). Se conoce que a una única dosis de Estreptozotocina puede inducir diabetes debido a su efecto tóxico. Durante el tratamiento se observó un incremento de la concentración de glucosa manteniéndose constante, así como la elevación de otros parámetros como colesterol, triacilglicéridos, transaminasas, bilirrubinas y un daño en los órganos evaluados (hígado, riñón y páncreas), complicaciones características de la diabetes.

El Extracto Herbolario no presentó efectos benéficos sobre todos los parámetros evaluados (fisiológicos, nutricionales, bioquímicos, enzimáticos y análisis histopatológicos), tanto en individuos sanos como en individuos diabéticos, sin embargo, se observó una disminución significativa sobre las concentraciones de colesterol y triacilglicéridos en individuos diabéticos. Lo que sugiere que posiblemente alguno de los componentes contenidos en el Extracto Herbolario, como lo son los taninos, fitoesteroles y terpenos, pudieran ejercer tal efecto. En este sentido se requiere de investigaciones futuras que deben establecer cual o cuáles son los componentes específicos que logran la disminución de colesterol y triacilglicéridos.

El efecto del Extracto Herbolario con tratamiento de Insulina de Acción Intermedia no presentó una disminución en los parámetros bioquímicos evaluados, lo que sugiere que el extracto Herbolario no ejerce un efecto benéfico, ya que se observa que en la determinación de perfil hepático (transaminasas y bilirrubinas) hay un incremento en éstos parámetros, siendo así un posible efecto adverso del Extracto Herbolario.

Por otra parte, la administración de Insulina de Acción Rápida junto con el Extracto Herbolario, presentó una disminución de la concentración de glucosa, transaminasas (TGO y TGP) y Bilirrubinas (BD y BT). Estos efectos pudieran estar relacionados con su actividad antioxidante, asociada a las saponinas, taninos y flavonoides, o bien que estos componentes pudieran trabajar a nivel receptor. Teóricamente conocemos que algunos componentes como los taninos, las saponinas, flavonoides y fitoesteroles pueden intervenir en la disminución de ciertos parámetros bioquímicos y están relacionados con algunas rutas metabólicas, también se conoce que su acción puede depender de la vía en que sean administrados. Siguiendo lo anterior, se observó que la acción o efecto del Extracto Herbolario depende del tipo de insulina que se utilice, además de que en próximas investigaciones sea conveniente considerar la vía de administración y la forma farmacéutica.

La administración con ácidos grasos Omega 3, sugieren un efecto benéfico sobre los parámetros bioquímicos y enzimáticos, por lo que en investigaciones más avanzadas, permita la aplicación como complemento en el tratamiento y/o prevención de patologías como la Diabetes Mellitus.

VIII. GLOSARIO

Cetoacidosis: Acidosis acompañada de acumulación de cetonas en el organismo como resultado de un metabolismo defectuoso de los carbohidratos. Se produce principalmente como complicación de la Diabetes Mellitus, y se caracteriza por el olor afrutado de la acetona en el aliento, confusión mental, disnea, náusea, vómitos, deshidratación, pérdida de peso y si no se trata, coma.

Citólisis: Destrucción o ruptura de una célula viva, fundamentalmente por la desintegración de su membrana plasmática.

Colecistoquinina: Hormona secretada por la mucosa de las primeras porciones del intestino que estimula la contracción de la vesícula biliar y la secreción de enzimas pancreáticas.

Etnobotánico: Estudio de las relaciones entre los seres humanos y los vegetales. Su principal objetivo son los conocimientos sobre plantas y sus utilidades en la cultura popular tradicional.

Euglucémico: Proporción normal de glucosa en sangre.

Exocitosis: 1 Liberación por parte de una célula de partículas que son demasiado grandes. 2 Agregación de leucocitos migratoria en la epidermis como parte de una respuesta inflamatoria.

Flavonoides: Se encuentran en estado libre como heterosídico, constituyen del grupo más amplio de los fenoles naturales. Se conocen más de 2000 de éstos compuestos y solo 500 se encuentran en estado libre.

Gastrina: Hormona polipeptídica segregada por la mucosa pilórica que estimula el flujo de jugo gástrico y contribuye a estimular la secreción de bilis y de enzimas pancreáticas.

Glucogenólisis: Descomposición del glucógeno en glucosa.

Gluconeogénesis: Formación de glucógeno a partir de ácidos grasos y proteínas, en lugar de carbohidratos.

HLA: Proteínas de la superficie celular, producidas por los loci de histocompatibilidad, implicadas en la aceptación o en el rechazo de injertos y de trasplantes de tejidos y de órganos.

Homeostasia: Equilibrio relativo en el medio interno del cuerpo, manteniendo de manera natural mediante respuestas adaptativas que promueven la conservación de la salud. Diversos mecanismos sensoriales, de retroalimentación y de control actúan para mantener este estado constante. Algunas de las funciones contraladas por mecanismos homeostáticos son los latidos cardiacos, la hematopoyesis, la tensión arterial, la temperatura corporal, el equilibrio electrolítico, la respiración y la secreción glandular.

Insulinopenia: Deficiencia de Insulina en el páncreas.

Polidipsia: Sed excesiva; hidromanía; anadipsia.

Polifagia: Hambre voraz o excesiva.

Taninos: Sustancia detectable cualitativamente mediante un ensayo de curtido y se determina cuantitativamente por su absorción sobre un polvo de piel estándar. La mayoría de los taninos verdaderos poseen pesos moleculares de 1000 a 5000 aproximadamente, Derivan de un número importante de grupos fenólicos.

IX.BIBLIOGRAFÍA

- Abdulqader A, Alhaider; Hesham M, Korashy; Mohamed M, Sayed-Ahmed; Mohammed, Mobark; Hala Kfoury y Mahmoud A, Mansour. (2011). Metformin attenuates streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats through modulation of oxidative stress genes expression. *Chemico-Biological Interactions*. 192(3):233-242.
- Adsani, Al y Abdulla, Kholouda. (2011). Reasons for hospitalizations in adults with diabetes in Kuwait. *International Journal of Diabetes Mellitus*. 1-5 pp
- Afifi-Yazar FU, Kasabri V y Abu-Dahab R. (2011). Medicinal plants from Jordan in the treatment of diabetes: traditional uses vs. in vitro and in vivo evaluations part 2. *Planta Med*, 77(11):1210-1220 pp.
- Alpizar Salazar, Melchor. (2008). Guía para el manejo integral del paciente diabético. 3 ed. Editorial Alfil. México, D.F. 105-114 pp.
- Anania Frank y Parek Samir. (2007). Abnormal Lipid and Glucose metabolism in Obesity: Implications for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Gastroenterology*. 132(6): 2191-2207 pp.
- Andrade-Cetto, Adolfo y Heinrich Michael. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. (99): 325–348 pp.
- Battaglia Manuela y Roncarolo Maria. (2011). Immune intervention with T regulatory cell lessons and future perspectives for type 1 diabetes. *Seminars in Immunology*. 23(3):182-194 pp.
- Baynes J, Dominiczak M. (2006). *Bioquímica médica*. 2 ed. ELSEVIER. Madrid. España. 293-301 pp.
- Bell G, Kenneth Y. y Polonsky S. (2001). La diabetes y los defectos genéticamente programado en función de las células β . *Nature* (414): 788-791 pp.
- Bennik Jasper, B Janet, Heere B., Herrero Pilar, Lesniak D. y Srinivasan M. (2005). The effects of plasma insulin and glucose on myocardial blood flow in patients with type 1 Diabetes mellitus. *Journal of American College of Cardiology*. 45(1): 42-48 pp.
- Berg, Jeremy; Stryer, Lubert y Tymoczko, John. (2008). *Bioquímica*. Ed. Reverté. Barcelona. 617-642 pp.
- Bonner-Weir, Susan y Weir, Gordon. (2007). Un papel dominante de la glucosa en células β compensación de la resistencia a la insulina. Sección de Trasplante de islotes y Biología Celular, Centro de Diabetes Joslin, de Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, EE.UU.

- Braguinsky, Jorge. (2006). Síndrome metabólico...¿enfermedad metabólica? Una mirada abierta desde la clínica. Ed. ACINDES. Argentina 1-18 pp.
- Brunton, Laurence; Blumenthal, Donal; Buxton Ilain y Parker Keith (2008). Goodman and Gilman's manual of pharmaceutical basis of therapeutics. McGraw-Hill. USA.
- Brownlee, Michael. (2003). A radical explanation for glucose-induced β cell dysfunction. *Clin. Inv. Diabetes Research Center. Albert Einstein College of Medicine. New York, USA.* 112: 1788-1190 pp.
- Burgos Herrera, Luis; Díaz Hernández, Diana. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana?. *Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia.* 15(3): 179-189 pp.
- Calder, Philip. (2011). Fatty acids and inflammation: The cutting edge between food and pharma *European Journal of Pharmacology*, 668(1):50-58 pp.
- Callejas Chávez, Maritza. (2006). Flora Medicinal de San Cartolo Tutotepec, Hidalgo. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México. 1-172 pp.
- Castaño López M. A.; Díaz Portillo J., y Paredes Salido F. (2008). Bioquímica clínica de la patología en el laboratorio. Ed. ergon. Madrid. 105-109 pp.
- Castillo García, Encarna y Martínez Solís Isabel. (2007). Manual de Fitoterapia. Ed. Elsevier Masson. Barcelona, España. 119-120 pp.
- Charles Evans, William. (1991). Trease y Evans Farmacognosia. 13 ed. Ed. Interamericana McGraw-Hill. México. 743-747 pp.
- Chausmer, Arthur. (1998). Zinc, Insulin and Diabetes. *Endocrinology, Diabetes and Metabolism Section, Medical Service, VA Medical Center, and Department of Internal Medicine (Endocrinology and Metabolism), Louisiana State University School of Medicine at Shreveport, Louisiana* 17(2):109,15 pp.
- Chen, N. Unnikrishnan I. R.; Anjana RM.; Mohan V y Pitchumoni, CS. (2011). The Complex Exocrine: Endocrine Relationship and Secondary Diabetes in Exocrine Pancreatic Disorders. *45(10):850-61pp.*
- Chicco, Adriana y Lombardo, Yolando. (2006). Effects of dietary polyunsaturated n-3 fatty acids on dyslipidemia and insulin resistance in rodents and humans. *Journal of Nutritional Biochemistry.* Argentina (17):1-13 pp.
- Conall, Dennedy; Michael, Dinneen y Sean F. (2010). Management of type 1 diabetes mellitus. *Medicine.* 38 (11): 610-617 pp.

- Colás Gil, Jaume. (1996). Diccionario de Botánica y Zoología. Gran Vox, Barcelona, España. 410-412 pp.
- Contreras S, Carmen. (2004). Diabetes Mellitus. 2 ed. Ed. Mediterráneo. Chile. 162-183 pp.
- Covarrubias R, María Elena y Ortega Muñoz, Karen. (2002). Informe de Residencia. Ácidos grasos omega 3 y omega 6. Tesis. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía. Santiago de Chile.
- Cox, Michael y Nelson, David. (2009). Lehninger Principles of Biochemistry. 5 ed. Ed. Freeman and Company. USA. 527-563 pp.
- Díaz Arce, Dariel. (2006). Hiperglicemia y estrés oxidativo en el paciente diabético. Revista Cubana Investigación Biomédica. 25(3):1-12 pp.
- Díaz Hernández, Diana P y Burgos Herrera Luis C. (2002). ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular? .IATREIA. Universidad de Antioquia. 15(3):172-189 pp.
- Didangelos, T e Iliadis F. (2011). Insulin pump therapy in adults. Diabetes Research and Clinical Practice, 93(1):109-113 pp.
- Domingo, J.C; Mach N y Rueda F. (2011). Efectos de los ácidos grasos omega 3 y otros suplementos alimenticios en procesos patológicos relacionados con la tercera edad. Revista Española de Nutrición Humana y Dietética 15(1): 20-29 pp.
- Dorantes Cuéllar, A; Martínez Sibaja, C.y Guzmán Blanno, A. (2008). Endocrinología clínica. 3 ed. El manual moderno. México. 377 pp.
- Eidi, Akram y Eidi, Maryam. (2009). Antidiabetic effects of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews 3. Iran. 40-44 pp.
- Escobar Jiménez, Fernando y Tebár Massó, Javier. (2009). La diabetes mellitus en la práctica clínica. España. Médica Panamericana. 19-29 pp.
- Esteva de Sagrera, Juan. (2005). Historia de la Farmacia. Los medicamentos, la riqueza y el bienestar. Ed. Masson. España.
- Fernández Acénero M. y Sales Martínez M. (2005). Diccionario Mosby Pocket de Medicina, enfermería y ciencias de la salud. 4 ed. Mosby ELSEVIER, Madrid, España. 251-268, 289, 511-561, 638-654 pp.
- Ferreira V, Arturo, Afani S., Alejandro; Lanza B., Paola; Aguilar G, Juan Carlos y Sepúlveda C, Cecilia. (2005). Inmunología Básica y Clínica. Ed. Mediterráneo. Chile. 35-50 pp.

- Figuerola, Daniel. (2003). Diabetes. 4a ed. Editorial. Masson. Barcelona, Española. 25-51 pp.
- Flores Lozano, Fernando; Cabeza de Flores Ángeles y Calarco Zaccari, Elena. (2007). Endocrinología. 5 ed. Méndez Editores. México. 392-410, 700 pp.
- Flórez, Jesús. (2008). Farmacología humana. 5 ed. Ed. ELSEVIER. España.
- Fuentes Santoyo, Rogelio. (2006). Anatomía, fisiología y ciencias de la salud. Trillas. México 160-161 pp.
- García V, Soto C.; J. Pérez, E.; Uría, M. y Vadillo, L. Raya. (2010). Effect of silymarin on kidneys of rats suffering from alloxan-induced diabetes mellitus. *Phytomedicine*, 17(14):1090-1094 pp.
- Gardner, David G y Shoback, Dolores. (2008). Endocrinología básica y clínica de Greenspan. 7 ed. El manual moderno. México. 694-710 pp.
- Gómez Pérez, Francisco J. y Aguilar Salinas, Carlos A. (2004). Diabetes. Actualidades Terapéuticas. Ed. Medicina y Mercadotecnia. México. 29pp.
- Gomís de Bárbara, Ramón. (2007). Tratado SED de diabetes mellitus. Bases moleculares, clínicas y tratamientos. Médica panamericana. Buenos Aires. 112-121 pp.
- González Chávez, Antonio; Lavallo González, Fernando y Ríos González José. (2004). Síndrome metabólico y enfermedad cardiovascular. Intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2, hipertensión arterial, obesidad, dislipidemia y resistencia a la insulina. Criterios clínicos aplicables a la práctica médica. Ed. Intersistemas. México. 23-40 pp.
- González, Marcela; Tapia, Gladys; Valenzuela, Alfonso; Valenzuela, Rodrigo. (2011). Ácidos Grasos omega 3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas. *Revista Chilena de Nutrición*. 30(3):356-367 pp.
- Greenwood, G.; Holness J.; Smith N. y Sugden M. (2003). Diabetogenic Impact of Long-Chain ω -3 Fatty Acids on Pancreatic β -Cell Function and the Regulation of Endogenous Glucose Production. Department of Diabetes and Metabolic Medicine. *Endocrinology*. USA. 144(9):3958–3968 pp.
- Griffin P., Rodgers. (2012). The National Diabetes Information Clearinghouse: Recuperado de www.diabetes.niddk.nih.gov
- Grimaldi, A., (2012). Polidipsia-poliuria. EMC - Tratado de Medicina, 16(2) 1-2 pp.
- Han Ping, He Bing, Lu Yan, Xia Fei, Zhang Yon-Yan, Zhang Wei. (2008). Effects of different free fatty acids on insulin resistance in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. China. 7(1): 91-96 pp.

- Herrera Saint-Leu, Patricia, Barrientos Fortes Tomás, Fuentes Santoyo Rogelio, Alva Rodríguez Mario. (2008). Anatomía Integral. Editorial Trillas. México. 1168pp.
- Islas Andrade, Sergio. Revilla Monsalvo, María C. (2005). Diabetes Mellitus. 3 ed. McGrawHill-Interamericana. México. 8 pp.
- Juscáfresco, Baudillo. (1995). Guía de la flora medicinal. Ed. AEDOS. España. 259pp.
- Kierszenbaum, Abraham. (2008). Histología y Biología celular. Introducción a la anatomía patológica. Ed. Elsevier. España. 559-561 pp.
- Keter, K. Lucía; Mutico C. Patrick. (2011). Ethnobotanical studies of medicinal plants used by Traditional Health Practitioners in the management of diabetes in Lower Eastern Province, Kenya Journal of Ethnopharmacology,
- Konrad Biesalski H.; Grimm, Peter. (2007). Nutrición texto y atlas. Médica Panamericana. Buenos Aires. Madrid. 58-69 pp.
- Kourtoglou G. (2011). Insulin therapy and exercise. Diabetes Research and Clinical Practice. 93(1):73-77 pp.
- Konigsberg Fainstein, Mina. (2008). Radicales libres y estrés oxidativo: aplicaciones médicas. Ed. El manual moderno. México. 304-314 pp.
- Kuklinski, Claudia. (2003). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega. Barcelona. 3-4 pp.
- Kumer Vinay, Abbas K. Abul, Fausto Nelson, Mitchell Richard N. (2008). Robbins Patología humana. 8 ed. Elsevier. España. 789-802 pp.
- Lahoz C, Alonso R, Ordovas J. M; López-Farré A.; Oya M, Mata P. (1997). Effects of dietary fat saturation on eicosanoid production, platelet aggregation and blood pressure. European Journal of Investigation 27:780.
- Lara-Esqueda A.; Márquez-Flores MF.; Huitrón-Bravo G.; Arriaga. Garduño T.; Martínez-Marroquín M, Muñoz-Pérez L. (2001). Detección integrada de diabetes e hipertensión arterial aplicada a la población mayor de 20 años de la localidad de San Cristóbal Huichochitlán, Estado de México. Revista de Endocrinología y Nutrición 8(4):136-142 pp.
- Lavin, Norman. (2003). Endocrinología y metabolismo. 5 ed. Marbán. España. 601-608 pp.
- LeRoith D, Taylor S. Olefsky J. (2003). Diabetes Mellitus: Texto básico y clínico. 2ª ed. McGraw Hill. México.

- Lopes Souto, D.; Paes de Miranda M. (2011). Physical exercises on glycemic control in type 1 diabetes mellitus. *Nutrition Hospital*. 26(3): 425-429 pp.
- López Velázquez, Jorge A. (2008). Efecto de la biotina en el desarrollo de la diabetes en un modelo experimental.
- Martínez Aguilar, Yordan; Martínez Yero, Orlando; Córdova López, Jesús; Valdivié, Manuel; Estarrón, Mirna. (2011). Phytosterols and squalene as hypocholesterolemic substances in five varieties of *Cucurbita maxima* and *Cucurbita moschata* (pumpkin) seeds. 16(1):72-81 pp.
- Martínez L, Sánchez L, Rodríguez A. (2002). Síndrome Metabólico. Facultad Calixto García. *Revista Cubana Endocrinol* (3):238-52 pp.
- Mataix, José, Gil Ángel. (2004). Libro blanco de los omega-3. Los ácidos grasos poliinsaturados omega 3 y monoinsaturados tipo oleico y su papel en la salud. Ed. Médica panamericana. España. 50-58 pp.
- Maroyi, Alfred. (2011). An ethnobotanical survey of medical plants used by the people in Nhema communal area, Zimbabwe *Journal of Ethnopharmacology* 136(2): 347-354 pp.
- Maureen, I. Harris. (2005). Definición y clasificación de la diabetes mellitus y criterios actuales para el diagnóstico. Ed. McGraw-Hill. Interamericana. México.
- McPhee, Stephen y Ganong, William F. (2007). Fisiopatología médica. Una introducción a la medicina clínica. 5 ed. El manual moderno. México 694-710 pp.
- Mendivil Anaya; Olimpo, Carlos; Sierra, Ariza y Darío, Iván. (2005). Acción insulínica y resistencia a la insulina: Aspectos moleculares. Vol. 53 No. 4 *Revista Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*. 235-242 pp.
- Mizutani, T. Yoshimoto, T. Kaneko, R. Ishii, A. (2011). Diagnosis of fulminant type 1 diabetes mellitus in an autopsy case with postmortem changes. *Legal Medicine*, 12(5): 250-253 pp.
- Nakamura K.; Minami K.; Tamura K.; Iemoto K.; Miki, T y Seino S. (2011). Pancreatic β -cells are generated by neogenesis from non- β -cells after birth. *Biomedical Research*. 32(2):167-174 pp.
- Nassif-Haddad Alfredo y Meriño-Ibarra Erardo. (2003). Ácidos grasos omega-3: pescados de carne azul y concentrados de aceites de pescado. Lo bueno y lo malo. *Revista Cubana de Medicina*. 42(2): 49-55 pp.
- Niswender, KD. (2011). Basal insulin: beyond glycemia. 123(4): 27-37 pp.

- Novo Nordisk, (2003). Introducción a la insulina. Keeping well with diabetes.USA. 2-13 pp.
- Organización Mundial de la Salud (2012). *Diabetes*. Recuperado de <http://www.who.int/features/factfiles/diabetes/es/>.
- Organización Mundial de la Salud. (2013). *Diabetes*. Recuperado de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>.
- Orozco Tapia, Rita Isabel. (2008). Efecto de los ácidos grasos omega 3 (FA- ω 3) y linoléico conjugado (CLA) en la Diabetes Mellitus 2 (DM2) en ratas wistar. Tesis.
- Osuna Torres Lidia; Tapia Pérez, María E. y Aguilar Contreras Abigail. (2005). Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales. Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Ed. Universitat de Barcelona. España. 108-112 pp.
- Palma, José-Alberto e Iriarte, Jorge. (2012). Appetite regulation: neuroendocrine basis and clinical approaches. *Medicina Clínica*. 139(2): 70-75 pp.
- Pardo de Santayana Manuel y Gómez Pellón Eloy. (2002). Ethnobotany: traditional management of plants and cultural heritage. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 60 (1): 171-182 pp.
- Peretta, Marcelo. (2005). Reingeniería farmacéutica. Principios y protocolos de la atención del paciente. 2 ed. Médica Panamericana, Buenos aires.
- Pérez G. Guerrero F. (2006). Ácidos grasos en la dieta. Diabetes mellitus e insulino resistencia. *Revista de la Facultad de Medicina Universidad Nacional de Colombia*. 54(2): 134-142 pp.
- Perlemuter L., Quevauvilliers J. (2004). Diccionario de Enfermería. Enciclopedia práctica. 2 ed. Masson. Barcelona. 181, 206, 635-636, 674 pp.
- PLM. (2009). Diccionario de especialidades farmacéuticas. Tomo1. PLM.Thompson. México.1812-1814 pp.
- Richardson, Arlan; Salmon, Adam B.; Styskal, JennaLynn y Van Remmen, Holly. (2011). Oxidative stress and diabetes: What can we learn about insulin resistance from antioxidant mutant mouse models? *Radical Biology and Medicine*, In Press, Uncorrected Proof.
- Río Pérez, Pedro; Lucena Marotta, Felipe; Alonso Osorio, Ma. José; Casamitjana Cucurella, Nuria y Granda Vega, Enrique. (2006). *Fitoguía. Terapia con plantas medicinales*. Ed. Eviscience. España.
- Robbers James E. y Tyler Varro F. (1999). *Las hierbas medicinales de Tyler. Uso terapéutico de las fitomedicinas*. Ed. Acribia. España.

- Rodríguez-Cruz M.; Tovar, A; del Prado, M y Torres N. (2005). Mecanismos moleculares de acción de los ácidos grasos poli-insaturados y sus beneficios para la salud. *Revista de investigación clínica* 57(3): 457-472 pp.
- Ross, Ivan. (2003). *Medicinal plant of the world: chemical constituents, traditional and modern medicinal uses*. 2 ed. Human Press. USA. 416-424 pp.
- Rubin, Emanuel; Gorstein, Fred; Rubin, Raphael; Schwarting, Roland y Strayer, David. (2006). *Patología Estructural. Fundamentos clinicopatológicos en medicina*. Ed. McGrawHill Interamericana. España. 1072-1080 pp.
- Rubio Cabezas Ó y Argente J. (2012). Diabetes mellitus: formas de presentación clínica y diagnóstico diferencial de la hiperglucemia en la infancia y adolescencia. *Anales de Pediatría*. Barcelona. 13-16 pp.
- Schünke, Michael; Schuller, Erick y Schumacher, Udo. (2006). *Prometheus Texto y atlas de anatomía*. Ed. Panamericana. Madrid.
- Seely Rod.R. (2005). *Essentials of anatomy and physiology*.5 ed. Mc Graw-Hill. USA.
- Sinclair, Allan y Viljoen, Adie (2011). Diabetes and Insulin Resistance in Older people. *Medical Clinics of North America*, 95(3): 615-629 pp.
- Silverthorn, DeeUnghlaub. (2008). *Fisiología Humana. Con un enfoque integrado*. 4 ed. Médica Panamericana. Buenos Aires 728-730 pp.
- Szkudelski T, (2001). The mechanism of Alloxan and Streptozotocin action B cells of the rat Pancreas, Department of animal physiology and biochemistry. University of Agriculture, Poznan, Poland *Physiology Research*, 50:536-546 pp.
- Van der Linden, Michiel; Plat, Arian; Erkens, Joelle y Emneus, Martha. (2009). Large Impact of antidiabetic drug treatment and hospitalizations on economic burden of diabetes mellitus in the netherlans during 2000 to 2009. *Medical Centre, Rotterdam. The Netherlands* 12(6).
- Verdaguer, Alba, Vives M. (2004). Diabetes Mellitus Tipo 1: autonmunidad frente a la célula beta. *Endocrinología Nutrición*; 51(3):121-125 pp.
- Vinay Kumar-; Abul k. Abbas; Nelson Fausto y Richard N. Mitchell. (2008). *Robbins Patología humana*. 8 ed. Elsevier. España. 789-802 pp.
- Waizel Bucay, José. (2006). *Las plantas medicinales y las ciencias. Una visión multidisciplinaria*. Ed. Instituto Politécnico Nacional. México.

Yale, Jean-Francois. (2004). Nocturnal hypoglycemia in patients with insulin-treated diabetes. Diabetes Research and clinical practice. 65:41-46 pp.