



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

Estudio Crónico del Efecto Hipoglucemiante de
la Raíz de *Smilax moranensis* (Martens &
Galeotti) en Ratas diabéticas STZ-NA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ARIAS CHÁVEZ DAVID JULIAN



**DIRECTOR DE TESIS:
Adolfo Andrade Cetto**

2014

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

1. DATOS DEL ALUMNO

Arias
Chávez
David Julian
63 66 63 32
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306048775

2. Datos del tutor

Dr.
Adolfo
Andrade
Cetto

3. Datos del sinodal 1

Dr.
René de Jesús
Cárdenas
Vázquez

4. Datos del sinodal 2

Dra.
María Cristina
Revilla
Monsalve

5. Datos del sinodal 3

M. en C.
Agustin
Carmona
Castro

6. Datos del sinodal 4

M. en C.
Jazmín Selene
Samarino
Román

7. Datos del trabajo escrito.

Estudio crónico del efecto hipoglucemiante de la raíz de *Smilax moranensis* (Martens & Galeotti) en ratas diabéticas STZ-NA

70 p
2014

“No es el más fuerte ni el más inteligente el que sobrevive, si no el más capaz de adaptarse a los cambios”
- Charles Darwin

Dedicatorias

Dedico esta tesis a mis padres Juanita y Julián, con todo mi cariño y mi amor porque hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

A mi abuela Ross quien me apoyo y alentó para continuar en este maravilloso mundo de la biología y por ser una segunda mamá para mí, siempre mi eterno agradecimiento.

A mi tío Victor por darme siempre su apoyo en todo momento y porque lo considero como mi segundo papá, mi agradecimiento por siempre.

A mis tías Amada, Carmen y Paty y a mis primos por todo su amor, apoyo, cariño, comprensión y consejos en todo momento, a ustedes por siempre mi amor.

A los sinodales quienes estudiaron, revisaron y estuvieron pendientes del desarrollo de mi tesis y la aprobaron.

A todos los que me apoyaron para escribir y concluir esta tesis. Para ellos es esta dedicatoria de tesis, pues es a ellos a quienes se las debo por su apoyo incondicional.

Agradecimientos

Académicos

A mi tutor de Tesis, Dr. Adolfo Andrade Cetto por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, transmitirme parte de sus vastos conocimientos y su experiencia científica en mi formación como biólogo, así como también por darme consejos y apoyarme con su afecto y confianza que fueron fundamentales para la realización de este trabajo.

A la Biol. Isabel Mejía Luna por sus valiosas y acertadas aportaciones, sus enseñanzas, sus consejos, amistad y sobre todo por gran apoyo para la realización de este trabajo y mi formación profesional.

A la M. en C. Jazmín Samario por sus valiosas sugerencias y acertados aportes durante el desarrollo de este trabajo, por su amistad y apoyo para realizar este trabajo.

A la Dra. Cristina Revilla y al Dr. Rene Cárdenas por su apoyo, aportes, sugerencias y revisión de la tesis.

Al M. en C. Agustín Carmona por su apoyo y revisión de este trabajo y por brindarme todo su apoyo y enseñarme todo acerca de la biología y manejo de animales de laboratorio a través de la bioética y gusto por el buen trato y cuidado de los animales.

A la M. en C. Emma Martínez por ser mi tutora de PRONABES y darme todo su apoyo, consejos y brindarme su amistad en todo momento.

A la M. en C. Violeta Méndez por hacer que tuviera este amor y pasión por la botánica, así como por su amistad y apoyo en todo momento.

A mis profesores de Matemáticas, el M. en C. Héctor García por sus enseñanzas y paciencia; de Química, a la Dra. Jimena Saucedo por todas sus aportaciones y hacer en mi un gusto por ésta ciencia; de Sistemática I, a la M. en C. Mirza Ortega por su amistad y sabías enseñanzas; de Biología de Animales II, a la M. en C. Fabiola Hernández por sus enseñanzas y que logrará hacer en mi un gusto particular por la fisiología animal y por último a mis profesoras de Biología de Animales III, la Biól. Iris Camacho y M. en C. Carolina González por todas sus enseñanzas y hacer que fuera de mis asignaturas favoritas de la licenciatura, a todos ustedes profesores, ¡GRACIAS!

Personales

A Gabriela S. y Gerardo M., gracias por TODO SU APOYO INCONDICIONAL, sus consejos, su más sincera amistad, su cariño y su comprensión para poder realizar este proyecto de tesis y compartir tantos y muy buenos momentos conmigo haciendo que los días en el laboratorio y bioterio fueran únicos.

A Artemisa E. por su incondicional amistad, por sus consejos, su apoyo, risas, lágrimas y más, desde que compartimos clases en el taller y hasta el día de hoy que forjamos una muy sincera y hermosa amistad.

A Dalia O., Iliana B., Hugo M. y Maritza O. por brindarme su sincera y calurosa amistad, su apoyo incondicional, sus consejos, compartir conmigo tantos y tantos momentos increíbles llenos de locura que solo podrían ser vividos junto a ustedes y sobre todo que son para mí más que mis amigos, ¡Gracias!

A mis amigos del laboratorio, Ana S. Christian C., Marel M., Luisa R., Rocío T., Viridiana G., Grisel P., Daniela M., Celia B. y Sagrario M., gracias por todos los buenos y buenos momentos que compartieron conmigo.

A la M. en C. Patricia Olguín por su amistad y por tantas y tantas pláticas, consejos, y bellos momentos que compartimos que hicieron de mi estancia en el laboratorio de Ambientes Controlados un lugar más ameno y agradable.

A mis biólogos favoritos de la F. Ciencias Marco O., Carlos C., Samantha C., Mayarí A., Tania M. y Estefanía G; y a mi amigo Armando A., gracias por brindarme su cariño y su amistad y compartir tantos momentos llenos de recuerdos y risas.

A mis amigos Denisse H., Flor C., Cristian G. e Ismael C. por enseñarme a soñar de una manera diferente, por tantos y tantos momentos compartidos, por haberme acogido como parte de su vida y su familia, por 14 años de amistad incondicional y lo que nos falta, a ustedes mis hermanos ¡GRACIAS!

A Alejandro V. y Christian R. por su hermosa y sincera amistad, por no dejarme caer nunca y apoyarme en todo momento y cuándo más lo he necesitado a ustedes ¡MUCHAS GRACIAS!

CONTENIDO

ABREVIATURAS.....	9
ÍNDICE DE FIGURAS.....	11
ÍNDICE DE TABLAS.....	11
RESUMEN.....	12
I. INTRODUCCIÓN.....	14
1. DIABETES MELLITUS.....	16
1.1 Definición.....	16
1.2 Tipos de DM.....	16
1.2.1 Diabetes Mellitus Tipo 1.....	16
1.2.2 Diabetes Mellitus Tipo 2.....	17
1.3 Diagnóstico para DM2.....	18
1.4 Etiología de la DM2.....	19
1.4.1 Resistencia a la insulina.....	21
1.5 Estadísticas.....	22
2. IMPACTO ECONÓMICO DE LA ATENCIÓN A LA ENFERMEDAD.....	24
2.1 Atención médica.....	24
3. TRATAMIENTO PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.....	25
3.1 Dieta y ejercicio.....	25
3.2 Hipoglucemiantes orales.....	27
3.2.1 Sulfonilureas.....	29
4. ETNOFARMACOLOGÍA.....	30
5. INVESTIGACIÓN CON PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES.....	32

5.1 Plantas mexicanas hipoglucemiantes.....	33
5.2 Estudios preclínicos.....	35
6. MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA DM2.....	36
6.1 Modelo STZ-NA.....	37
7. <i>Smilax moranensis</i>	39
7.1 Taxonomía.....	39
7.2 Estudios etnobotánicos.....	40
7.3 Estudios farmacológicos.....	41
II. JUSTIFICACIÓN.....	43
III. OBJETIVOS.....	44
IV. HIPÓTESIS.....	45
V. METODOLOGÍA.....	46
1. Obtención de extractos.....	46
2. Elaboración de extractos.....	46
2.1 Cálculo del DER (Drug extract ratio).....	47
3. Modelo diabético STZ-NA.....	48
3.1 Estudio crónico.....	48
4. Grupos experimentales.....	49
5. Parámetros de bioquímica sanguínea.....	50
5.1 Dosis de glibenclamida.....	51
5.2 Dosis de la planta.....	52
6. Análisis estadístico.....	52
VI. RESULTADOS.....	53
Cálculo del DER.....	53

Pruebas farmacológicas.....	53
Glucosa.....	53
Hemoglobina glucosilada.....	56
Triglicéridos.....	57
Colesterol HDL.....	60
Colesterol.....	61
VII. DISCUSIÓN.....	62
VIII. CONCLUSIONES.....	65
XIX. LITERATURA CONSULTADA.....	66

ABREVIATURAS

ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosin difosfato
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
ATP	Adenosin trifosfato
CD	Control Diabético
CD + G	Control Diabético con Glibenclamida
CND	Control No Diabético
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
Col	Colesterol
DER	Drug Extract Ratio
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus 1
DM2	Diabetes Mellitus 2
DMG	Diabetes Mellitus gestacional
DNA	Deoxyribonucleic acid
ENSA	Encuesta de Salud
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
Et-Ag	Etanol-Agua
FMD	Federación Mexicana de Diabetes
GA	Glucemia en Ayuno
GE + S. m.	Grupo Experimental con extracto de la raíz de <i>Smilax moranensis</i>
GLUT 2	Transportador de glucosa 2
GLUT 4	Transportador de glucosa 4
H₂H₂	Peróxido de Hidrógeno
HbA1c	Hemoglobina glucosilada
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
IMC	Índice de masa corporal
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
LADA	Diabetes Autoinmune Latente del Adulto
LDL	Lipoproteínas de baja densidad

MIT	Mitocondria
NA	Nicotinamida
NAD+	Nicotinamida Adenina Dinucleótido oxidada
OMS	Organización Mundial de la Salud
PTOG	Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa
RI	Resistencia a la Insulina
SOP	Síndrome de Ovarios Poliquísticos
SPSS	Sistema de Protección Social en Salud
SS	Secretaría de Salud
STZ	Estreptozotocina
SU	Sulfonilureas
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México
XOD	Xantonoxidasa

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Etapas en el desarrollo de la DM2.....	18
Figura 2 Tejidos afectados por la RI.....	22
Figura 3 Porcentaje de la población con DM por entidad federativa.....	23
Figura 4 Porción de adultos con diagnóstico previo de DM2 por sexo y edad en México.....	25
Figura 5 Mecanismo de acción de las SU.....	29
Figura 6 Mecanismo de acción de la STZ en células β pancreáticas de rata.....	37
Figura 7 Distribución geográfica de <i>Smilax moranensis</i>	40
Figura 8 <i>Smilax moranensis</i>	42
Figura 9 Extracción del etanol en el rotavapor R-210 Advanced.....	47
Figura 10 Glucómetro marca Accutrend® Plus.....	51
Figura 11 Gráfica con las curvas de glucosa.....	55
Figura 12 Gráfica con los valores medios de HbA1c.....	57
Figura 13 Gráfica con los valores medios de Tg.....	59
Figura 14 Gráfica con los valores medios de HDL.....	61

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 Valores de las medias de glucosa plasmática.....	53
TABLA 2 Valores de las medias de HbA1c.....	56
TABLA 3 Valores de las medias de Tg.....	57
TABLA 4 Valores de las medias de colesterol HDL.....	60

RESUMEN

La Diabetes Mellitus (DM) es un problema importante para el sector salud debido al impacto epidemiológico y al aumento en el número de pacientes diagnosticados en los últimos años. En México la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT, 2012), reporta que cerca del 9.2 % de la población adulta mexicana padece la enfermedad.

La DM es una enfermedad asociada a dislipidemia e hiperglucemia crónica. En el caso de la Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) a nivel clínico se recurre un tratamiento a través de dieta y ejercicio para regular los niveles de glucosa y posteriormente a la administración de fármacos hipoglucemiantes orales y en caso de ser necesario, insulina. Sin embargo, en nuestro país la falta de recursos económicos y de acceso a servicios médicos ha contribuido a que un gran número de pacientes recurran a la medicina herbolaria tradicional para su tratamiento, apoyados en los usos y costumbres étnicas. Andrade-Cetto y Heinrich (2005) reportan que para México existen 306 especies de plantas descritas con efectos hipoglucemiantes, las cuales se concentran en 235 géneros y 93 familias.

En el presente trabajo se evaluó de forma crónica el efecto hipoglucemiante de la raíz de *Smilax moranensis* en ratas hiperglucémicas usando el modelo STZ-NA. *S. moranensis* es utilizada por las personas de la comunidad de Santos Reyes Nopala, en Oaxaca México, para el tratamiento de DM2.

El extracto etanol-agua (Et-Ag) de la raíz de *S. moranensis* a una concentración de 80 mg/kg administrado durante un periodo de 42 días (administración crónica), demostró tener un efecto al disminuir los niveles de glucosa, Tg, y HbA1c en el modelo de rata hiperglucémico utilizado.

El análisis estadístico muestra una diferencia significativa ($p < 0.05$) del grupo experimental del extracto contra el grupo control diabético y contra el grupo diabético con glibenclamida.

La administración de 80 mg/Kg del extracto Et-Ag de la raíz de *S. moranensis* mostró efecto hipoglucemiante a partir de la primera semana de tratamiento; asimismo se comprobó su eficacia en el modelo para regular y controlar los niveles de HbA1c y Tg a partir de 30 días de tratamiento.

Los resultados obtenidos experimentalmente comprueban el efecto hipoglucemiante del extracto de la raíz usada, tal como se ha reportado de manera tradicional por la comunidad de Santos Reyes en Nopala Oaxaca.

I. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad que se define como un nivel elevado de glucosa en sangre asociado con la ausencia o insuficiente secreción pancreática de insulina, que puede ocurrir con o sin deficiencia en la señalización de ésta (ECDCDM, 2003). El estado patológico inicial de la enfermedad se caracteriza por resistencia a la insulina en el tejido muscular en combinación con una relativa deficiencia de la secreción de la insulina pancreática, lo cual durante una exposición crónica a altos niveles de glucosa conlleva complicaciones a distintos órganos vitales que impacta en la salud de los pacientes con Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) (FMD, 2013).

La insulina es producida por las células β pancreáticas, pero en pacientes diabéticos, la producción es insuficiente para superar la resistencia a la insulina y por lo tanto se eleva la glucosa en sangre de manera crónica. El deterioro de la señalización de la insulina también afecta el metabolismo de las grasas, lo que origina un aumento del flujo de ácidos grasos libres y de los niveles de triglicéridos, así como un decremento de la concentración de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (ECCDAB,1992).

Dentro del grupo de hipoglucemiantes orales (fármacos utilizados en el control de la DM), las sulfonilureas (SU) de segunda generación como la glibenclamida son las de mayor prescripción debido a su bajo costo y los pocos efectos adversos que presentan. Las SU estimulan la segunda fase de secreción de insulina de las células β pancreáticas (Simó, 2002). Para que las SU puedan ejercer su acción es necesario que haya un porcentaje de células β pancreáticas con capacidad de ser insulinosecretoras. Se ha reportado que algunas plantas de uso herbolario pueden estimular la secreción de insulina, disminuyendo los niveles de glucosa sanguínea (Medina, 2013).

Las pruebas preclínicas con modelos animales que simulan la etiopatología de la DM han permitido entender el mecanismo a través del cual actúan los principios activos o fármacos usados en el tratamiento de esta enfermedad. El modelo de rata Wistar STZ-NA, propuesto en sus orígenes por Masiello (1998), permite inducir experimentalmente algunas alteraciones fisiopatológicas observadas en la DM2 humana. Dicho modelo se basa en una inyección vía intraperitoneal de nicotinamida (NA) entre un intervalo de 100 y 300 mg/Kg para que el daño de la STZ sea parcial y no total en las células β pancreáticas, 15 minutos después se administra estreptozotocina (STZ) vía intravenosa a una dosis de 65 mg/Kg, la cual causa efectos citotóxicos sobre las células β de los islotes de Langerhans (Masiello, 1998, Skudely, 2012).

Una variedad de extractos de plantas se han utilizado durante siglos en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes. Las plantas medicinales son particularmente importantes ya que no sólo pueden ser utilizadas como una alternativa o un remedio complementario en la prevención de enfermedades metabólicas, sino que también son una fuente importante de compuestos que pueden ser candidatos para producir fármacos. Esta tendencia ha hecho necesario el incremento de la exploración y explotación de la medicina alternativa con la finalidad de implementar y gestionar el consumo de los remedios tradicionales a base de plantas en particular (OMS, 2014).

La información sobre los usos y costumbres etnobotánicos recopilados en trabajos de campo en Santos Reyes Nopala Oaxaca de *S. moranensis* en el tratamiento para la diabetes, así como estudios previos de los extractos acuoso y etanólico de la raíz de la planta realizados por el grupo de investigación del Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, UNAM, en el modelo neonato (n5-STZ) (Andrade-Cetto, 2011) en forma aguda, motivaron a probar su efecto hipoglucemiante crónico en un modelo inducido en la etapa adulta (biomodelo STZ-NA) y evaluar su efecto hipoglucemiante, y la posible acción sobre los triglicéridos (Tg), el colesterol (Col) y HDL.

1. DIABETES MELLITUS

1.1 Definición

La Asociación Americana de Diabetes (ADA 1997), define a la Diabetes Mellitus (DM) como “un grupo de enfermedades caracterizadas por un alto nivel de glucosa resultado de defectos en la incapacidad para producir o utilizar insulina”.

1.2 Tipos de DM

Tanto la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la ADA clasifican a la DM en Diabetes Mellitus Tipo 1 (DM1), Diabetes Mellitus Tipo 2 (DM2) y Diabetes Mellitus Gestacional.

1.2.1. Diabetes Mellitus Tipo 1

En la DM1 las células beta se autodestruyen, lo que conduce a la deficiencia absoluta de insulina. La etiología de la destrucción de las células β pancreáticas es generalmente autoinmune pero existen casos de DM1 de origen idiopático, donde la medición de los anticuerpos conocidos da resultados negativos. Por lo tanto, cuando es posible medir anticuerpos tales como anti-GAD65, anticélulas de islotes (ICA), antitirosina fosfatasa (IA-2) y antiinsulina; su detección permite subdividir la DM1 en:

- A. Autoinmune
- B. Idiopática

Sus primeras manifestaciones clínicas ocurren desde una edad temprana, cuando ya la función se ha perdido en alto grado y la insulino terapia es necesaria para que el paciente sobreviva. Sin embargo, existe una forma de presentación de lenta progresión que inicialmente puede no requerir insulina y tiende a manifestarse en etapas tempranas de la vida adulta. A este grupo pertenecen aquellos casos denominados como diabetes autoinmune latente del adulto (LADA). En México, la Federación Mexicana de Diabetes (FMD) reporta que entre el 5 y 10% de las personas diagnosticadas presentan DM1 (FMD, 2014).

Recientemente se ha reportado una forma de diabetes tipo 1 que requiere insulina en forma transitoria y que no es mediada por autoinmunidad (ALAD, 2011).

1.2.2. Diabetes mellitus Tipo 2

La DM2 se presenta en personas con grados variables de resistencia a la insulina y con una deficiencia en la producción de ésta hormona que puede o no ser predominante. Ambos fenómenos deben estar presentes en algún momento para que se eleve la glucosa.

Aunque no existen marcadores clínicos que indiquen con precisión cuál de los dos defectos primarios predomina en cada paciente, el exceso de peso sugiere la presencia de resistencia a la insulina mientras que la pérdida de peso sugiere una reducción progresiva en la producción de la hormona. Aunque este tipo de diabetes se presenta principalmente en el adulto, su frecuencia se incrementa en niños y adolescentes obesos (ALAD, 2011).

El deterioro de la señalización de la insulina (Fig 1), también afecta el metabolismo de los lípidos, lo que resulta en un aumento del flujo de ácidos grasos libres y de los niveles de triglicéridos, así como una reducción de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (ADA, 2011). La OMS (2014) y la ADA (2014) reportan que la DM2 se presenta en un 90% de los pacientes diagnosticados.

Desde el punto de vista fisiopatológico, la DM2 se puede subdividir en:

- A. Predominantemente insulinoresistente con deficiencia relativa de insulina.
- B. Predominantemente con un defecto secretor de la insulina con o sin resistencia a la insulina (ALAD, 2011).

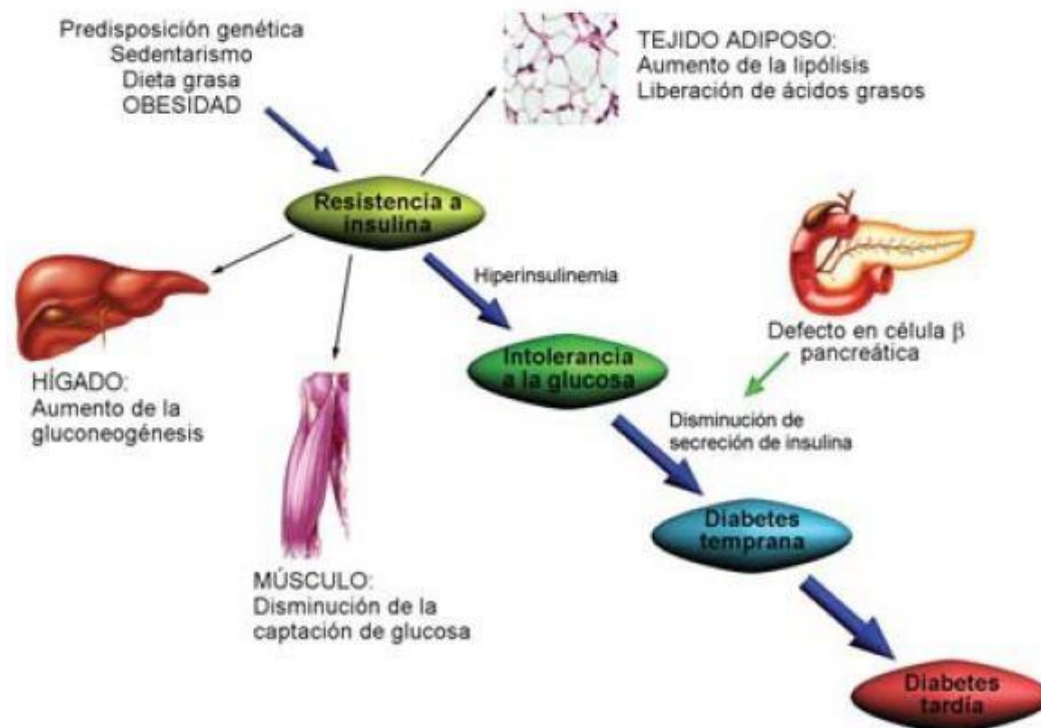


Figura 1. Etapas en el desarrollo de la DM2. (Tomado de Lorenzo, 2009)

1.3 Diagnóstico para DM2

Los criterios de la ADA (2014) para el diagnóstico de diabetes tipo 2 son los siguientes:

- **HbA1C $\geq 6.5\%$.** La prueba se debe realizar en un laboratorio que utilice un método estandarizado según el National Glycohemoglobin Standardization Program (NGSP), certificado y estandarizado para el Diabetes Control and Complications trial.
- **Glucemia en ayuno (GA) ≥ 126 mg/dL (7 mmol/L).** El ayuno se define como la no ingesta calórica durante por lo menos 8 horas.
- **Glucemia 2 horas después de carga oral (GP) ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)** durante la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG). La prueba debe ser realizada con las indicaciones de la OMS, con una carga de hidratos de carbono equivalente a 75 g glucosa anhidra disuelta en agua.

- **Glucemia al azar ≥ 200 mg/dL (11.1 mmol/L)** en un paciente con síntomas clásicos de hiperglucemia o crisis de hiperglucemia.
- En ausencia de hiperglucemia inequívoca, el resultado debe ser confirmado por repetición de la prueba.

En personas asintomáticas con posibilidades de presentar Diabetes la ADA, ha establecido una serie de criterios adicionales para ser evaluados durante las visitas a consulta externa o en personas con patologías asociadas, donde se incluyen índice de masa corporal (IMC), hipertensión arterial, actividad física, raza o etnia, historia de enfermedades cardiovasculares, en mujeres la presencia de problemas hormonales como el Síndrome de Ovarios Poliquísticos (SOP), resistencia a la insulina, entre otros factores de riesgo (Cuadro 1).

1.4 Etiología en DM2

Los principales síntomas de un paciente que presenta diabetes y por tanto, una hiperglucemia crónica son polidipsia, polifagia, poliuria, aumento o pérdida de peso y alteraciones de la visión principalmente.

Cuando un paciente tiene un mal control de la enfermedad esto conlleva a tener complicaciones crónicas. Dentro de las complicaciones crónicas derivadas de la diabetes están las microvasculares y las macrovasculares, las primeras afectan los pequeños vasos de la retina (están relacionadas con la retinopatía diabética), el glomérulo (provocan nefropatía) y los nervios periféricos (ocasionan neuropatía).

Las complicaciones macrovasculares son de tipo aterosclerótico que afectan a las arterias que nutren al miocardio, el cerebro y las extremidades inferiores, las cuales junto con la dislipidemia y la hipertensión también están asociadas a la DM2 e incrementan considerablemente el riesgo de daño cardiovascular (Galbis, 2004).

Cuadro 1. Criterios para la prueba de la diabetes en los individuos adultos asintomáticos

1. La prueba debe ser considerada en todos los adultos que tienen sobrepeso ($IMC \leq 25 \text{ kg/m}^2$)* y que tienen factores de riesgo adicionales:
 - Inactividad física
 - Familiares con diabetes
 - Etnicidad (por ejemplo, afroamericanos, latinos, nativos americanos, asioamericanos y nativos de las Islas del Pacífico).
 - Las mujeres que dieron a luz un producto que pesó > 4 Kg o fueron diagnosticados con diabetes mellitus gestacional (DMG).
 - Hipertensión (>150/90 mmHg o en tratamiento para la hipertensión).
 - Nivel de colesterol HDL, <35 mg/dL (0,90 mmol/L) y/o un nivel de triglicéridos >250 g/dL (2,82 mmol/L).
 - Las mujeres con síndrome de ovario poliquístico.
 - A1C $\geq 5.7\%$ en pruebas previas.
 - Otras condiciones clínicas asociadas con la resistencia a la insulina (por ejemplo, la obesidad severa)
 - Historial clínico con enfermedades cardiovasculares.
2. En ausencia de los criterios anteriores, las pruebas para la diabetes deben comenzar a la edad de 40 años.
3. Si los resultados son normales, la prueba deberá repetirse al menos cada 3 años, con consideración de pruebas más frecuentes en función de los resultados iniciales (por ejemplo, aquellos con prediabetes deben probarse anualmente) y en estado de riesgo.

* La tasa de riesgo IMC puede ser menor en algunos grupos étnicos.

1.4.1 Resistencia a la Insulina

La resistencia a la insulina (RI) es una disminución de la respuesta biológica a la actividad de esta hormona, que ocurre debido a una reducción en la expresión del transportador de glucosa sensible a insulina, GLUT 4, y en la captación de glucosa seguida por una disminución en el metabolismo no oxidativo de la glucosa y en la síntesis de glucógeno. En el síndrome de RI e hiperinsulinemia hay incremento de la síntesis de colesterol de baja densidad (VLDL) y se acelera el catabolismo de las HDL o colesterol de alta densidad. Ésto se encuentra asociado a la obesidad de predominio abdominal y a la DM2. Otros factores reportados como causantes de la RI son estrés en el retículo endoplásmico, acumulación de subproductos tóxicos por la sobrecarga nutricional en tejidos sensibles a insulina como los adipocitos, hepatocitos, el músculo esquelético y las células β pancreáticas (Fig 2) (Serrano-Ríos, 2010).

La dislipidemia, se define como la presencia de anomalías en la concentración de lípidos en sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y LDL). Los niveles de concentración de colesterol, triglicéridos, colesterol LDL y colesterol HDL pueden estar determinados por una dislipidemia asociada a RI. Si la concentración de triglicéridos es mayor a 150 mg/dl, la de colesterol superior a 200 mg/dl y el colesterol HDL menor a 40 mg/dl se requiere una valoración médica y un tratamiento debido a una dislipidemia (Salinas, 2004).

Tanto en el tejido adiposo como en el músculo esquelético, la insulina es la encargada de captar glucosa a través de la traslocación del transportador de glucosa regulado por insulina isotipo 4 (GLUT4) y evitar la exocitosis de ácidos grasos libres. Sin embargo, la deficiencia en la secreción de insulina a causa de la RI provoca en el tejido adiposo un aumento en la cantidad de ácidos grasos libres, haciendo que también se aumente la gluconeogénesis hepática y por lo tanto haya un aumento en el colesterol LDL y una disminución del colesterol HDL (Murrow y Hoehn, 2010).

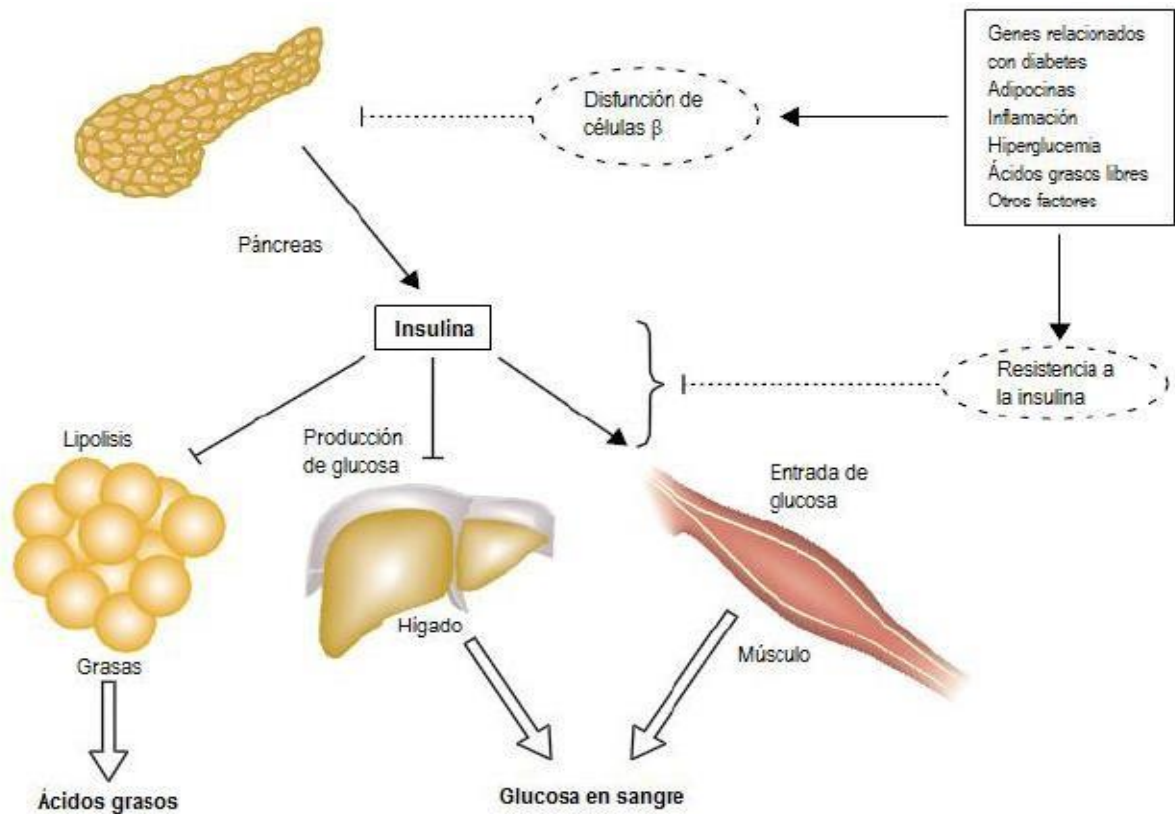


Figura 2. Tejidos afectados por la RI. (Tomado de Stumvoll, 2005)

1.5 Estadísticas

La OMS estima que entre 4 y 5% de los presupuestos de salud se gastan en las enfermedades relacionadas con la diabetes. Los gastos médicos de una persona con diabetes son de dos a cinco veces más altos que los de una persona sin esta enfermedad. Ésta es la causa de la mayor parte de las visitas médicas, la razón principal de adquisición de equipos médicos y de medicamentos, así como la primera causa de ingreso a los hospitales (FMD, 2012).

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT 2012) estima que la DM es el segundo motivo de atención médica en nuestro país con un 11.5% de consultas, dónde el 1.0% de éstas corresponde a pacientes entre 5 a 19 años, el 9.2% a pacientes entre 20 y 49 años, el 30.1% a pacientes entre 50 y 69 años y el 33.0% a pacientes mayores de 69 años.

Sin embargo, del total de pacientes que se estima presentan la enfermedad, cerca del 30% de los individuos afectados desconoce que la tiene. Esto significa que en nuestro país existen más de diez millones de personas enfermas, de las cuales alrededor de tres millones no han sido diagnosticadas, por lo tanto estos resultados son un indicativo de la gravedad del problema que representa la DM2 en México (ENSANUT, 2012).

Una proporción importante de personas que desarrolla la enfermedad no cuenta con seguro médico y es diagnosticada antes de los 45 años de edad, lo que favorece las complicaciones de la enfermedad a consecuencia de no contar con un tratamiento adecuado (Fig 3). Por otra parte, la mortalidad por complicaciones de la diabetes muestra un incremento sostenido durante las últimas décadas, hasta llegar a ocupar el tercer lugar dentro de la mortalidad general en México (SS, 2012).

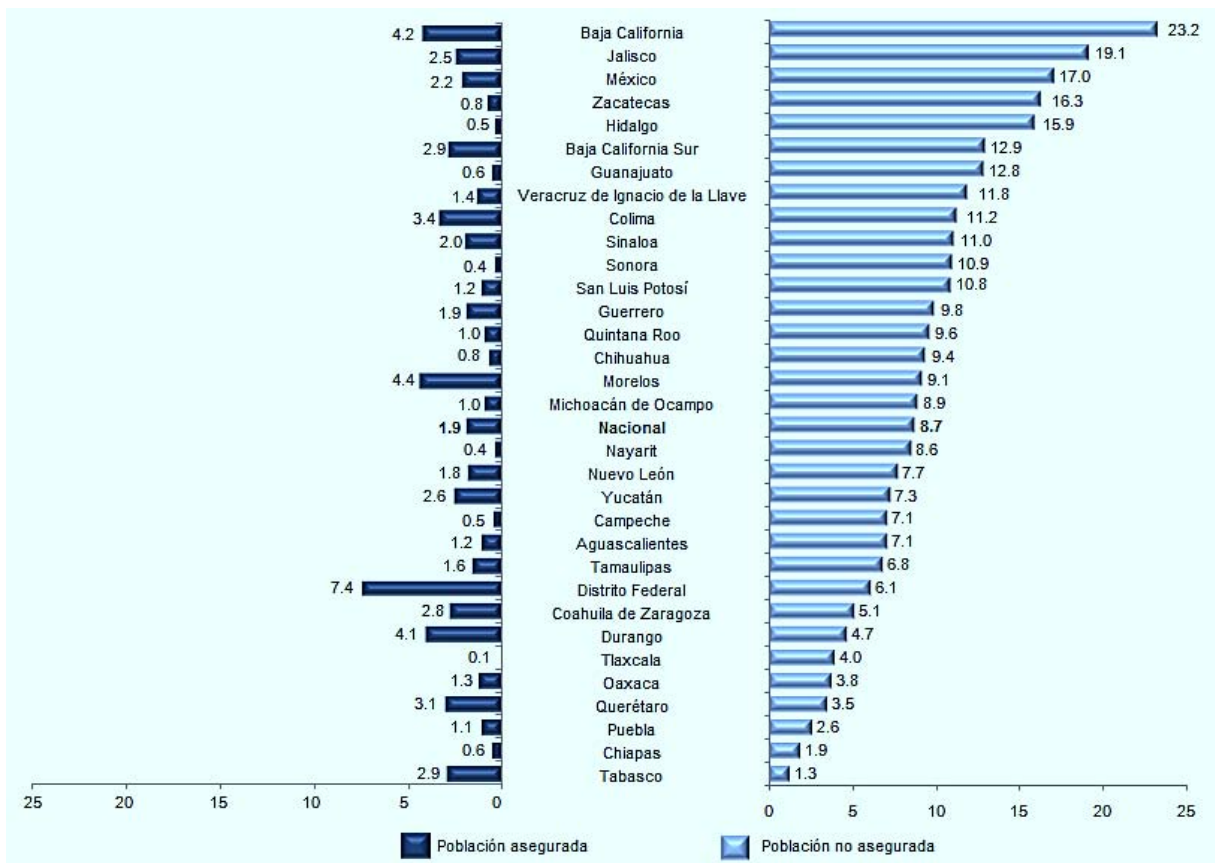


Figura 3. Porcentaje de la población diagnosticada con DM por entidad federativa según su condición de aseguramiento (tomada de estadísticas a propósito del día mundial de la diabetes, INEGI, 2013).

2. IMPACTO ECONÓMICO DE LA ATENCIÓN A LA ENFERMEDAD

2.1 Atención médica

La ENSANUT2012 reporta que el 9.2% de la población adulta presentó diagnóstico previo de diabetes, demostrando un incremento importante en comparación con la proporción reportada por la ENSA 2000 con un 5.8% y en la ENSANUT 2006 con un 7% (Fig 4). Este aumento es importante en términos de demanda de servicios de salud aumentando los gastos en atención médica y fármacos para su tratamiento.

Por otro lado, también se reporta un aumento de 5.29% a 24.5% en el porcentaje de consultas médicas para diabetes en adultos mexicanos del 2006 al 2012. Por lo que esta cifra indica que 3 de cada 4 diabéticos requieren mayor control del padecimiento que permita reducir las complicaciones que se presentan. (ENSANUT, 2012). Esto está asociado a que los pacientes fueron diagnosticados a edades más tempranas, incrementando el uso de hipoglucemiantes orales e insulina, principalmente de metformina para su tratamiento, aumentando considerablemente los servicios financiados por el Sistema de Protección Social en Salud (SPSS).

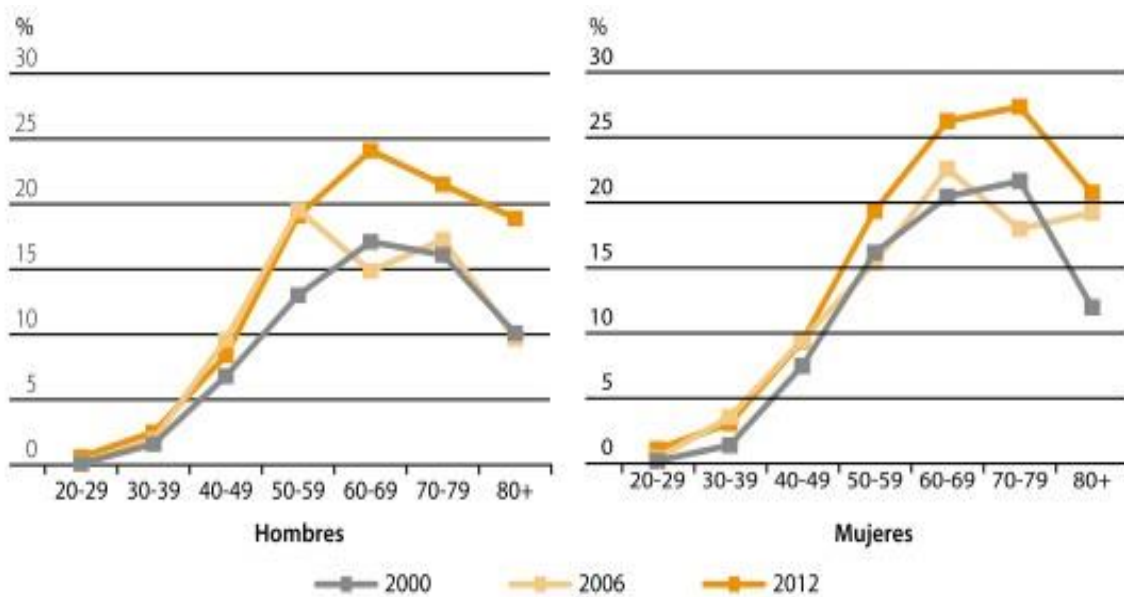


Figura 4. Proporción de adultos con diagnóstico médico previo de DM2 por sexo y edad en México. ENSA 2000, ENSANUT 2006 y 2012 (Tomado de ENSANUT 2012).

3. TRATAMIENTO PARA LA DIABETES MELLITUS TIPO 2

3.1 Dieta y ejercicio

El tratamiento de la DM2 se ha dirigido básicamente al control de los niveles de la glucosa sanguínea, con el propósito de prevenir o retrasar las alteraciones micro y macrovasculares de la enfermedad. En primer término una vez que se ha diagnosticado a un paciente con este tipo de enfermedad es recurrir a una dieta y ejercicio adecuados con el objetivo de controlar y normalizar el metabolismo de grasas, proteínas y carbohidratos.

Dieta

Una dieta adecuada es un elemento esencial del tratamiento de todo paciente diabético. Sin embargo, más de la mitad de los pacientes no siguen correctamente su dieta. Entre las razones que explican este hecho, se incluyen la complejidad de las instrucciones para su cumplimiento y una pobre comprensión de las metas del control dietético por el paciente y el médico

Para poder tener un manejo exitoso de la dieta del paciente diabético es importante establecer un apropiado plan de comidas, con un adecuado aporte nutricional y calórico, con el cual el enfermo debe estar bien informado, pues el objetivo es proveer comidas balanceadas nutricionalmente que le permitan mantener un estilo de vida acorde con sus necesidades, conservar un peso corporal saludable y un buen control metabólico. Las recomendaciones se basan en que la grasa dietética debe aportar el 30 % del total de las calorías, pero menos del 10 % de ellas deben consumirse en forma de ácidos grasos saturados, del 6 al 8 % poliinsaturados y del 15 al 17 % monoinsaturados (ECCDAB,1992).

La cantidad de colesterol exógeno debe ser menor que 300 mg/día. La cantidad de proteínas requeridas es de 0,8 g/kg del peso corporal ideal cada día. Los carbohidratos representan alrededor del 50 %, aportan el balance energético de la dieta y deben ser principalmente complejos y ricos en fibras. Por tanto, los azúcares simples y refinados deben ser ingeridos con moderación (Faure *et al*, 1997).

En general, se recomienda ingerir al menos tres comidas al día y colaciones, de acuerdo con la preferencia y los agentes hipoglucemiantes utilizados. Además, debe tenerse en cuenta el tipo de diabetes y, por tanto, el uso o no de la insulina, la presencia de la obesidad y de otros factores de riesgo, así como la existencia de complicaciones. En pacientes con DMT2 obesos, la reducción del peso corporal es un objetivo primordial, pues la reducción progresiva del peso conlleva simultáneamente una mejoría de los niveles de la glucosa. Debe recordarse que la

reducción del peso debe ser gradual y el uso de dietas excesivamente bajas en calorías no debe utilizarse de forma rutinaria en los diabéticos obesos.

Ejercicio

Es conocido el efecto del entrenamiento físico sobre los niveles de la glucosa, en dependencia del tipo y duración del ejercicio, el horario en que se realiza en relación con las comidas, el uso de los medicamentos y el estado metabólico en el momento de realizarlo que en general, por lo que es preferible el ejercicio aeróbico, debido a que mejora también la capacidad cardiorrespiratoria y se utiliza glucosa en primer instancia como combustible energético para poder realizar cualquier actividad física.

Las recomendaciones del ejercicio físico varían según el tipo de diabetes en el caso de los pacientes con DM2 el ejercicio debe ser parte del plan de tratamiento integral, ya que la actividad física puede estimular la pérdida de peso y reducir la insulinoresistencia en estos enfermos (Schneider, 1984).

3.2 Hipoglucemiantes orales

La DM es una enfermedad que sólo puede ser controlada más no curada, por lo que los tratamientos tienen como finalidad mantener controlado el nivel de glucosa sanguínea dentro del rango normal (<100 mg/dL y >70 mg/dL).

Los pacientes que presentan DM2 son tratados con “hipoglucemiantes orales”, también llamados “antidiabéticos o antihiper glucémicos” en el ámbito médico. Entre los hipoglucemiantes más utilizados podemos encontrar:

- **Las Sulfonilureas**, como la Glibenclamida, que promueve la secreción de insulina en las células β pancreáticas.

- **Las Biguanidas**, como la Metformina, la cual reduce la producción de glucosa inhibiendo la Gluconeogénesis hepática.
- **Las Tiazolidinedionas**, como la Pioglitazona, que promueve la acción de insulina.
- **Los inhibidores de las α -glucosidasas**, como la Arcabosa, que a nivel intestinal impiden la absorción de la glucosa.
- **Las Incretinas**, como las GLP-1, las cuales son hormonas secretadas en el intestino durante el estado postprandial, que actúan aumentando la secreción de insulina evitando la secreción de glucagón mediante la inhibición la enzima DPP-4.
- **Las Meglitinidas**, como la Repaglinida, que estimulan a las células β para que secreten insulina en la primera etapa de insulinos secreción en periodos de ayuno.

La Norma Oficial Mexicana 030 (NOM 030) para el control de la diabetes en la población mexicana estipula que un paciente debe estar monitoreado y con control farmacológico para evitar daños crónicos. Dentro de las guías clínicas en el cuadro terapéutico a nivel de atención secundaria y terciaria los de mayor prescripción son las sulfonilureas de segunda generación y la metformina (biguanida) por su fácil comercialización y pocos efectos adversos reportados (NOM's 30 y guía de manejo paciente diabético), así como sus bajos costos tanto sola como combinada con Glibenclamida a dosis de 2.5 mg/ 500 mg y 5mg/500mg respectivamente.

3.2.1 Sulfonilureas

Las sulfonilureas (SU) estimulan la segunda fase de secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas. Por lo tanto para que las SU puedan ejercer su acción es necesario que haya un porcentaje de células β con capacidad de ser insulinosecretoras.

Las SU ejercen su acción a través de unos receptores de alta afinidad en las células β pancreáticas SUR1. La unión a estos receptores provoca el cierre de los canales de Potasio (K^+) ATP-sensibles, causando que no haya salida de K^+ de la célula y la membrana celular quede despolarizada (Fig 5). Como consecuencia, los canales de Calcio (Ca^{2+}) y Sodio (Na^+) se abren provocando un aumento en la concentración de Ca^{2+} intracelular y la unión de éste a la calmodulina, que producirá el incremento de la concentración de microfilamentos y la exocitosis de los gránulos de insulina.

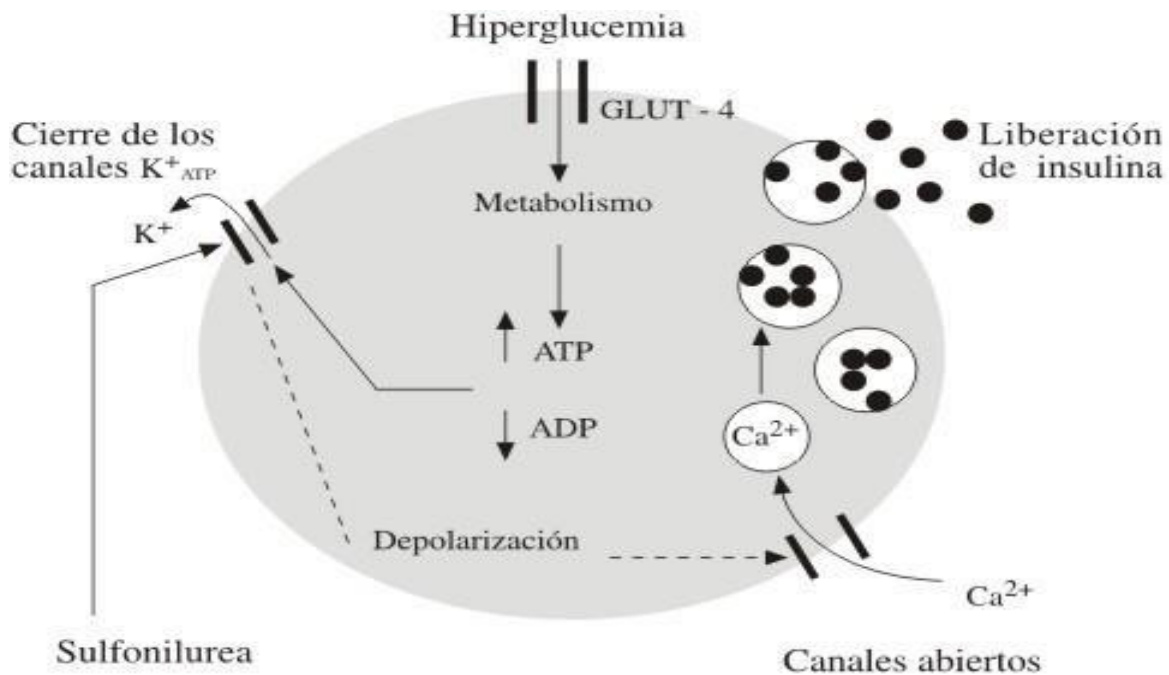


Figura 5. Mecanismo de acción de las Sulfonilureas (Tomado de Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica, Volumen 20 - Número 1, 2001 (6-26).

Las SU difieren en su farmacocinética, sin embargo, todas se absorben rápidamente en el tracto digestivo, teniendo su pico plasmático entre las 2 y 4 horas después de su ingesta. El metabolismo de las SU fundamentalmente es hepático y sus metabolitos se eliminan a través de la orina y, en menor proporción, por la bilis. Las SU se unen principalmente a la albúmina, desde donde pueden ser desplazadas por otros fármacos (Simó, 2002).

La SU más comercial y más utilizada es la Glibenclamida debido a que presenta una mayor unión a proteínas (99%). Además, son muy efectivas en el tratamiento de pacientes con DMT2 cuando éstos no presentan sobrepeso asociado y no hay agotamiento de las células β pancreáticas. (Zavala, 2009).

4. ETNOFARMACOLOGÍA

Las sustancias naturales constituyeron durante un largo tiempo la única fuente de medicamentos. Hoy en día, los principios activos de origen natural representan alrededor de un 30% de los fármacos utilizados, y probablemente este número se eleva hasta un 50% o más, si se consideran solamente a aquellos fármacos que se venden bajo receta médica (antibióticos principalmente). La mayoría de estas sustancias ya eran utilizadas en algunas de las medicinas indígenas, por ello la etnofarmacología juega un papel importante en la búsqueda de prototipos útiles enfocados en nuevas familias de fármacos.

La obtención de principios activos extraídos de plantas como la reserpina que era utilizada como antihipertensivo y tranquilizante, la atropina, la cocaína, la efedrina, pilocarpina, teofilina, entre otras innumerables drogas, son ejemplos de fármacos que en la medicina tradicional de diferentes regiones desde hace tiempo se les habían atribuido propiedades terapéuticas (Galbis, 2004).

El concepto surge en las década de los 1960's, adquiriendo relevancia en el libro "Búsqueda etnofarmacológica de drogas psicoactivas" escrito en 1967 por Efron (Holmstedt *et al.* 1983). En 1990, Dos Santos considera a la etnofarmacología como "el estudio interdisciplinario y científico de la serie completa de sustancias naturales, de origen vegetal, animal o mineral y las formas relacionadas del conocimiento o práctica implementada por la cultura vernácula, para modificar las condiciones de los organismos vivientes con propósitos terapéuticos o preventivos o para hacer un diagnóstico".

Hoy en día, la más aceptada es la propuesta por Schulttes (1991) que cita; "*La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional*". Es decir, la etnofarmacología nos conduce a identificar el uso de los recursos naturales empleados en la medicina tradicional y popular. Sin embargo; la definición más reciente es la propuesta por Andrade-Cetto y Henrich en 2011, la cual se basa en definiciones previas y se define como "*El estudio de los usos tradicionales de productos naturales biológicamente activos con el objetivo de entender sus acciones terapéuticas*".

Cuando la etnofarmacología y la química de productos naturales llevan al descubrimiento de un nuevo principio activo, se intenta la síntesis total del nuevo compuesto, cuya estructura es entonces objeto de modificaciones y de simplificaciones para reconocer mediante procedimientos de ensayo y error, los mínimos requerimientos estructurales responsables de la actividad biológica observada (Galbis, 2004). Por lo tanto la importancia y el reconocimiento de esta disciplina durante los últimos años ha generado útiles aportaciones a la farmacopea actual.

5. INVESTIGACIÓN CON PLANTAS HIPOGLUCEMIANTES

La OMS estima que el 80% de la población en países en vías de desarrollo utiliza medicina basada en la herbolaria como fuente primaria para tratar y controlar diferentes enfermedades (OMS, 2014). Por lo tanto, hay una necesidad de hacer una investigación y desarrollo adecuado de estos productos que tienen una gran importancia en la investigación, la industria farmacéutica, los estudios preclínicos y los estudios clínicos. (Tamayo, 2006).

La implementación de terapias farmacológicas ya sea por vía oral con la administración de hipoglucemiantes o por vía intramuscular de insulina para el control de la glucemia, debe involucrar también cambios en el estilo de vida, tales como la dieta y el tipo de ejercicio. Sin embargo, el tratamiento de la diabetes tipo 2 se complica por varios factores inherentes al proceso de la enfermedad. Uno de los principales factores es que gran número de pacientes combina su tratamiento de fármacos orales con plantas usadas de forma tradicional. Es por ello, que se ha incrementado el interés de evaluar una variedad de extractos de plantas que han sido utilizados durante siglos en la medicina tradicional para el tratamiento de la diabetes. Las plantas medicinales son particularmente interesantes ya que no sólo pueden ser empleadas como una alternativa que permita prevenir enfermedades metabólicas, sino que también sirven como una fuente importante de compuestos que podrían tener un alto potencial como nuevos fármacos.

Varias especies vegetales han demostrado tener propiedades hipoglucemiantes, esta cualidad ha generado un aumento del consumo de los remedios tradicionales a base de plantas, de la exploración y explotación de la medicina alternativa y, de la investigación de sus propiedades usando para su estudio modelos animales o *in vitro* como las células β pancreáticas.

La información que aportan los usos y costumbres etnobotánicas, así como la investigación científica con plantas medicinales apoyan su eficacia terapéutica, sin embargo, debido a que en muchos casos aún se dosifican de manera empírica y no se conoce completamente su margen de seguridad para el consumo humano o sus posibles efectos adversos, es necesario efectuar pruebas clínicas autorizadas por protocolos suscritos a nivel internacional para validar su efectividad como compuesto, suplemento o fármaco útil en el tratamiento de la enfermedad.

La DM es un síndrome con etiologías múltiples, que requiere por lo tanto un abordaje terapéutico que permita dilucidar los posibles mecanismos para la secreción de insulina o de su señalización, así como inhibidores de la producción de glucosa endógena que puedan controlar la glucemia circulante del paciente diabético. En este contexto, la medicina herbolaria constituye una alternativa terapéutica viable debido a la gran diversidad de metabolitos secundarios presentes en las plantas; sin embargo, la investigación sobre estas plantas medicinales más allá de la detección de la actividad biológica, debe llevarse a cabo con el objetivo de estandarizar la adecuada dosificación de los fitofármacos y entonces si éstos pueden ser usados de manera segura en la terapéutica clínica.

5.1 Plantas mexicanas hipoglucemiantes

Santillo (2001) reporta que la importancia de las plantas medicinales es cada vez mayor en la actualidad, principalmente en países en vías de desarrollo. Pakistán, por ejemplo, es un país donde se estima que un 80% de las personas dependen de plantas medicinales para curarse, mientras que en China, país que conserva el bagaje cultural más antiguo sobre el uso de plantas como remedios fitoterapéuticos, se estima en un 40%. Sin embargo, países con mayor desarrollo tecnológico como Estados Unidos y Japón, reportan el uso de plantas medicinales para tratar dolencias comunes, más que el uso de medicinas de patente (OMS, 2014).

El uso de plantas medicinales en amplios sectores de México, infiere la permanencia de una práctica cultural conservada del conocimiento tradicional al momento de solucionar problemas de salud, como la Diabetes. Siendo recomendadas para esta última enfermedad las plantas denominadas hipoglucemiantes (Aguilar *et al.* 1996).

Un ejemplo de plantas mexicanas hipoglucemiantes, es el estudio realizado con *Galega officinalis*, planta que era utilizada en la edad media para tratar la Diabetes, aunque aún no se sabía la fisiopatología de esta enfermedad. De la *Galega officinalis* se logró aislar “la galegina”, un compuesto precursor de la Metformina, el cual es uno de los hipoglucemiante orales más utilizados en la actualidad (Hadden, 2005).

Dentro de los tratamientos tradicionales con plantas para la diabetes, existe una riqueza oculta de los productos naturales potencialmente útiles para el control de la diabetes. Sin embargo, con pocas plantas “hipoglucemiantes” se han realizado estudios científicos o médicos, a pesar de las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud en 1980.

En México se tienen reportadas 306 especies con efecto hipoglucemiante pertenecientes a 235 géneros y 93 familias; donde las que cuentan con más reportes son: Asteraceae (47 spp), Fabaceae (27 spp), Cactaceae (16 spp), Solanaceae y Euphorbiaceae (10 spp) y Laminaceae (9 spp); pero esta cifra puede variar debido a la falta de documentación, registro y estudio de un gran número de especies (Andrade-Cetto *et al.* 2005).

En un estudio por metaanálisis se reportan estudios en fase clínica II para ocho especies (*Cecropia obtusifolia*, *Marrubium vulgare*, *Equisetum myriochaetum*, *Acosmium panamense*, *Cucurbita ficifolia*, *Agarista mexicana*, *Brickellia veronicaefolia* y *Parmentiera aculeata*), las cuales están en pruebas ya con vías de entrar al esquema de fitomedicamentos con un perfil validado de actividad y seguridad demostrada. (Andrade-Cetto *et al.* 2007b, Andrade-Cetto *et al.* 2001, Herrera-Arellano *et al.*, 2004, Nicasio *et al.* 2005 y Revilla-Monsalve *et al.*, 2007).

5.2 Estudios preclínicos

Los estudios preclínicos son un conjunto de estudios para el desarrollo de un medicamento que se efectúan *in vitro* o en animales de experimentación y que se diseñan para obtener la información necesaria para decidir si se justifican estudios más amplios en seres humanos, sin exponerlos a riesgos injustificados (COFEPRIS, 2014.)

Aun cuando en los últimos años ha crecido la incorporación de medicamentos fitoterapéuticos en el mercado, existe escasa información acerca de la farmacocinética, los efectos adversos, las interacciones, las contraindicaciones y precauciones de los mismos. Bajo esta perspectiva, resulta difícil el análisis entre el beneficio y el riesgo de la incorporación de productos de origen vegetal, con fines medicinales (Gorzalczany, 2007).

El estudio del uso tradicional de plantas medicinales en base a metodologías etnofarmacológicas incluye ensayos biológicos de tipo experimental (estudios preclínicos), permite aportar información, con bases científicas, acerca de la eficacia y seguridad de potenciales agentes terapéuticos obtenidos a partir de plantas, por lo que la importancia de hacer estudios de este tipo, facilita comprobar el posible efecto farmacológico en un sistema biológico, siendo la base para poder pasar a una fase clínica y posteriormente al desarrollo de un fitomedicamento.

Dentro de las plantas utilizadas en México para tratar a la DM2 se reporta a Cocolmecatl o sarsaparrilla blanca (*Smilax moranensis*), la cual en estudios realizados en el laboratorio de Etnofarmacología con los extractos acuoso y etanol-agua de la raíz en un modelo neonato de ratas Wistar diabéticas (n5- STZ) se observó que presentó efecto hipoglucemiante desde los 60 minutos sostenido hasta los 180 minutos en una administración aguda (Andrade-Cetto, 2011, Palapa, S, 2013).

6. MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN PARA DM2

Los modelos animales son ampliamente utilizados y son una de las principales herramientas para comprobar la acción biológica en estudios con plantas, como las hipoglucemiantes por ejemplo. Una gran desventaja del uso de modelos animales para el estudio de este padecimiento es la complejidad de la enfermedad, es por ello que hoy en día no existe un modelo animal con todas las características que presenta la DM2 (hiperglucemia crónica y resistencia a la insulina principalmente). Por lo que sólo se puede elegir un modelo que desarrolle algunas de las alteraciones características de la DM2 que permitan generar un cuadro patológico de la enfermedad muy similar al observado en los humanos (Eddouks, 2012).

Estos modelos animales se clasifican de acuerdo a su origen en:

- 1) Espontáneos o genéticamente derivados.
- 2) Inducidos por medio de dieta.
- 3) Inducidos por hormonas.
- 4) Inducidos quirúrgicamente.
- 5) Knock-out.
- 6) Químicamente inducidos.

6.1 Modelo STZ-NA

El método para inducir DM en ratas a partir de una inyección de STZ fue descrito por primera vez por el Dr. N. Rakieten *et al* en 1963.

El modelo de rata Wistar STZ-NA, está basado en la administración de estreptozotocina (STZ), un antibiótico utilizado en la quimioterapia del cáncer, que causa efectos citotóxicos sobre las células β pancreáticas de los islotes de Langerhans. Por lo tanto es un modelo de inducción química.

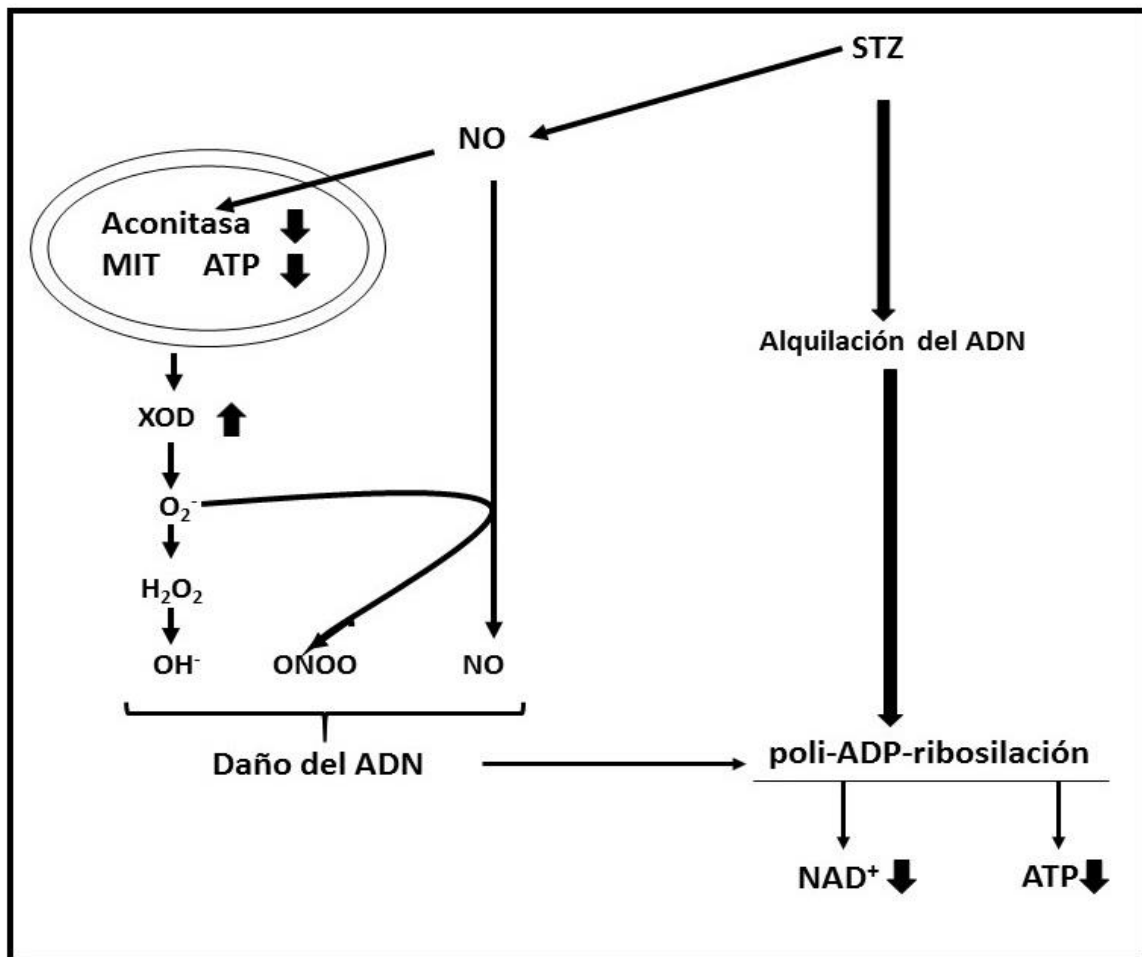


Figura 6. Mecanismo de acción de la STZ en las células β pancreáticas en rata. (MIT: Mitocondria; XOD: xantonoxidasa; Tomado de y editado de Szkudelski, 2001)

La DM inducida por STZ provoca síntomas parecidos a los presentados en la Diabetes Mellitus tipo 2 en roedores recién nacidos no predispuestos, mediante la destrucción de sus células β pancreáticas. Dado que las células β pancreáticas son más sensibles al efecto citotóxico de la STZ debido a la selectividad con el glucotransportador GLUT2.

La potente alquilación que provoca la STZ, es considerada como la principal causa de la citotoxicidad en las células β pancreáticas, sin embargo, el óxido nítrico y las especies reactivas del oxígeno, de manera sinérgica, podrían contribuir a la fragmentación del DNA y los cambios causados por la STZ (Szkudelski, 2001).

El daño del DNA causado por la STZ activa la poli-ADP-ribosilación (Fig 6), provocando el agotamiento de NAD⁺ celular y una disminución de ATP (Heller *et al*, 1994) lo que posteriormente provoca una inhibición de las síntesis y secreción de insulina.

La hiperglucemia se induce al inyectar estreptozotocina (STZ) en dosis que pueden variar de 55 a 65 mg/Kg peso de la rata via intraperitoneal o intravenosa. Antes de la aplicación de la STZ entre 10 a 15 minutos se aplica una dosis de nicotinamida que puede variar de 100 a 230 mg/Kg, esto influye en la severidad del daño inducido a las células β pancreáticas y puede inducir una variante en los niveles de glucemia de la rata (Szkudelski, 2012).

7. *Smilax moranensis*

7.1 Taxonomía

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Liliopsida
Orden: Liliales
Familia: Liliaceae
Género: *Smilax*
Especie: *moranensis* (Martens & Galeotti).

Sinónimos: *Smilax desniflora* A. DC; *Smilax densiflora* var. *chrismarensis* A. DC; *Smilax schffneriana* A. DC; *Smilax moranensis* var. *schaffneriana* A. CD; *Smilax uruapensis* Sessé & Moc; *Smilax moranensis* var. *mexiae* Killip & C.V. Morton.

Nombre(s) común(es): Palo de vida, Sarsaparilla, Sierrita, Tipa tsirani (Purépecha), Uarhokuaraku (Purépecha), Cocolmecan, Cocolmecatl, Tecquammaitl, Taca (Meyer, 1934).

Esta planta es una enredadera leñosa de la familia Liliaceae, endémica de México con una distribución desde Sonora hasta Chiapas (Téllez, 1996). (Fig 7). Es un bejuco leñoso con rizoma tuberoso, ramas anguladas sin espinas y con presencia de zarcillos.

Las hojas son de forma simple, alternadas, lanceoladas con un diámetro de 6 a 12 cm, un ápice agudo, un margen entero, base cordada y presencia de peciolo. La inflorescencia es de tipo umbela axilar, con flores actinomorfas monoicas, con ovario súpero en las flores femeninas y con 6 estambres en las flores masculinas. Los frutos son bayas globosas, de 5 a 10 mm de largo de color negro cuando maduran (Adame, 2000). (Fig 8)



Figura 7. Distribución geográfica de *Smilax moranensis*. (Tomada y editada de Encyclopedia of life, 2014)

7.2 Estudios etnobotánicos

El uso tradicional de Cocolmecatl como se conoce comúnmente en el sureste mexicano, se ha documentado en la comunidad de Santos Reyes, Nopala en el Estado de Oaxaca por el equipo de trabajo del laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias UNAM, donde se reporta el uso de la raíz de esta planta como hipoglucemiante, además de otras propiedades medicinales entre las que destacan los usos como expectorante, diurético, depurativo y antiinflamatorio, usando la raíz seca en decocción (20 gr aprox. en 1 L de agua) y tomándola como agua de tiempo. (Información proporcionada por los informantes y pobladores de la comunidad).

7.3 Estudios farmacológicos

No se han realizado estudios sobre los compuestos presentes en esta especie, sin embargo, Andrade-Cetto (2011) reporta que los principales constituyentes en extractos acuosos y etanólicos de *Smilax moranensis* son flavonoides y alcaloides.

En estudios realizados con extractos acuosos de la raíz en ratas diabéticas (n5- STZ), se observó un efecto hipoglucemiante en una dosis de 20 mg/kg con un efecto después de 120 minutos, mientras que a una dosis de 200 mg/kg con un efecto después de 60 min. Por otro lado, la administración de extractos etanólicos tienen un efecto hipoglucemiante después de 60 minutos para ambas dosis, y fueron estadísticamente significativos ($p < 0.05$) contra los grupos controles diabéticos y con los controles positivos de fármacos (glibenclamida y metformina) (Andrade-Cetto, 2011).



Figura 8. *Smilax moranensis* A) Plántula en Santos Reyes Nopala, Oaxaca (Tomada por el autor), B) Ejemplar de herbario (Tomado de Tropicos.org. Missouri Botanical Garden), C) Planta adulta con frutos inmaduros (Tomada de la BDMTM).

II. JUSTIFICACIÓN

El incremento acelerado de pacientes que presentan DM2 año con año a nivel mundial hace necesaria la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de esta enfermedad. La Secretaría de Salud (SS) estima en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012, que el 9.2% de la población adulta padece diabetes tipo 2. Esto significa que en nuestro país existen más de diez millones de personas enfermas. Por otro lado, debido a que *Smilax moranensis* presentó un efecto hipoglucemiante en un estudio agudo, es importante llevar a cabo un estudio crónico y determinar si el extracto de la raíz de esta planta puede ser un auxiliar en el tratamiento de DM2.

III. OBJETIVOS

GENERAL

- ❖ Demostrar el efecto hipoglucemiante del extracto Et-Ag de la raíz de *Smilax moranensis* con la administración de forma crónica a ratas diabéticas STZ-NA.

PARTICULARES

- ❖ Demostrar el efecto hipoglucemiante del extracto de la raíz de *S. moranensis* en los niveles de glucosa sanguínea
- ❖ Analizar el efecto de la administración crónica del extracto de la raíz de *S. moranensis* sobre los niveles de hemoglobina glucosilada (HbA1c) y el perfil lipídico (Tg, Col y HDL) con la administración crónica.

IV. HIPÓTESIS

Ho. La administración crónica del extracto Et-Ag de la raíz de *S. moranensis* no tiene un efecto hipoglucemiante sobre los niveles de glucosa y la HbA1c en modelos de rata STZ- NA.

Ha. La administración crónica del extracto Et-Ag de de la raíz de *S. moranensis* tiene un efecto hipoglucemiante sobre los niveles de glucosa y la HbA1c en modelos de rata STZ- NA.

Ho. La administración crónica del extracto Et-Ag de de la raíz de *S. moranensis* no tiene un efecto en los niveles del perfil lipídico (Tg, Col y HDL) en modelos de rata STZ-NA.

Ha. La administración crónica del extracto Et-Ag de de la raíz de *S. moranensis* tiene un efecto en los niveles del perfil lipídico (Tg, Col y HDL) en modelos de rata STZ-NA.

V. METODOLOGÍA

1. Obtención de los extractos

Los extractos se obtuvieron a partir de la raíz seca y molida de *Smilax moranensis* con número de colecta 214 del Dr. Adolfo Andrade-Cetto, en el municipio de Nopala, Oaxaca el 26 de Febrero del 2011. Un ejemplar colectado fue depositado en el herbario IMSS con colecta IMSS 15815, e identificado por el M. en C. Ramiro Cruz Durán en el mismo año de su colecta.

2. Elaboración de extractos

En este estudio se realizó una extracción Etanol-Agua (Et-Ag). Se utilizaron 250 mL de agua y 250 mL de etanol como solventes, y 20 g de la raíz seca y molida de *S. moranensis*.

Se colocaron los 20 g de la raíz en un vaso de precipitados con los solventes y se mantuvo en agitación constante y a 37°C durante 4 hrs. Una vez enfriado, se filtró con tierra de diatomeas. Posteriormente se colocó en el Rotavapor R-210 Advanced, marca BUCHI (Fig 9) durante 4 hrs para retirar el etanol y el restante se colocó en un cristizador y se colocó a -40°C en el ultracongelador marca REVCO. Por último se colocó en una liofilizadora marca Labconco a -40 °C durante 27 hrs para quitar el agua restante. El resultante se pesó y se mantuvo en refrigeración de -4 °C.



Figura 9. Extracción del Etanol en el Rotavapor R-210 Advanced. (Tomada por el autor).

2.1 Cálculo del DER (Drug extract ratio)

El cálculo del DER es un criterio importante para poder determinar una preparación herbal, éste hace referencia a la relación entre la masa del material herbal inicial (Droga herbal) y la masa del extracto resultante (preparación herbal). Sin embargo, la cantidad de masa resultante depende del solvente de extracción, del procedimiento y del aparato a utilizados durante la extracción (Medina, 2012). El cálculo del DER se realiza a partir de la siguiente fórmula:

$$\text{DER} = \frac{\text{Droga herbal (g)}}{\text{Preparación herbal (g)}} = X : 1$$

3. Modelo Diabético STZ-NA

Para obtener un modelo más parecido a los parámetros bioquímicos de la DM2, se empleó la técnica de Massiello (1998).

El modelo diabético se desarrolló en ratas Wistar de ambos sexos de 6 semanas de nacidas con un rango de peso entre 200-250 g. A cada rata se le administró vía intraperitoneal (i.p.) una solución de nicotinamida (NA) resuspendida en solución salina marca PISA® a una dosis ajustada de 150 mg/Kg/peso. Después de transcurridos 15 minutos se inyectó vía intravenosa (i.v.) en una de las venas caudales de la cola, una solución de 65 mg/kg de estreptozotocina (STZ, SIGMA, Chemical Co, St. Louis, MO, USA) reconstituida en solución de buffer de citratos a pH 4.5. Transcurridas setenta y dos horas después de la administración de la STZ, se cuantificó la concentración de glucosa circulante en una gota de sangre (aproximadamente 10 µL) extraída de la punta de la cola que fue colocada en una tira reactiva para glucómetro Accutrend. Aquellos animales inducidos que presentaron niveles \geq a 180 mg/dL de glucosa fueron considerados diabéticos y se incluyeron en los grupos experimentales.

A partir de la formación de los grupos experimentales se monitorearon cada semana: glucosa; cada 15 días: el perfil lipídico y la HbA1c durante el estudio crónico.

3.1 Estudio crónico

En un estudio subcrónico o crónico según sea el caso, se lleva a cabo la exposición de dosis repetidas en un periodo de tiempo. El objetivo es obtener los posibles efectos adversos que ocurren como resultado de una dosis diaria repetida de una sustancia química, o exposición a una sustancia química durante parte del ciclo de vida de un organismo (generalmente no excede el 30%). Con animales experimentales, el período de exposición puede variar de unos pocos días a seis meses (COFEPRIS, 2014).

El presente estudio se llevó a cabo durante 42 días para corroborar el efecto crónico de la administración de un extracto de etanol-agua (Et-Ag) de la raíz de *Smilax moranensis*, asimismo, se comparó la eficacia de un fármaco conocido, glibenclamida (control positivo), para este biomodelo en un estudio crónico.

4. Grupos experimentales

Se emplearon 20 ratas (*Rattus norvegicus*) Wistar de ambos sexos, de 2 meses de edad con un peso promedio de 200 g. Todos los animales fueron alimentados *ad libitum* y se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad de 12/12 y a una temperatura promedio de 25 °C en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, UNAM y de acuerdo a la NOM-060-ZOO-1999.

Se formaron 4 grupos con cinco ratas (sexo indistinto) cada uno (Tres controles y uno experimental). Los tratamientos se administraron vía oral por medio de una cánula gastroesofágica en dos dosis únicas, una en la mañana (8:00 hrs) y otra en la tarde (18:00 hrs).

A las ratas no diabéticas y diabéticas se les administró solución fisiológica salina al 9%, mientras que las ratas con tratamiento de glibenclamida y con el extracto Et-Ag de la raíz de *Smilax moranensis* (grupo experimental), tanto el fármaco como el extracto se resuspendió en solución salina al 9% para ser administrados. (Cuadro 2)

Cuadro 2. Diseño Experimental

Grupos	Tratamientos
Control no diabético (CND)	1.5 mL de solución fisiológica
Control diabético (CD)	1.5 mL de solución fisiológica
Control diabético + Glibenclamida (D + G)	5 mg / Kg de Glibenclamida
Grupo Experimental + extracto etanol-agua de <i>S.moranensis</i> (EG + S.m)	80 mg/Kg de extracto etanol-agua de <i>S. moranensis</i>

5. Parámetros de bioquímica sanguínea

a) Glucosa

Para la evaluación semanal de glucosa se usaron glucómetros marca Accutrend® Plus, colocando una gota de sangre en cada tira reactiva (Fig 10).

b) Perfil lipídico: Tg, Col, HDL

Para medir los Triglicéridos, el Colesterol y las HDL de forma quincenal se empleó un fotómetro de laboratorio portátil marca CardioChek™, colocando una muestra de sangre de 15 µL.

c) HbA1c

Para determinar HbA1c, también quincenalmente, se utilizó un medidor de hemoglobina glucosilada DCA 2000+ marca Bayer. Todas las muestras de sangre se obtuvieron a partir de un corte de la punta de la cola de cada rata sin uso de anestesia.

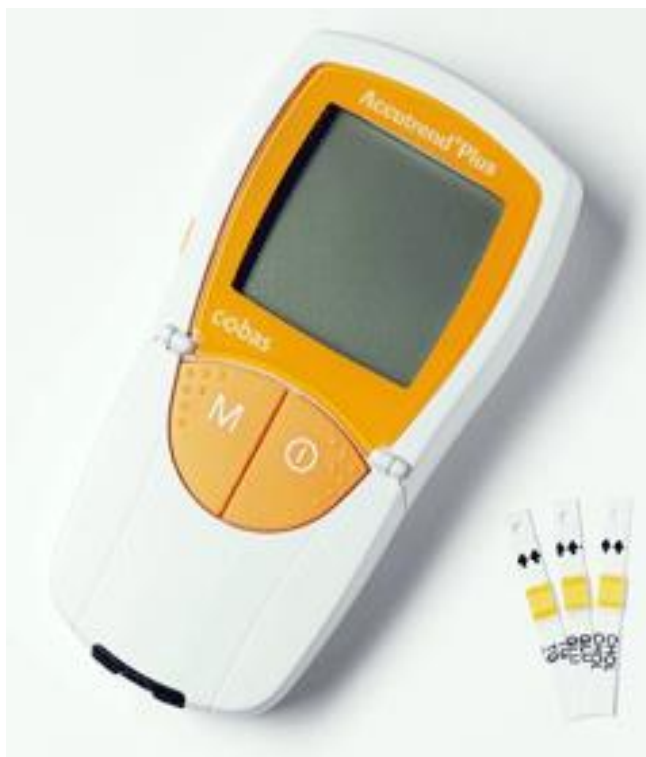


Figura 10. Glucómetro marca Accutrend® Plus (Tomado de Roche.com)

5.1 Dosis de Glibenclamida

De acuerdo a la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD), 5 mg/Kg de Glibenclamida (marca ROCHE) es la dosis mínima que necesita un paciente para tener efecto hipoglucemiante y regular sus niveles de glucemia en sangre. Las pruebas realizadas en estudios previos en el Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias bajo la dirección del Dr. Adolfo Andrade-.Cetto, comprueban que la dosis de 5 mg/kg es eficiente para ver un efecto hipoglucemiante en ratas desde la primera hora de administración como fármaco control positivo (Andrade-Cetto, 2011).

5.2 Dosis de la planta

En un estudio agudo Andrade-Cetto (2011) utilizó la dosis de 80 mg/Kg de extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis*, encontrando efecto hipoglucemiante a partir del minuto 60 mantenido hasta el minuto 180 después de la administración del extracto. Basados en ese antecedente se decidió administrar la misma dosis para el efecto crónico y ver si se presentaban o no efectos posteriormente.

6. Análisis estadístico

Para el análisis de datos se realizó una prueba de ANOVA partiendo del supuesto de poblaciones distribuidas normalmente con varianza igual y desconocida, y observaciones independientes. También se realizó una prueba de Dunnet para verificar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre los controles y el tratamiento, así como una prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los grupos respecto a su T0. Las pruebas se realizaron en XLSTAT 2014, tomando como resultados significativos aquellos con una $p \leq 0.05$.

VI. RESULTADOS

1. Cálculo del DER

La droga herbal fue de 20 g, mientras que la preparación herbal fue de 2.95 g. De acuerdo a esto aplicando la fórmula para el cálculo del DER obtuve lo siguiente:

$$\text{DER} = \frac{\text{Droga herbal (g)}}{\text{Preparación herbal (g)}} = \frac{20}{2.95} = 6.77 \approx 7:1$$

Por lo tanto, se necesitan alrededor de 7 partes de la planta molida para obtener una parte de la preparación herbal.

2. Pruebas farmacológicas

Glucosa

Los niveles de glucosa sanguínea con los tratamientos se resumen en el cuadro 2. Se indican los valores que son estadísticamente significativos contra el grupo diabético y contra el T0 de su propio grupo con una diferencia significativa de $p \leq 0.05$. De acuerdo con los datos obtenidos en la tabla 1:

Tabla 1. Valores medios de glucosa plasmática

Grupos	Glucosa sanguínea (mg/dL)						
	T0	T7	T14	T21	T28	T35	T42
CND	124 ± 3 ^{ab}	129 ± 2 ^{ab}	124 ± 2 ^{ab}	127 ± 2 ^{ab}	125 ± 3 ^{ab}	118 ± 4 ^{ab}	131 ± 2 ^{ab}
CD	174.6 ± 5	171 ± 2	171.2 ± 5 ^b	153.8 ± 3	168 ± 4 ^b	162 ± 3 ^b	168.4 ± 4
CD+G	179.6 ± 2	128.6 ± 3 ^{1a}	147.8 ± 5	132.2 ± 4 ^{1a}	149.6 ± 5	133.6 ± 5 ^{1a}	152.8 ± 5
GE + S.m.	190.8 ± 4	146.6 ± 5 ^{1a}	136.6 ± 3 ^{1a}	140.8 ± 3 ¹	123.6 ± 4 ^{1a}	135.2 ± 3 ^{1a}	146.8 ± 3 ¹

n = 5. Los valores representan la media ± error estándar. 1. Significativo contra el T0 de su propio grupo. a. significativo contra el CD, b. Significativo CD contra CND. ($p \leq 0.05$).

- **Grupo CD.** Los valores de glucosa sanguínea presentan una diferencia estadísticamente significativa contra el grupo CND durante todo el desarrollo del experimento y no presenta diferencia entre todos los tiempos con respecto al T0.
- **Grupo CD + G.** Los valores de glucosa sanguínea presentan una diferencia estadísticamente significativa en el T7, T21 y T35 respecto a su T0 y en todos los tiempos con respecto al grupo CD.
- **Grupo GE + S.m.** Los valores de glucosa sanguínea presentan diferencia estadísticamente significativa contra el grupo CD a partir del T7 y hasta el T35 y del T7 al T42 respecto a su T0. No hay diferencia significativa respecto al grupo CD+G.

Los resultados de glucosa se presentan en la figura 11, en la cual se observa el efecto inmediato de la glibenclamida a partir de la primera semana respecto al CND, sin embargo el resto del tiempo presentó variaciones. En el caso del grupo experimental también se puede observar un efecto hipoglucemiante a partir de la primera semana de tratamiento y con menos variaciones que el fármaco, pero al final del tratamiento se observa un aumento en la glucemia.

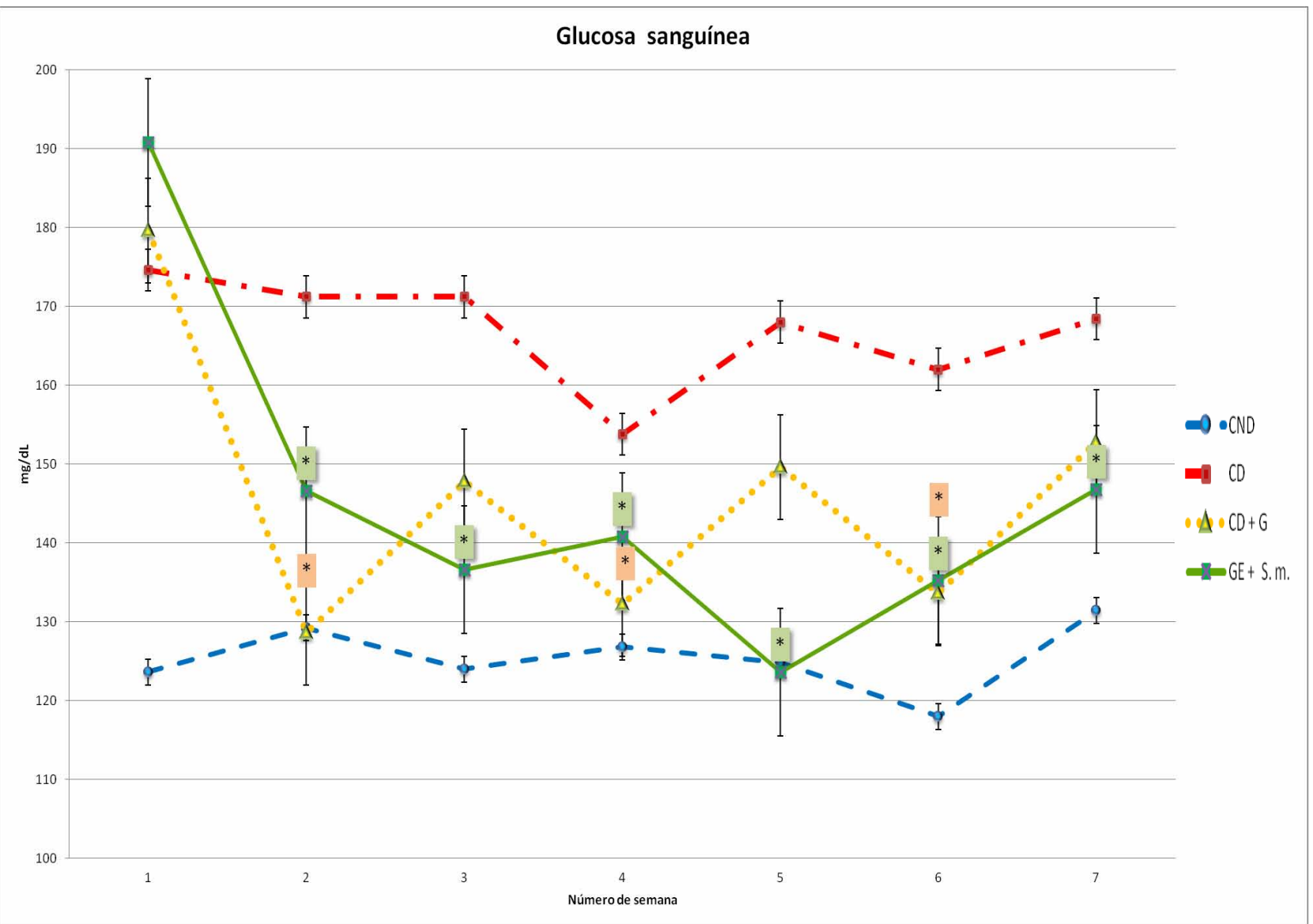


Figura 11. Gráfica con las curvas de glucosa en sangre de los diferentes tratamientos. *Diferencia significativa vs CND $p < 0.05$.

Hemoglobina glucosilada

Los niveles de hemoglobina glucosilada (HbA1c) en sangre evaluada para los distintos tratamientos se concentran en la tabla 2. Se indican los valores que son estadísticamente significativos contra el grupo diabético y contra el T0 de su propio grupo a una $p \leq 0.05$.

Tabla 2. Valores medios de Hemoglobina gluucosilada (Hb1Ac)

Grupos	Hemoglobina glucosilada (%)			
	T0	T14	T28	T42
CND	3.6 ± 0.07	3.6 ± 0.07	3.5 ± 0.09	3.6 ± 0.11
CD	3.7 ± 0.07	4.1 ± 0.07	4.2 ± 0.09	4.3 ± 0.10
CD+G	3.8 ± 0.05	4.2 ± 0.09	3.9 ± 0.13	3.9 ± 0.20 ^a
GE + S.m.	3.4 ± 0.05	3.76 ± 0.16 ¹	3.64 ± 0.25 ^{1a}	3.96 ± 0.25 ¹

n = 5. Los valores representan la media ± error estándar. 1. Significativo contra el T0 de su propio grupo. a. significativo contra el CD ($p \leq 0.05$).

En la figura 12 se observa una clara diferencia entre el grupo CND y CD, debido a que este último presenta un incremento a partir de la segunda semana y manteniéndose hasta el final del estudio. El control positivo (CD+G) presentó diferencia significativa hasta el último tiempo respecto al control diabético, pero como se ve puede ver en la tabla 2, el fármaco a partir de la segunda semana impide un aumento en los niveles de hemoglobina manteniéndolos controlados. Por otro lado el grupo experimental (GE+Sm) solo presentó diferencia significativa con el CD en el tiempo 28, pero presenta una diferencia significativa contra tu T0 a partir del T14 y hasta el T42, sin embargo, también se puede observar un mantenimiento de los niveles de Hb1Ac en los T14 y T28 y un aumento en el último tiempo con un valor muy similar al del último tiempo del CD+G.

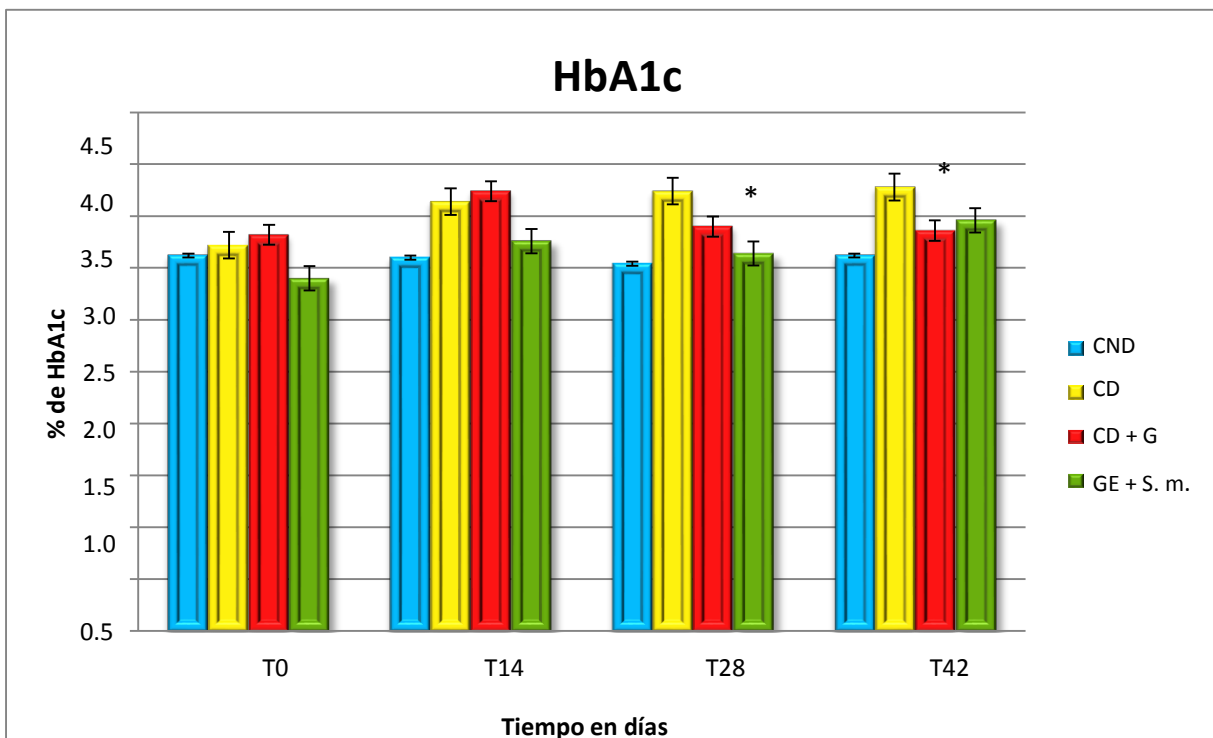


Figura 12. Gráfica con los valores de la media \pm error estándar del porcentaje de HbA1c. *Diferencia significativa vs CD $p \leq 0.05$.

Triglicéridos

Tabla 3. Valores medios de triglicéridos

Grupos	Triglicéridos (mg/dL)			
	T0	T14	T28	T42
CND	71 \pm 4	79 \pm 15	66 \pm 3	68 \pm 12
CD	53.7 \pm 4	77 \pm 4	119.2 \pm 2 ¹	113.4 \pm 4 ¹
CD+G	69 \pm 4	89 \pm 4	100 \pm 16	115 \pm 4
GE + S.m.	79.6 \pm 5	76.2 \pm 13	62.4 \pm 18 ^a	74.4 \pm 10 ^a

n = 5. Los valores representan la media \pm error estándar. 1. Significativo contra el T0 de su propio grupo. a. significativo contra el CD ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con los datos obtenidos en la Tabla 3:

- **Grupo CND.** Los niveles de Tg en este grupo se mantuvieron por debajo de los niveles del CD a partir del T28 debido a que el T0 del grupo CD fue muy abajo respecto al CND.

- **Grupo CD.** Los niveles de Tg son estadísticamente significativos con el T28 y T42 respecto a su T0 y en la figura 13 se puede observar un aumento a partir del T14, siendo el grupo que presentó los niveles más elevados en el T28.

- **Grupo CD + G.** Los niveles de Tg son estadísticamente significativo contra su T0 en los tiempos T28 y T42 y en el T28 con el grupo CD. Al igual que el grupo CD presenta un aumento considerable a partir del T14. De acuerdo a la figura 13 se puede observar que el fármaco no es capaz de regular los niveles de Tg en la sangre plasmática de las ratas.

- **Grupo GE + S.m.** Los niveles de Tg son estadísticamente significativos en el T28 y T42 contra el grupo CD. Se puede observar claramente en la figura 13 que los niveles de Tg en éste grupo siempre se mantuvieron por debajo del grupo CD y CD+G a partir del T14 y a partir del análisis estadístico se comprueba que no hay diferencias significativas entre el mismo grupo respecto a su T0 por lo que el extracto Et-Ag de la raíz de *S. moranensis* fue el responsable de que no hubiera un aumento.

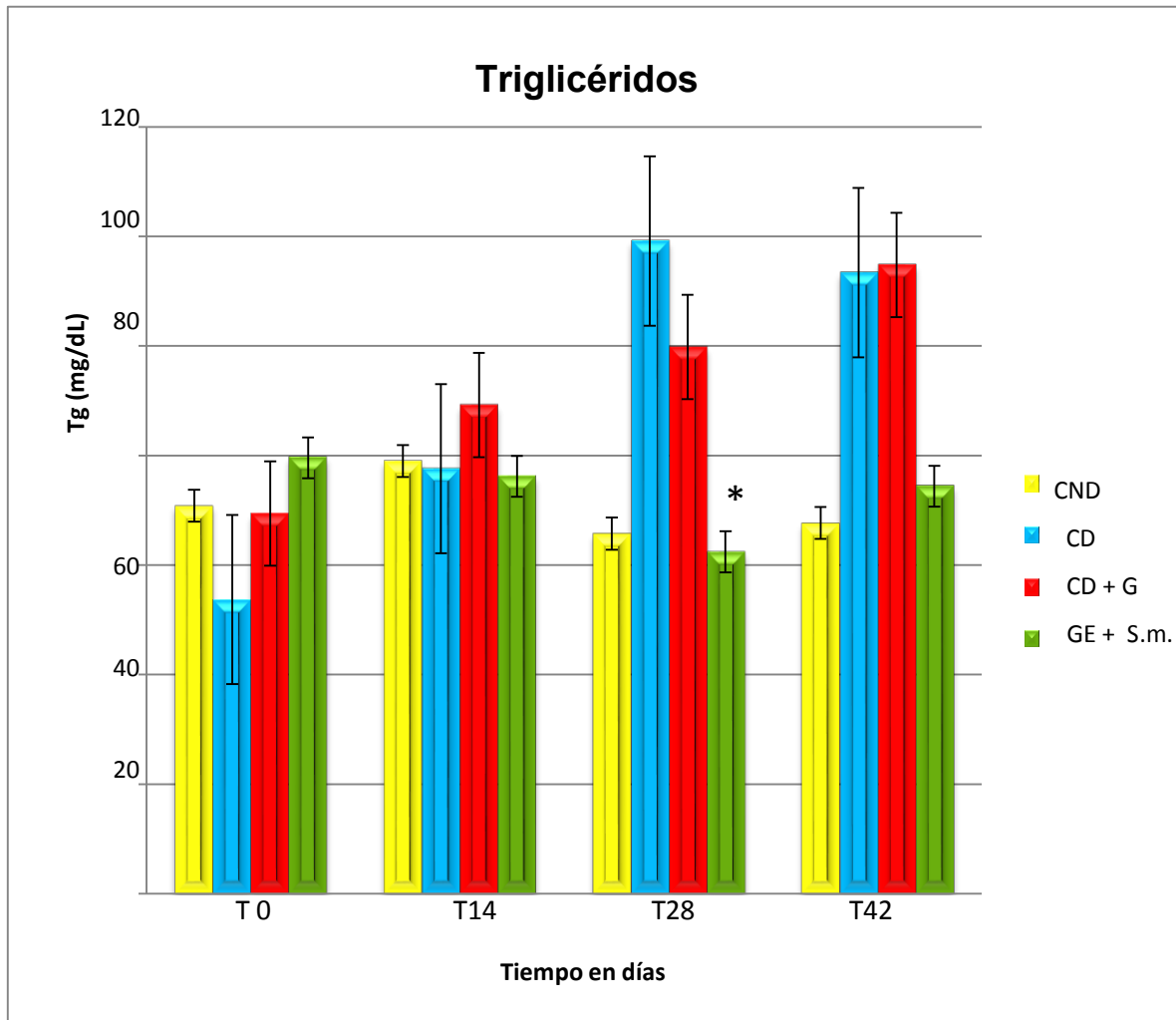


Figura 13. Gráfica con los valores de la media \pm error estándar de los valores de Tg. *Diferencia significativa vs CD $p \leq 0.05$.

Colesterol HDL

Los niveles de Colesterol HDL en sangre con los tratamientos se encuentran en la tabla 4, se indican los valores que son estadísticamente significativos contra el grupo diabético y contra el T0 de su propio grupo a una $p \leq 0.05$.

Tabla 4. Valore medios de colesterol HDL

Grupos	HDL (mg/dL)			
	T0	T14	T28	T42
CND	33 ± 5	30 ± 1	38 ± 6	28 ± 1
CD	28 ± 5	33 ± 2	33 ± 5	31 ± 1
CD+G	47 ± 5	37 ± 2	43 ± 5	43 ± 1
GE + S.m.	27 ± 4	40.4 ± 2 ¹	39 ± 5 ¹	39 ± 1 ¹

n = 5. Los valores representan la media ± error estándar. 1. Significativo contra el T0 de su propio grupo. a. significativo contra el CD ($p \leq 0.05$).

De acuerdo con los datos presentados en la Tabla 4:

- **Grupo CND.** Los niveles de colesterol HDL en éste grupo no presento diferencia significativa entre sus tiempos respecto a su T0.
- **Grupo CD.** En este caso los niveles de colesterol HDL tampoco son estadísticamente significativos respecto a su T0 y con respecto al resto de los grupos.
- **Grupo CD + G.** Los niveles de colesterol HDL en éste grupo tampoco son estadísticamente significativos respecto a su T0 y en contra a los demás grupos.

- **Grupo GE + S.m.** Los niveles de HDL son estadísticamente significativos para T14, T28 y T42 respecto a su T0 pero no contra el resto de los grupos. Sin embargo el análisis estadístico demuestra que el extracto de la raíz de *S. moranensis* es capaz de aumentar los niveles de HDL en la sangre plasmática de las ratas.

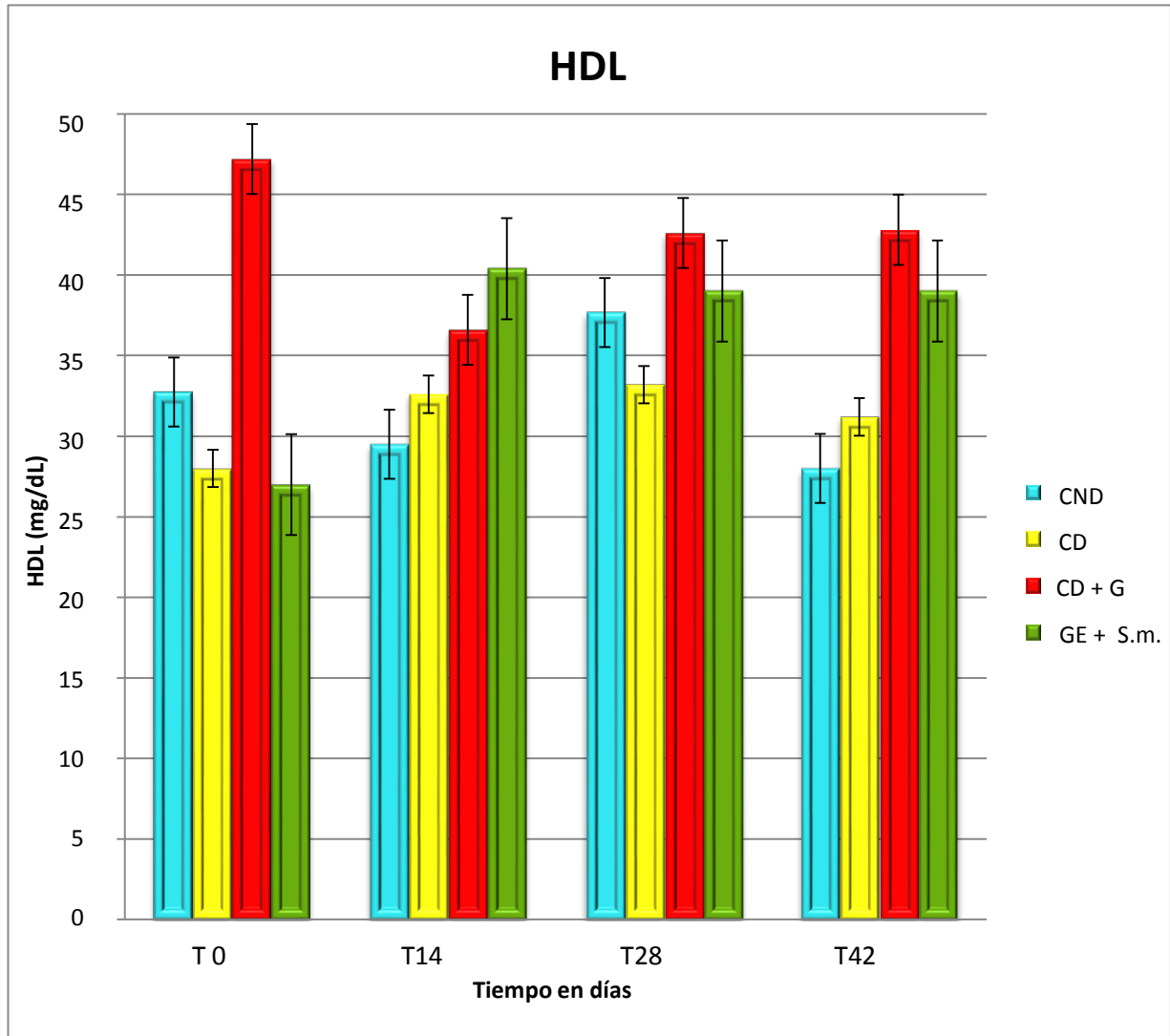


Figura 14. Gráfica de los valores de la media \pm error estándar de los valores de HDL.
*Diferencia significativa vs CND $p \leq 0.05$.

Colesterol

Los niveles de colesterol no presentaron ningún cambio durante el tratamiento, todos los valores fueron <100 , por lo que no se realizó ninguna prueba estadística y tampoco se graficaron los resultados obtenidos.

VII. DISCUSIÓN

La medicina tradicional mexicana ha cambiado a través del curso de los siglos, interactuando con otros modelos terapéuticos para conformar lo que llamamos el “sistema real de salud” de millones de mexicanos del siglo XXI. Asociada fuertemente a las plantas medicinales debido a que es el recurso más abundante, accesible y conocido del mundo (BDMTM, 2014). El uso de plantas medicinales usadas para el tratamiento de diabetes tiene gran auge en nuestro país según reporta Andrade-Cetto y Heinrich (2005), destacando así la importancia de estudios para validar su efecto hipoglucemiante y con ello el posible descubrimiento de nuevos principios activos para el tratamiento de este padecimiento.

La finalidad de este estudio, fue analizar el efecto hipoglucemiante de la raíz *Smilax moranensis* administrada en forma crónica, sobre los niveles de glucosa sanguínea, HbAc1 y el perfil lipídico (Tg, Colesterol y HDL), utilizando el modelo STZ-NA que es adecuado de acuerdo a los niveles de glucemia estandarizados para ratas Wistar.

Hoy en día no contamos con un modelo animal que desarrolle todas las características de la DM2, sin embargo, el modelo STZ-NA garantiza que al tercer día de la administración la rata presente una hiperglucemia muy similar a la de la DM2, logrando valores de hiperglucemia mayores a 200 mg/dL (López-Salcido, 2002), sin embargo, en este trabajo se observa en el cuadro 2 que los valores de glucosa fueron mayores a 170 mg/dL considerando estos niveles adecuados de acuerdo a los valores indicados por Harlan™ para ratas cepa Wistar.

El modelo STZ-NA presenta una respuesta favorable a hipoglucemiantes orales como glibenclamida y metformina, de acuerdo a los resultados obtenidos en diferentes estudios realizados por el laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad

de Ciencias, UNAM. Los cuales fueron comprobados durante el tratamiento crónico con Glibenclamida.

Algunos de los cambios vasculares en los modelos de DMT2 se han atribuido a elevaciones en la glucosa sanguínea, HDL, LDL, colesterol, triglicéridos y radicales libres (Masiello 1990), por lo que un control adecuado de los niveles de glucosa sanguínea contribuye a mantener niveles normales de los perfiles lipídicos, que como se observa en los resultados obtenidos de este trabajo (Figuras 11-14), el efecto regulatorio de los niveles de glucosa y el perfil lipídico fue mantenido por la administración del extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis*.

Como se puede ver en la tabla 1, la glibenclamida sí tuvo diferencia significativa al final del tratamiento respecto a su T0 y con respecto al grupo CD, quedando demostrado su efecto hipoglucemiante para el modelo STZ-NA, debido a que la glibenclamida tiene un efecto secretor de insulina en el páncreas, por lo tanto provocó un aumento en la secreción de insulina de las células β pancreáticas en el torrente sanguíneo de los animales utilizados, bajando sus niveles de glucemia (Velasco, 2002).

En el caso del efecto del extracto de la raíz de *S. moranensis* (Tabla 1), a partir del día 7 y hasta transcurridos los 42 días, la planta fue capaz de mantener regulados los niveles de glucosa sanguínea, manteniendo niveles de glucemia por debajo de los obtenidos en el grupo CD y CD+G durante todo el tratamiento, siendo también estadísticamente significativos a partir del T7 (Figura 11).

Por último, para los resultados obtenidos en el perfil lipídico que se midieron en este estudio fue posible determinar que en el caso de los Tg en el grupo CD a partir del T28 los niveles empiezan a incrementarse; sin embargo el fármaco control no tuvo ningún efecto sobre los niveles de Tg, por otro lado, el extracto de la planta

tuvo un efecto regulatorio a partir del T14 respecto al grupo CD, por lo que el extracto Et-Ag de la raíz de la planta es capaz de mantener los niveles de Tg por debajo de los niveles del grupo CD, los cuáles se fueron incrementando durante el tratamiento. Sin embargo, estos valores elevados podrían indicar que hubo una poca secreción de insulina, favoreciendo una dislipidemia y por tanto una hipertrigliciridemia que no fueron controlados con un fármaco secretagogo de insulina.

En el caso del colesterol y de las HDL no se observaron diferencia significativa, para los niveles de colesterol no fue posible evaluar nada debido a que todos los valores fueron <100 mg/dL. Por otro lado, el colesterol HDL tampoco presentó cambios, se esperaría que los valores aumentaran debido a que las HDL aumentan a partir de un buen control de la glucemia en pacientes con DM2. El colesterol HDL ayuda a remover depósitos aterogénicos que se forman en la luz de los vasos sanguíneos y no permiten que éstos se bloqueen, por lo tanto mantener alto el nivel de éste, protege el corazón de los pacientes diabéticos que tienen alto riesgo de complicaciones cardiovasculares (ALAD, 2014).

Sin embargo, se puede observar una tendencia de incremento en los niveles de HDL a pesar de que los resultados no fueron significativos, (Figura 14) por lo tanto es necesario la realización de nuevos estudios para la búsqueda de los compuestos químicos responsables de que el extracto de la raíz de la planta tenga estos efectos regulatorios de la glucosa plasmática, HbA1c, triglicéridos y colesterol HDL.

VIII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir:

- El modelo STZ-NA es un modelo adecuado para estudios crónicos ya que mantiene los niveles de hiperglucemia por largos periodos en ratas.
- La administración crónica por vía oral del extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis* a una dosis de 80 mg/dL presentó un efecto hipoglucemiante en ratas STZ-NA, a partir del T7 con valores estadísticamente significativos hasta el T42.
- La administración crónica por vía oral del extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis* a una dosis de 80 mg/dL mantiene regulados el porcentaje de HbA1c en sangre a partir del T28 respecto al grupo CD en ratas STZ-NA.
- La administración crónica por vía oral del extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis* a una dosis de 80 mg/dL mantiene regulados los niveles de Tg a partir del T28 con respecto al grupo CD en ratas STZ-NA.
- La administración crónica por vía oral del extracto etanol-agua de la raíz de *S. moranensis* a una dosis de 80 mg/dL no presentó diferencias estadísticamente significativos con respecto al grupo CD en colesterol HDL y colesterol total.

XIX. LITERATURA CONSULTADA

- ADA. 2014. American Diabetes Association. Página web: www.diabetes.org
- ADA. 2011 Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*; 2011 61(1,suppl): 62-69.
- ADAL. 2014. Asociación Latinoamericana de Diabetes. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 2. Página web: www.alad-latinoamerica.org
- Adame Martínez J, Adame Martínez H. 2000 Plantas Curativas del Noreste Mexicano. Castillo, México
- Aguilar Salinas CA *et al*; Diagnóstico y tratamiento de las dislipidemias, posición de la SMNE, *Revista de Endocrinología y nutrición* 2004, Vol 12, No. 1
- Alarcón-Aguilara, R. Roman-Ramos, S. Pérez-Gutiérrez, A. Aguilar-Contreras, C. Contreras-Weber y J. Flores-Saenz. 1998. Study of the anti-hyperglycemic effect of plants used as antidiabetics. *Journal of Ethnopharmacology* 61: 101 – 110.
- Andrade-Cetto, A. 2011. Hypoglycemic effect of *Smilax moranensis* root on n5-STZ diabetic rats. *Pharmacologyonline* 1:111-115
- Andrade-Cetto A y Hienrich M. 2005. Mexican plants with hypoglycemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 99:235-248
- Andrade-Cetto A, Revilla- Monsalve C, Wiedenfeld H. 2007b. Hypoglycemic effect of *Cecropia peltata* L. on n.streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 112(1):96-100.
- Andrade-Cetto, A., Wiedenfeld, H., 2001. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on Streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 78, 145–149.
- Andrade-Cetto. Heinrich, M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99. 325–348.

- Arias Díaz J. y J. Balibrea. 2007. *Modelos animales de intolerancia a la glucosa y Diabetes tipo 2*. Departamento de Cirugía. Hospital Clínico San Carlos. Facultad de Medicina. Universidad Complutense de Madrid, España.
- BDMTM. 2014. Biblioteca Digital de Medicina Tradicional Mexicana. Pagina web: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx>
- COFEPRIS. 2014. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. Pagina web: www.cofepris.gob.mx
- Díaz Díaz O. Diabetes. Rev Cubana Med Gen Integr 1992;8(3):218-28.
- Dos Santos, J.R, Fleurentin, J. 1990. L'Enthopharmacologue: une approche pluridisciplinaire. En: *Etnopharmacologie. Sources. Methodes, onjetsiís*. Orstom. France.
- Expert Committee of the Canadian Diabetes Advisory Board. Clinical practice guidelines for treatment of diabetes mellitus. *Can Med Assoc J* 1992;147(5):697-712.
- FMD. 2012. Federación Mexicana de Diabetes. Pagina web: www.fmdiabetes.org
- Foster DW. Diabetes mellitus. En: Isselbacher KJ, ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 13 ed. New York: McGraw-Hill, 1994:1979-2000.
- García R, Suárez R. Guía para la educación al paciente diabético no insulín dependiente en la APS. La Habana: Instituto Nacional de Endocrinología y Comisión Nacional de Diabetes, 1996.
- Galbis, J, Panorama actual de la química farmacéutica. Edit.Universidad de Sevilla. 2da Edi. España. pp 374.
- Ganda O.P. et al. 1976. *Studies on streptozotocin diabetes*. *Diabetes*, 25 (7): 595-603.
- Gorzalczany, S. Estudios preclínicos en la evaluación etnogarmacológica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, vol. 6, núm. 5, 2007, p. 161.

- Hadden, DR. 2005. Goat's rue - French lilac - Italian fitch – Spanish sainfoin: *Gallega officinalis* and metformin: The Edinburgh connection. *Journal royal College of Physicians of Edinburgh*. 35:258-260.
- Herrera-Arellano, A, Aguilar-Santamarina L. García-Hernandez B, Nicasio-Torres P, Tortoriello J. Clinical trial of *Cecropia obtusifolia* and *Marrubium vulgare* leaf extracts on blood glucosa and serum lipids in type 2 diabetics. *Phytomedicine* 2004; 11; 561-566.
- Holmstedt B.O. y Bruhn J.G. 1983. Ethnopharmacology a challenge. *Journal of Ethnopharmacology*. 8:251-256.
- Instituto de Biología. "*Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti - *IBUNAM:MEXU:PVsn14799*". UNIBIO: Colecciones Biológicas. 2010-05-27. Universidad Nacional Autónoma de México. Consultada en: 2012-11-24.
- Lorenzo, M. Resistencia a insulina en el músculo esquelético: ejercicio y activación de receptores nucleares como estrategias terapéuticas. Monografía XXIV. Redes de señalización y estrategias terapéuticas 2009.
- Masiello P., Broca C, Gross R., Roye M., Manteghetti M., Hillaire-Buys D., Novelli M., Ribes G. 1998. Experimental NIDDM. Development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamid. *Diabetes*,47:224-229.
- Mayer, JE. 1934. *The Herbalist and Herb Doctor*. Indiana Botanic Gardens, Hammond, Indiana, USA.
- Medina, E. 2012. Estudio del efecto hipoglucemiante de *Bromelia plumieri* (E. Morr.) L.B. Smi. En ratas tratadas con NA-STZ. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Mohamed Eddouks, Debprasad Chattopadhyay, and Naoufel Ali Zeggwagh, "Animal Models as Tools to Investigate Antidiabetic and Anti-Inflammatory Plants," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2012, Article ID 142087, 14 pages, 2012. doi:10.1155/2012/142087.

- Murrow, B. A; y Hoehn, K. L. 2010. Mitochondrial regulation of insulin action. *The international journal of biochemistry y cell biology*, 42, 1936-1939.
- OMS. 2012. Organización mundial de la Salud. Pagina web: www.who.int/es
- Palapa, S. 2013. Efecto hipoglucemiante de extractos de la raíz de *Smilax moranensis* M. Martens & Galeotti en ratas n5-STZ. Tesis. Facultad de Ciencias. UNAM.
- Rakieten, N. }rakieten, M.L. and Nadkarmi, M.V. 1963. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemtherap. Rep.* 29: 91.98.
- Santillo, H., 2001. Hierbas. La Curación Natural. Edit. Subhuti Dhramanada. Grupo editorial Tomo, S.A. de C.V. 585 pp.
- Schneider SH, Amoroso LF, Khachadimian AK. Studies on the mechanism of improved glucose control diving regular exercise in type 2 diabetes. *Diabetologia* 1984;26:355-60.
- Simó, R. y Cristina, H. 2002. Tratamiento de la diabetes mellitus: objetivos generales y manejo en la práctica clínica. Seccion de Endocrinología. Hospital General Vall d'Hebron. Barcelona. *Rev Esp Cardiol.* 55 (8):845-860.
- SSP. 2012. Secretaría de Salud Pública. Pagina web: portal.salud.gob.mx
- Stumvoll, M. Type 2 diabetes: pinciples of pathogenesis and thepapy. *The Lancet* 2005. Vol. 365: 1333-46.
- Szkudelski, T. 2001. The mecanism of alloxan and streptozotocin action in Bcells of the rat páncreas. *Physiological Research.* 50:536-546.
- Tamayo C. Fitoterapia basada en evidencia. *Revista de Fitoterapia* 2006, Vol 6. No. 1

- Tebar, F.J. 2009. La Diabetes Mellitus en la Practica Clínica.Ed. Médica Panamericana. Argentina. pp. 520.
- Téllez, O.V. 1996. *Flora del Valle de Tehuacán – Cuicatlán. Fascículo 11. Smilacacea*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Velasco M.A. 2004. *Farmacología Clínica y Terapéutica Médica*. 1ra ed. Mc Graw Hill-Interamericana, Madrid, p 394-395.
- Zavala, C. 2009. Eje Entoroinsular y Diabetes tipo 2. Departamento de Medicina Interna. Unidad de diabetes. Clínica Las Condes.