



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**Estudio del efecto hipoglucemiante de *Ageratina
petiolaris* en ratas STZ - NA.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

Angelina Daniela Moreno Vargas



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. ADOLFO ANDRADE CETTO
2015**

Ciudad Universitaria, D. F.



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.

1. DATOS DEL ALUMNO

Moreno
Vargas
Angelina Daniela
15 63 58 01
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306097869

2. Datos del Tutor

Dr.
Adolfo
Andrade
Cetto

3. Datos del Sinodal 1

Dra.
Pilar
Durán
Hernández

4. Datos del Sinodal 2

Dr.
René de Jesús
Cárdenas
Vázquez

5. Datos del Sinodal 3

Dra.
Helia Reyna
Osuna
Fernández

6. Datos del Sinodal 4

Biól.
Christian Alan
Cabello
Hernández

7. Datos del trabajo escrito

Estudio del efecto hipoglucemiante de *Ageratina petiolaris* en ratas STZ – NA
61 p
2015

Dedicada a:

*Mis padres Nancy Vargas y José
Julio Moreno a mis hermanos
Yazmín, Julián y Nancy a mis
sobrinos Haru, Toño y Julio y a Mi
Dany.*

*“Vive como si fueras a morir mañana.
Aprende como si fueras a vivir para
siempre”*

Mahatma Gandhi

AGRADECIMIENTOS ACADEMICOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por dejarme ser parte de ella como estudiante de bachillerato y como estudiante de licenciatura.

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto Director de esta tesis, por recibirme en su laboratorio y darme su voto de confianza para ser parte de su equipo, por su apoyo y las facilidades brindadas para la realización de mis experimentos.

A la Dra. Pilar Durán Hernández, Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez, Dra. Helia Reyna Osuna Fernández por ser parte de mi jurado y por sus valiosas sugerencias y correcciones que me ayudaron a enriquecer mi trabajo escrito.

Al Biól. Christian Alan Cabello Hernández porque desde antes que escribiera toda mi tesis me corregía los pequeños avances que realizaba, gracias por darme ideas para mi trabajo escrito y gracias por tus aportaciones y sugerencias.

A todos mis compañeros del laboratorio de etnofarmacología por aceptarme en su grupo de trabajo, por todas sus enseñanzas y su paciencia.

A la M. en C. Jazmín Samario por sus clases y por el apoyo en la realización de mis experimentos.

A la Dra. Sonia Escandón por ayudarme en la búsqueda de información que forma parte de mi escrito.

A la M. en C. Celia Bustos Brito por el aporte de la planta estudiada, y por su valiosa contribución en la parte fitoquímica de la planta.

A cada uno de mis profesores que son parte valiosa de mi formación, en especial a los profesores que tuvieron gran influencia en mí, a la Profesora Alicia y al Profesor Julio.

A DGAPA, PAPIIT IN214413 y CONACyT CB-151264 por contribuir con recursos para financiar la realización del proyecto.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A mis padres Nancy Vargas Silva y José Julio Moreno Sevilla porque gracias a su apoyo, consejos y su amor incondicional, cumplí con unas de mis metas: la culminación de mi carrera profesional. Gracias por respetar todas mis decisiones ya que gracias a ello aprendí a ser una persona independiente y han formado parte de mi crecimiento, espero ser un motivo de orgullo. Gracias por heredarme una de las riquezas más importantes: la educación, gracias por su sacrificio y esfuerzo, tengo una vida para agradecerles lo mucho que me han brindado aunque esta vida se quedara muy corta para demostrar mi gratitud y admiración. Los amo.

A mis hermanos Yazmín, Julián y Nancy porque gracias a su cariño y apoyo han formado parte de cada una de las etapas de mi vida. Gracias Yaz por darme a mis sobrinos Haru y Toño aunque son muy traviosos e inquietos siempre me mantienen pensando con sus preguntas de ¿Por qué...? Gracias Haru y Toño por ser parte de mi vida y ser su tía favorita. Gracias Julián y Bere por darme a mi sobrinito Julio (cuyito) que con tan solo una sonrisa me alegra el día. Gracias a mi hermana pequeña Nancy, me esforzare para darte un buen ejemplo y que te sientas orgullosa de tu hermana.

Por el amor y apoyo que siempre me has dado Mi Dany, por estar presente en mi vida y dejarme estar presente en la tuya. Gracias por ser parte de este logro y por compartir tus metas y sueños conmigo. Esta es una de las muchas metas que nos hemos propuesto y que formaran parte de nuestras vidas. Gracias por sentirte orgulloso de mí así como yo lo estoy de ti.

A la familia Rodríguez Saavedra por aceptarme como un miembro más de su hermosa familia. Gracias a la Sra. Rosa y al Sr. Eladio por su apoyo y consejos. Gracias a cada uno de los miembros de esta cariñosa familia en especial a Luz por sus charlas y consejos cada vez que nos vemos. Gracias.

Gracias al Dr. Adolfo Andrade Cetto por su ayuda en la realización de mis experimentos y soportarme cada vez que decía que no tenía con que trabajar, gracias y lo estaré molestando unos añitos más.

A todos mis compañeros del laboratorio Artemisa, Gaby, Gerardo A. Iliana, Roció, Viridiana, M. en C. Jazmín Samario y a la Dra. Sonia Escandón, en especial a Christian, David y Gerardo M. por enseñarme técnicas y por apoyarme en mis experimentos.

Gracias a la M. en C. Paty por sus pláticas entretenidas y consejos en la realización de este trabajo.

CONTENIDO

Abreviaturas

Índice de Figuras

Índice de Tablas

1. Resumen
2. Introducción
3. Antecedentes
 - 3.1. Diabetes mellitus
 - 3.1.1. Breve historia de la DM
 - 3.1.2. Sintomatología
 - 3.1.3. Clasificación
 - 3.1.4. Diagnóstico de la Diabetes mellitus tipo 2
 - 3.1.5. Tratamiento
 - 3.2. Modelos animales más utilizados para el estudio de la DM2
 - 3.2.1. Modelo Estreptozotocina – Nicotidamida (STZ-NA)
 - 3.3. Etnofarmacología
 - 3.3.1. Plantas hipoglucemiantes
 - 3.3.1.1. *Ageratina petiolaris* (Moc. ex. DC.) R. King & H. Rob.
4. Justificación
5. Objetivos
6. Hipótesis
7. Método
 - 7.1. Inducción de la hiperglucemia
 - 7.2. Extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* Moc & Sessé ex DC
 - 7.3. Administración de tratamientos
8. Resultados
9. Discusión
10. Conclusión
11. Referencias
12. Anexos

Abreviaturas

ADA	Asociación Americana de Diabetes
AMD	Asociación Mexicana de Diabetes
AMP	Adenosin monofosfato
AMPK	Adenosin monofosfato quinasa
ADP	Adenosin difosfato
ATP	Adenosin trifosfato
Ca ⁺⁺	Calcio
CDC	Centros para el Control y Prevención de enfermedades
CO ₂	Dióxido de carbono
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ENSANUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición
FNκβ	Factor Nuclear kappa beta
FADH ₂	Flavín Adenín Dinucleótido
FID	Federación Internacional de Diabetes
GLUT	Trasportador de glucosa
H	Hiper glucémico
H+E	Hiper glucémico + Extracto
H+E+G	Hiper glucémico + Extracto + Glucosa
H+G	Hiper glucémico + Glucosa
H+GLI	Hiper glucémico + Glibenclamida
H+REP+G	Hiper glucémico + Repaglinida + Glucosa
HbA _{1c}	Hemoglobina glucosilada
HDL	Lipoproteína de alta densidad
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
IR	Receptor de insulina
IRS	Sustrato del Receptor de Insulina
JNK	C-Jun N-terminal cinasa

K ⁺	Potasio
MAPk	Proteína cinasa activadora de mitosis
Na	Sodio
NA	Nicotinamida
NADH	Nicotinamida Adenina dinucleotido
NH	No Hiperglucémico
NH + G	No Hiperglucémico + Glucosa
NSIS	No Sulfonilureas Secretagogos de Insulina
OMS	Organización Mundial de la Salud
PI3K	Fosfatidil Inositol 3 cinasa
RE	Retículo endoplásmico
ROS	Especies reactivas de Oxígeno
SGLT	Transportador de glucosa asociados a Sodio
SU	Sulfonilureas
STZ	Estreptozotocina

Índice de Figuras

- Figura 1. Número de personas diabéticas estimadas por la ADA, FID y la OMS.
- Figura 2. Tejidos afectados por la resistencia a la insulina.
- Figura 3. Algunos genes involucrados con la resistencia a la insulina.
- Figura 4. Fisiopatología y evolución de la DM2.
- Figura 5. Interacción de la disfunción mitocondrial y estrés del RE con la resistencia a la insulina.
- Figura 6. Interrelación entre adipocinas, adipocitos y sensibilidad a la insulina.
- Figura 7. Mecanismos de acción de los secretagogos de insulina.
- Figura 8. Glibenclamida.
- Figura 9. Repaglinida.
- Figura 10. Estreptozotocina.
- Figura 11. Nicotidamida.
- Figura 12. La etnofarmacología y sus enlaces con otras disciplinas.
- Figura 13. Ejemplar de herbario de *Ageratina petiolaris*.
- Figura 14. Estructura del ácido clorogénico.
- Figura 15. Vías que son activadas e inhibidas por la AMPK.
- Figura 16. Estructura del L-quirositol.
- Figura 17. Niveles de glucosa sanguínea en grupos sin carga de glucosa.
- Figura 18. Niveles de glucosa sanguínea en grupos con carga de glucosa.

Índice de Cuadros

- Cuadro 1. Clasificación etiológica de la Diabetes mellitus.
- Cuadro 2. Niveles de glucosa sanguínea en personas normales, prediabéticas y diabéticas con diferentes pruebas de tolerancia a la glucosa.
- Cuadro 3. Hipoglucemiantes orales más utilizados en el tratamiento de la diabetes tipo 2.
- Cuadro 4. Modelos animales para el estudio de la DM2.
- Cuadro 5. Tratamientos de los grupos sin carga de glucosa.
- Cuadro 6. Tratamientos de los grupos con carga de glucosa.
- Cuadro 7. Niveles de glucosa sanguínea en grupos sin carga de glucosa.
- Cuadro 8. Niveles de glucosa sanguínea en grupos con carga de glucosa.

Figuras y Cuadros Anexos

- Figura 1. Principales órganos afectados por el control inadecuado de la DM2.
- Figura 2. Insulina humana.
- Figura 3. Estimulación de la secreción de glucosa y producción de insulina.
- Figura 4. Estructura del receptor de insulina.
- Figura 5. Activación de la vía de las MAPK por activación de la insulina.
- Figura 6. Activación de la vía PI3K/Akt por la insulina.
- Figura 7. Regulación del transportador de glucosa por la insulina.
- Cuadro 1. Clasificación de sistemas facilitadores del transporte de glucosa GLUT.



1. RESUMEN

La Diabetes mellitus (DM) se ha convertido en una epidemia mundial, la Organización Mundial de la Salud (OMS) nos dice que existen 347 millones de personas con diabetes en el mundo y para el año 2035 la Federación Internacional de Diabetes (FID) estima que habrán 582 millones de personas con esta enfermedad (FID, 2013) (OMS 2014).

El principal tratamiento para la Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es la dieta y el ejercicio acompañada de la ingesta de hipoglucemiantes orales. En México no se tiene un seguimiento médico estricto de algunas enfermedades incluida la DM2. Nuestro país se caracteriza por ser un país megadiverso y multicultural en el que todavía está presente la medicina tradicional; ésta tiene un lugar importante en el tratamiento de la DM2 sobre todo en regiones rurales en donde los servicios médicos son escasos o no están presentes, pero se cuenta con un listado de plantas medicinales utilizadas en las comunidades, algunas de estas plantas no han sido estudiadas para evaluar sus efectos medicinales.

En el presente trabajo, se probó el efecto del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* Moc & Sessé, la cual ha sido reportada para el tratamiento de DM2 por sus efectos hipoglucemiantes. Para observar dichos efectos de ésta planta, se evaluaron sus efectos en dos estados diferentes uno con carga de glucosa y el otro sin carga de glucosa, el modelo utilizado es el Estreptozotocina – Nicotidamida (STZ-NA) que es un modelo de hiperglucemia semejante a la DM. Para evaluar el efecto en estado con carga de glucosa se realizó un control positivo con el fármaco repaglinida + glucosa, y para el estado sin carga de glucosa se utilizó como control positivo el fármaco glibenclamida ambos fármacos secretagogos de insulina. Las mediciones de glucosa sanguínea se realizaron 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración de los tratamientos.

Los resultados obtenidos demuestran que el extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* Moc & Sessé tiene efecto hipoglucemiante después de 90 minutos de su administración pero es incapaz de inhibir el pico hiperglucémico después de una carga de glucosa.



2. INTRODUCCION

En México en el año 2012 se reportó que un 9.2% de los adultos tenían un diagnóstico de DM, lo cual demuestra un incremento respecto al año 2006 en el cual se reportó un 7%. Aproximadamente en nuestro país más de 10 millones de mexicanos padecen Diabetes (ENSANUT, 2012) (INEGI, 2010).

Los estados con mayor prevalencia de diabetes son Distrito Federal, Nuevo León, Veracruz, Estado de México, Tamaulipas, Durango y San Luis Potosí. El 80% de las personas diagnosticadas se encuentran recibiendo tratamiento, de esta cifra el 13% reporta recibir insulina para su óptimo control ya sea como único tratamiento o en combinación con hipoglucemiantes orales (ENSANUT, 2012).

La Diabetes junto con las enfermedades cardiovasculares y la obesidad ocupan el segundo lugar del total de las consultas en hospitales mexicanos (representan el 11.5% de las consultas totales) y es la principal causa de consultas en grupos de más de 50 años de edad ya que el 63.1% de los adultos van a centros médicos por dichos padecimientos (ENSANUT, 2012).

La diabetes es causante de muchas complicaciones entre las que se encuentran la disminución de la vista (47.6% de los diabéticos la presentan), el 7.2% de los pacientes reportan úlceras en la piel, 2.9% han sufrido coma diabético, 2.8% padeció infartos y el 2% ya se les ha amputado un miembro (ENSANUT, 2012).

Algunas complicaciones si no se tratan a tiempo pueden llegar a ocasionar la muerte; por ejemplo en nuestro país en el año 2012 murieron 85,055 personas a causa de la diabetes, esta enfermedad se encuentra dentro de los primeros 3 lugares causantes de mortalidad en México y estos fallecimientos probablemente se debieron por no recibir tratamiento para el control de dicha enfermedad (INEGI, 2012).



3. ANTECEDENTES

En el mundo existen entre 347 y 382 millones de personas diabéticas (Fig 1), la gran mayoría de los pacientes tienen entre 40 a 59 años. Recientemente se ha observado un aumento en los casos diagnosticados de DM2 en niños y adolescentes de todo el mundo, en algunas regiones es la enfermedad que más abunda en éste grupo, por lo tanto la DM2 puede causar muerte prematura (FID, 2013), (OMS 2014).

La diabetes es una de las enfermedades con mayor prevalencia a nivel mundial y consume una fuerte cantidad de recursos económicos, por ejemplo en el año 2013 la diabetes fue responsable del 11% del total del gasto en salud mundial adulta que corresponden a un aproximado de 548 mil millones de dólares (FID, 2013).

Todos estos recursos no bastan para el óptimo tratamiento de la DM ya que dicha enfermedad y sus complicaciones representan los padecimientos con más alta mortalidad. Las afecciones crónicas como las cardiopatías y el accidente cerebrovascular causan más víctimas, según las Estadísticas Sanitarias Mundiales 2008 de la OMS. La diabetes causo 5.1 millones de muertes en el 2013; cada 6 segundos una persona muere a causa de las complicaciones que conlleva dicha enfermedad (FID, 2013), (OMS, 2014)

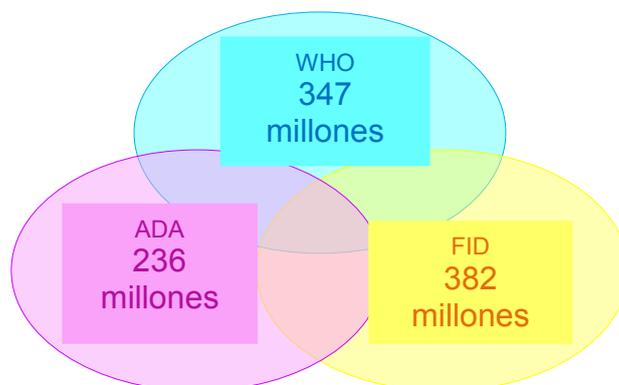


Figura1. Número de personas diabéticas estimadas por la ADA, la FID y la OMS. Cifras tomadas de ADA, FID y OMS (2014).



3.1. Diabetes mellitus

La DM se está convirtiendo en una epidemia mundial la cual se relaciona con el aumento de sobrepeso, obesidad y la poca actividad física característicos del estilo de vida que se ha tenido en los últimos años (OMS, 2014).

Se calcula que para el año 2030 la diabetes será la séptima causa de muerte a nivel mundial y que en los próximos 10 años las muertes por diabetes podrían aumentar más de un 50% (OMS, 2014)

La Diabetes tipo 2 representa el 90% del total de los casos a nivel mundial, lo más preocupante es que ésta ha aumentado en niños lo que antes eran casos muy raros (OMS, 2014).

Ésta enfermedad tiene relevancia a nivel mundial y México se encuentra dentro de los primeros 10 países con más casos de diabetes sumado a que nuestro país es el primer lugar de sobrepeso y obesidad de todo el mundo.

La situación en México es alarmante ya que existen alrededor de 10 millones de personas con diabetes, se calcula una prevalencia nacional del 14.3% en la población entre 20 y 69 años de edad. Es la primera causa de muerte en la población mexicana, la primera causa en ceguera y también la primera en casos de amputaciones no traumáticas. Esta enfermedad es la principal causa de atención hospitalaria en adultos mayores de 50 años , lo cual da como resultado un consumo del 20% de los recursos económicos de instituciones de salud públicas (AMD, 2014).

Anteriormente se dieron cifras de casos y estimaciones en el padecimiento de la DM pero ¿Qué es la Diabetes mellitus?

El término Diabetes mellitus describe un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizado por hiperglucemia crónica con alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas resultado de defectos en la secreción, acción de la insulina o ambas (WHO, 1999).

La hiperglucemia crónica característica de la diabetes se asocia con el daño a largo plazo, disfunción y falla de diferentes órganos especialmente de los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos causantes de complicaciones crónicas y en algunos casos la muerte.



Muchos procesos patogénicos están involucrados en el desarrollo de la diabetes. Estos van desde la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas como lo es en la diabetes tipo 1 o la consecuente deficiencia anormal de insulina que resulta en la resistencia a la acción de la misma como en la diabetes tipo 2 (estos tipos de diabetes se explicaran adelante) (ADA, 2012).

3.1.1. Breve historia de la DM

La palabra Diabetes deriva del griego diabaíno que significa caminar o que transita o que pasa. Fue utilizada por primera vez por Thomas Willis (1621-1675) haciendo referencia a la excesiva expulsión de orina del diabético y mellitus que significa miel y que se refiere al sabor dulce de la orina (Álvarez, 2000).

1550 Se escribió el papiro de Ebers, donde aparece lo que se cree que es la a.n.e. primera referencia de la Diabetes mellitus, así como los remedios para combatir los excesos de orina y detalles sobre dietas para tratar esta enfermedad.

1889 Joseph F. Von Mering (1849 – 1908) y Oskar Minkowski (1859 – 1931) demostraron que la extirpación del páncreas en animales desarrollaba diabetes.

1893 Gustave Laguese (1861 – 1927) postuló que las células descritas por Langerhans no estaban implicadas en la secreción de jugos gástricos y que producían una sustancia que influían en el metabolismo de los carbohidratos. Al conjunto de estas células les llamó islotes.

1936 Harold P. Himsworth demostró las diferencias bioquímicas entre la diabetes insulino dependiente (tipo 1) y no insulino dependiente (tipo 2).

1942 M. J. Janbon y Auguste Loubatières descubrieron los efectos hipoglucemiantes de las sulfonilureas en pacientes con fiebre tifoidea.

1961 Aparece la glibenclamida.

1997 Se introduce la repaglinida en el mercado, fármaco de un nuevo grupo de compuestos hipoglucemiantes orales (Meglitinidas).

Siglo XXI Se comienza a evaluar la aplicación de la terapia celular o regenerativa en los pacientes diabéticos (Álvarez, 2000).



3.1.2. Sintomatología

En una persona diabética la insulina se secreta inadecuadamente o existe una resistencia a ésta, por lo tanto la glucosa en sangre se encuentra en niveles altos tanto en ayuno como después de ingerir alimentos. Al llegar la glucosa sanguínea al riñón se encuentra en exceso (arriba de 180 mg/dl) por lo tanto empieza a eliminarse a través de la orina a esto se le llama glucosuria; una consecuencia ésta es la deshidratación que se presenta y por lo tanto el cuerpo requiere agua para reponer ésta pérdida y aquí se observa otro síntoma que se le conoce como polidipsia.

Debido a la poca absorción de la glucosa la cual es indispensable para la obtención de energía las células musculares no tienen suficiente energía para su adecuada contracción y se da la astenia (cansancio) también se da la pérdida de peso (Madrid, 1998).

La polifagia es otro de los síntomas característicos de las personas con diabetes ya que al no ingresar la glucosa en las células, el organismo tiene la sensación de no estar bien alimentado y por lo tanto la ingesta de alimentos aumenta (Madrid, 1998).

3.1.3. Clasificación

De acuerdo a la OMS (2014) la Diabetes mellitus se clasifica en tres principales tipos.

- ✓ Diabetes mellitus tipo 1: antes conocida como diabetes juvenil y/o insulino-dependiente. Es un padecimiento principalmente de origen autoinmune. Las células beta pancreáticas y también la insulina, son desconocidas por lo tanto son destruidas por el sistema inmune. Este proceso de autodestrucción es gradual y los síntomas comienzan cuando gran parte de las células ya han sido eliminadas. Se ha logrado identificar que esto puede comenzar varios años antes de que se diagnostique a la persona con diabetes. De ser así, se cree que sucede por factores hereditarios y que se manifiesta a partir de un detonante que termina por presentar en este tipo de diabetes (AMD, 2014).



- ✓ Diabetes mellitus tipo 2: antes conocida como no insulino-dependiente o diabetes del adulto. Es un desorden de etiología múltiple que se caracteriza por hiperglucemia crónica y existen alteraciones en el metabolismo de moléculas como son las proteínas, los lípidos y los carbohidratos. Están presentes factores genéticos que determinan el fallo de la secreción de insulina por las células β y la resistencia periférica de insulina (Brunetti, 2014).

La resistencia a la insulina en el músculo, hígado y tejido graso es una característica pronunciada en pacientes con diabetes tipo 2 y obesidad (Fig 2). Entre los individuos destinados al desarrollo de la diabetes tipo 2, la hiperinsulinemia es un mecanismo con el cual las células β pancreáticas compensan inicialmente el deterioro de la sensibilidad periférica de insulina esto asegura una tolerancia normal a la glucosa (Brunetti, 2014).

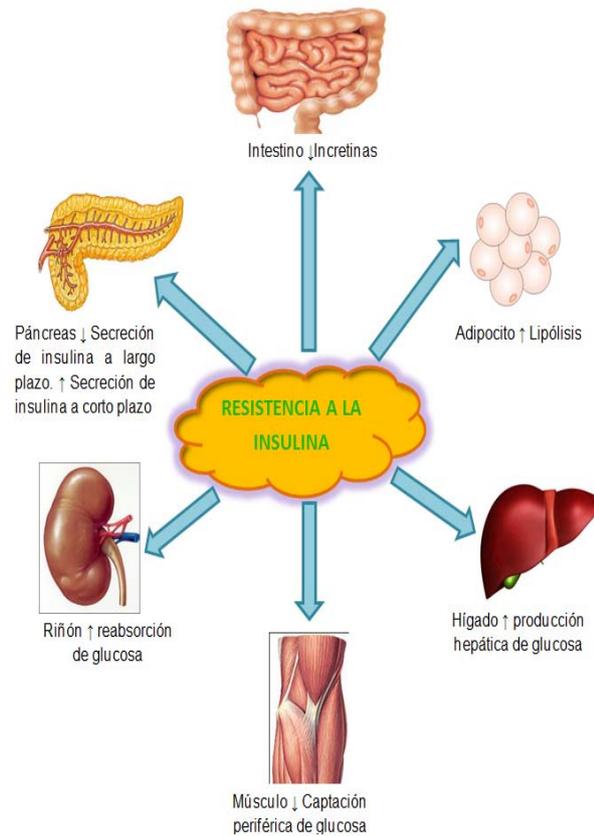


Figura 2. Tejidos afectados por la resistencia a la insulina (Rosas, 2009).

La mayoría de los pacientes tienen sobrepeso u obesidad, la obesidad por sí misma causa algún grado de resistencia a la insulina. La hiperglucemia se desarrolla gradualmente y al principio no es suficientemente severa para causar complicaciones o síntomas característicos de diabetes, pero a pesar de esto son individuos con mayor riesgo de desarrollar complicaciones cardiovasculares. En este tipo de diabetes destacan tres alteraciones fisiopatológicas: trastorno de la secreción de la insulina, resistencia periférica a la misma y producción excesiva de glucosa hepática (Contreras, 2004).



- ✓ Diabetes gestacional: la diabetes gestacional afecta al 18% de los embarazos aproximadamente. Cuando este tipo de diabetes no es controlada puede afectar al bebe, puede generar que él bebe tenga altos niveles de glucosa en sangre, lo que a su vez hace que el páncreas del bebe produzca más insulina para poder controlar los niveles de glucosa. Las complicaciones de la diabetes gestacional van desde hipoglucemia (por producción excesiva de insulina) lo cual genera problemas respiratorios hasta tener obesidad infantil y ser propenso a tener diabetes tipo 2 en la etapa adulta. En las mujeres que padecieron diabetes durante su embarazo existe un 10% de probabilidad que inmediatamente después presenten diabetes tipo 2 y se ha estimado que alrededor de un 35 a un 60% de las mujeres con diabetes gestacional presentan diabetes tipo 2 en los siguientes 20 años (ADA, 2014) (CDC, 2011).

- ✓ Prediabetes: es importante también mencionar la prediabetes en esta clasificación, ya que aunque no se trate de diabetes en sentido estricto (puede ser reversible) puede llegar a serlo; los niveles glucémicos de personas prediabéticas se encuentran más altos de lo normal. Como ya se mencionó estas personas tienen alto riesgo de desarrollar diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares y accidentes cerebrovasculares. Una persona prediabética si cambia su estilo de vida puede prevenir o retrasar la aparición de diabetes tipo 2 y se han reportado casos que pueden llegar a niveles normoglucémicos (CDC, 2011).



Anteriormente se explicaron los principales tipos de diabetes según la OMS (2014) pero cabe mencionar que existe otra clasificación que engloba más tipos de DM, el Cuadro 1 muestra dicha clasificación.

Cuadro 1. Clasificación etiológica de la Diabetes mellitus según la ADA (2012).

Clasificación de la Diabetes mellitus	
<p>I. Diabetes tipo 1: destrucción de las células β lo cual conduce a una deficiencia absoluta de insulina.</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Mediada por inmunidad</p> <p style="padding-left: 20px;">B. Idiopática</p> <p>II. Diabetes tipo 2: predomina la resistencia a la insulina con una relativa deficiencia de la misma, predominantemente defecto en la secreción y resistencia a la insulina.</p> <p>III. Otros tipos específicos</p> <p style="padding-left: 20px;">A. Defectos genéticos de la función de la células β</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Cromosoma 12, HNF -1α (MODY 3) 2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2) 3. Cromosoma 20, HNF-4α (MODY 1) 4. Cromosoma 13, factor promotor de insulina-1 (IPF1; MODY 4) 5. Cromosoma 17, HFN-1β (MODY 5) 6. Cromosoma 10, <i>NeuroD1</i> (MODY 6) 7. DNA mitocondrial 8. Otras <p style="padding-left: 20px;">B. Defectos genéticos en la acción de la insulina</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Resistencia a la insulina tipo A 2. Leprechaunismo 3. Síndrome Rabson-Mendenhall 4. Diabetes lipoatrófica 5. Otras <p style="padding-left: 20px;">C. Enfermedades del páncreas exocrino</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Pancreatitis 2. Trauma/Pancreatocotomía 3. Neoplasia 4. Fibrosis quística 5. Pancreatopatía fibrocalculosa 6. Otras 	<p>D. Endocrinopatías</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Acromegalia 2. Síndrome de Cushing 3. Glucagonoma 4. Feocromocitoma 5. Hipertiroidismo 6. Somatostatinaoma 7. Aldosterona 8. Otras <p>E. Inducida por fármacos o químicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vacor 2. Pantamidina 3. Acido nicotínico 4. Glucocorticoides 5. Hormona tiroidea 6. Diazóxido 7. Agonistas β-adregenergicos 8. Tiazidas 9. Dilantin 10. Interferón y 11. Otras <p>F. Infecciones</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rubeola congénita 2. Citomegalovirus 3. Otras <p>G. Formas con poca frecuencia medidas por inmunidad</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome "Stiff-man" (hombre rígido) 2. Anticuerpos anti. Receptores de insulina 3. Otras <p>H. Otros síndromes genéticos asociados algunas veces con diabetes</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Síndrome de Down 2. Síndrome de Klinefelter 3. Síndrome de Tuner 4. Síndrome de Wolfram 5. Síndrome de Laurence-Moon-Bield 6. Distrofia Miotónica 7. Porphiria 8. Síndrome de Prader-Willi 9. Otras
IV. Diabetes mellitus gestacional	

En el presente trabajo el modelo utilizado para observar el efecto hipoglucemiante de *Ageratina petiolaris* es un modelo de hiperglucemia semejante al de la DM2 por tal motivo es necesario explicar los diferentes factores por los cuales se presenta la DM2.

- Factores genéticos que causan DM2

Genes involucrados en la Diabetes mellitus tipo 2: gen del receptor de insulina, alteraciones en otros genes que generan factores de riesgo como lo son los genes reguladores de la lipólisis y lipogénesis que promueven la obesidad y mutación en el gen del transportador de glucosa tipo 4 (GLUT 4) que causa una reducción en su expresión (Fig 3) (Brunetti, 2014), (Contreras, 2004).

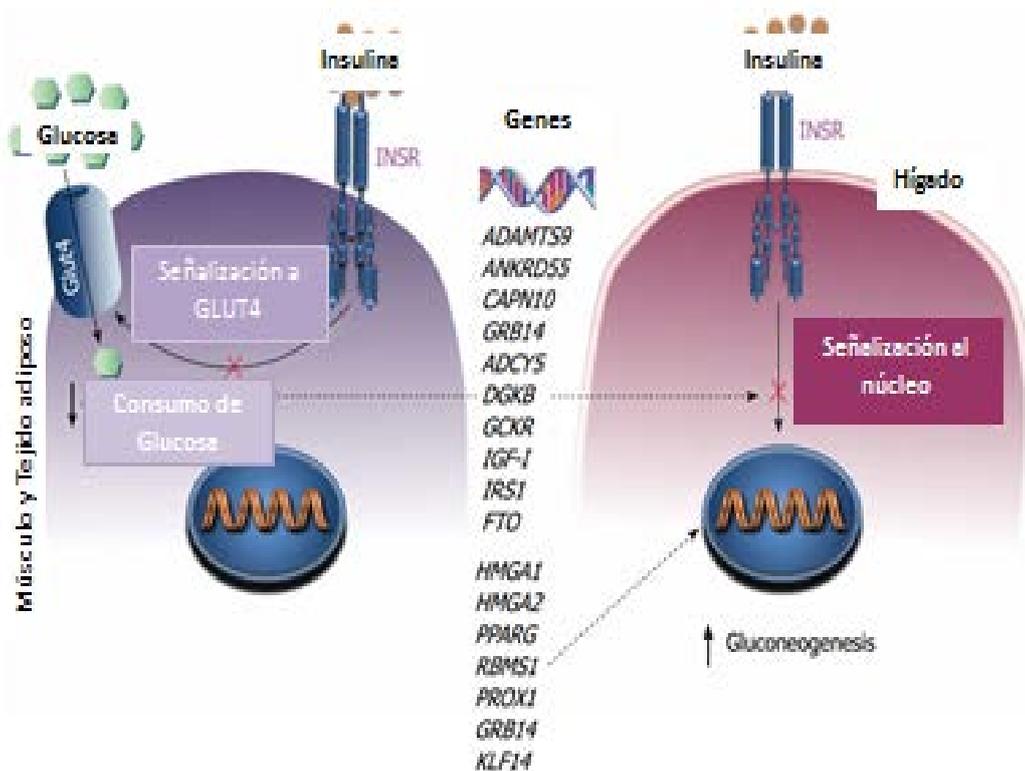


Figura 3. Algunos genes involucrados con la resistencia a la insulina. Modificada de Brunetti (2014).

Los genes mencionados en la Fig. 3 la mayoría están relacionados con la función o tienen algún mecanismo relacionado con la acción de la insulina. A continuación se mencionan los más relevantes.



Función y acción probable del gen ADCY5 adenilato ciclasa, DGKB diacilglicerol quinasa, GCKR regulador de la glucoquinasa, IRS1 elemento en la señalización de insulina, FTO regulador metabólico. Los genes PROX1, GRB14, KLF14 son factores de transcripción que tienen acción sobre la insulina. Debido a la importancia del gen HMGA1 se explica con más detalle a continuación.

El HMGA1 es un regulador clave del receptor de insulina, individuos con defectos en este gen tienen una reducción en la expresión del receptor de insulina y por lo tanto aumenta el riesgo de desarrollar DM2. Las variantes genéticas funcionales del gen HMGA1 han sido asociadas con el síndrome de resistencia a la insulina entre individuos Europeos, Chinos e Hispanoamericanos; estos hallazgos pueden representar nuevas formas para mejorar o incluso prevenir la diabetes tipo 2 (Brunetti, 2014) (Contreras, 2004).

- Factores Ambientales que causan DM2

La ganancia de peso, disminución de actividad física y obesidad (principalmente la grasa en la zona abdominal) causan resistencia insulínica periférica y también disminuye la sensibilidad de las células β pancreáticas a la glucosa. Dieta rica en grasas saturadas y consumo de alimentos con alto índice glucémico favorecen el desarrollo de DM2. (Fig 4) (Contreras, 2004).

- Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina es un estado patológico en el que las células que ordinariamente responden a la insulina, disminuyen su sensibilidad a ésta. Los individuos con resistencia a la insulina están predispuestos al desarrollo de Diabetes mellitus tipo 2, además de asociarseles frecuentemente con un número importante de desórdenes de salud entre los que se encuentran la obesidad, la hipertensión, infección crónica y enfermedades de tipo cardiovascular (Olivares, 2008)

El aumento en el acúmulo de ácidos grasos y triglicéridos conlleva al inicio de una retención por parte de los adipocitos viscerales (obesidad visceral), hepatocitos (hígado graso) y células del músculo esquelético, esta acumulación anormal de grasa en los adipocitos permite que estos se vuelvan hipertróficos y que cursen con resistencia a la insulina.

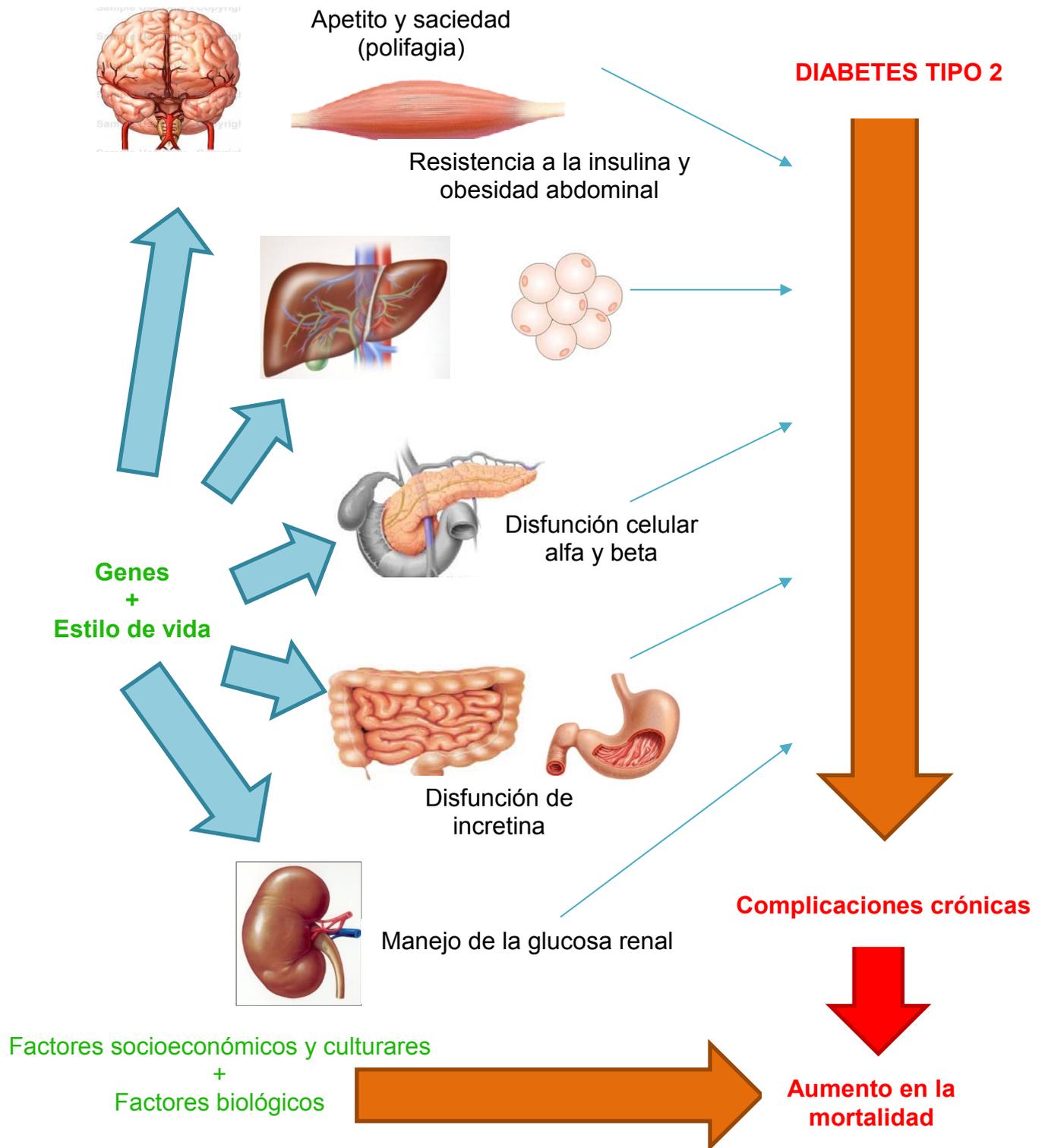


Figura 4. Fisiopatología y evolución de la DM2. Factores genéticos (genes ahorrativos) asociados a un estilo de vida inadecuado (aspectos de nutrición y actividad física) que llevan a un aumento a la resistencia a la insulina y/o obesidad abdominal y con una posible disfunción de las células β , incluyendo factores socioeconómicos y culturales que conllevan al desarrollo de la DM2 que termina con la aparición de complicaciones crónicas que aumentan la mortalidad. Modificada de Rosas (2009).

La resistencia a la insulina se desarrolla debido a la actividad inflamatoria presente en el adipocito, mediante la activación de diversas vías de señalización, en las que están involucradas la mitocondria y retículo endoplásmico. Las vías que participan en dicho proceso son C-Jun N-terminal cinasa (JNK) y la vía del factor nuclear kappa-beta (FNκβ) las cuales permiten la expresión de citocinas proinflamatorias, generación de especies reactivas de oxígeno y activación de apoptosis. Como efecto secundario se da la activación de la vía mitogénica mediada por cinasas (MAPk) lo cual resulta en la resistencia a la insulina (Fig 5) (Rosas, 2009).

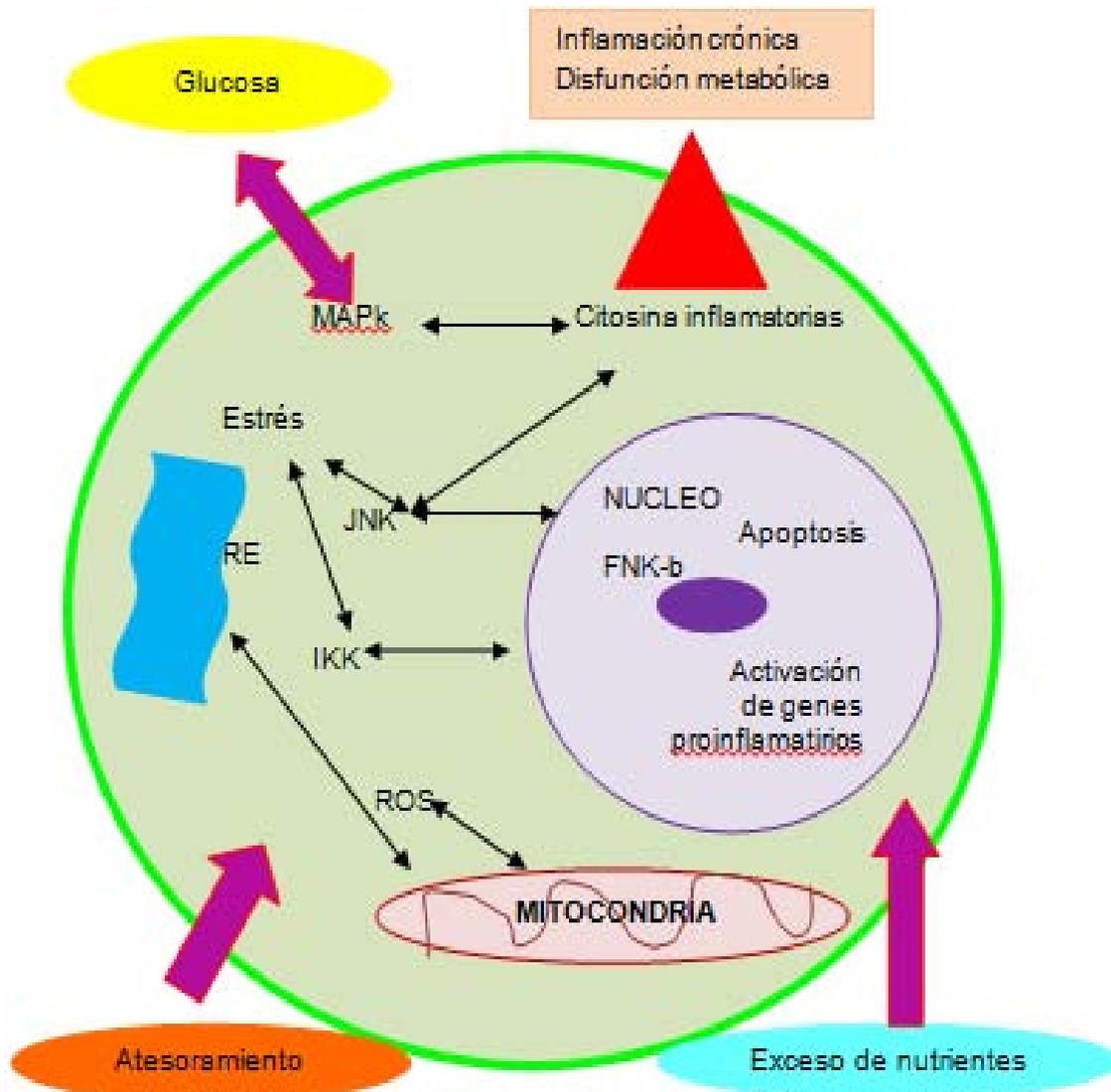


Figura 5. Interacción de la disfunción mitocondrial y estrés del RE con la resistencia a la insulina. Modificada de Rosas, (2009).



La presencia de adipocinas de las que se destacan la adinopectina y la leptina. Un incremento de los niveles circulantes de la adinopectina se asocia con una adecuada sensibilidad a la insulina, mejora la homeostasis de la glucosa, además de tener efectos antiinflamatorios (Fig 6). La leptina es una adipocina esencial la señalización entre los adipocitos y el hipotálamo para el control de la ingesta de alimento; es de gran importancia en la resistencia a la insulina (Rosas, 2009).



Figura 6. Interrelación entre adipocinas, adipocitos y sensibilidad a la insulina. Modificada de Rosas (2009).



3.1.4. Diagnóstico de la DM2

La diabetes es una enfermedad que puede presentarse en cualquier edad existan o no antecedentes pero hay una mayor probabilidad de padecerla cuando existen factores de riesgo.

Según la Asociación Mexicana de Diabetes (AMD) existen dos tipos de factores de riesgo, los controlables y los no controlables: los factores que se pueden controlar son el sobrepeso u obesidad, sedentarismo, tabaquismo, presión alta y dislipidemias; Los factores de riesgo que no son controlables son la herencia, edad y la raza.

Los síntomas en conjunto con los factores antes mencionados y los análisis al que se somete la persona confirman el diagnóstico de diabetes. Entre más temprana sea la detección de esta enfermedad se podrá evitar las complicaciones irreversibles que se presentan en etapas más avanzadas de la misma.

De acuerdo con la AMD (2014) existen tres pruebas básicas que sirven para diagnosticar la diabetes.

- Prueba de glucosa en ayuno

En una persona con índice glucémico igual o menor a 100 mg/dl se trata de una persona normoglucémica. Cuando la medición es igual o mayor a 110 mg/dl pero menor a 126 mg/dl se trata de intolerancia a la glucosa. El diagnóstico se confirma cuando la medición de glucosa sanguínea en ayuno es mayor a 126 mg/dl.

- Prueba de glucosa casual

En una persona sana la glucemia en sangre es menor a 140 mg/dl. En una persona diabética es igual o mayor a 200 mg/ml y se acompaña con los síntomas antes mencionados.



- Curva de tolerancia a la glucosa (vía oral)

En esta prueba se requiere que la persona tenga un ayuno de 12 horas, por vía oral el paciente debe ingerir 75 g de glucosa, se toman mediciones glucosa sanguínea cada 30 minutos durante 3 horas que es el tiempo que dura esta prueba.

Con 75 g de glucosa administrada los niveles normales son los siguientes:

- Antes de la ingesta de glucosa (con 12 horas de ayuno) los niveles de glucosa se encuentran entre 60 mg/ml hasta 100 mg/dl.
- 1 hora después de la carga de glucosa el nivel glucémico es menor a 200 mg/dl.
- 2 horas después de la ingesta de la carga el nivel de glucosa en sangre es menor a 140 mg/dl.
- Al término de la prueba la persona normal llega a su medición basal menor a 100 mg/ml

Si los resultados de esta prueba están entre 140 mg/dl a 200 mg/dl se trata de intolerancia a la glucosa comúnmente llamada “Prediabetes” la persona con estos resultados está en riesgo de desarrollar diabetes si no cambia su estilo de vida y disminuye sus factores de riesgo. Cuando los niveles glucémicos sobrepasan los 200 mg/dl se trata de una persona diabética.

El Cuadro 2 muestra un resumen de los niveles de glucosa sanguínea en personas normoglucémicas, prediabéticas y diabéticas con las diferentes pruebas de glucosa (AMD, 2014)

Para diagnosticar Diabetes gestacional se da una carga de glucosa de 100g, los niveles normales son los siguientes:

- En ayuno glucosa menor a 95mg/dl
- 1 hora después de la carga de glucosa menor a 180mg/dl
- 2 horas después de la carga de glucosa menor a 155mg/dl
- 3 horas después de la carga de glucosa menor a 140mg/dl

Cuadro 2. Niveles de Glucosa sanguínea (mg/dl miligramo/decilitro) en personas normales, prediabéticas y diabéticas con diferentes pruebas de glucosa.



	Normal	Prediabético	Diabético
Prueba de glucosa en ayuno	≤100 mg/dl	Entre 110 a 126 mg/dl	≥126 mg/dl
Prueba de glucosa causal	≤140 mg/dl	Entre 140 a 200 mg/dl	≥200 mg/dl
Prueba de tolerancia a la glucosa	Después de 1h ≤200 mg/dl <hr/> Después de 2h ≤140 mg/dl <hr/> Después de 3h ≤100 mg/dl	Después de 1h ≤200 mg/dl <hr/> Después de 2h ≤200 mg/dl <hr/> Después de 3h entre 140 a 200 mg/dl	Siempre ≥200 mg/dl

Otros parámetros considerados para el diagnóstico de la DM2

- Triglicéridos > 150 mg/dl
- Colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) <40 mg/dl en Hombres y <50 mg/dl en Mujeres.
- Presión arterial >140/90 mm Hg

Factor de riesgo si la circunferencia de la cintura es >94 cm en Hombres y >88 en Mujeres y Hemoglobina glucosilada (HbA1c) > 6% (Rosas, 2009).



3.1.5. Tratamiento

Los objetivos generales del tratamiento de la diabetes son: evitar las descompensaciones agudas, prevenir o retrasar la aparición de las complicaciones tardías de la enfermedad, disminuir la mortalidad y mantener una buena calidad de vida.

Un buen control glucémico permite reducir la aparición de complicaciones microvasculares como lo son la retinopatía, nefropatía y neuropatía al igual que las complicaciones macrovasculares como lo son la cardiopatía isquémica, enfermedades cerebro vasculares y arteriopatía periférica (Simó, 2002).

La primera recomendación para las personas con diabetes tipo 2 es la dieta y ejercicio. La dieta a seguir debe contener las siguientes proporciones de nutrientes, con respecto a las proteínas deben de constituir alrededor de un 10 al 20% del total de las calorías ingeridas las grasas menos del 30% y con una cantidad menor del 10% de grasas saturadas, los carbohidratos con absorción rápida deben de evitarse (Simó, 2002).

La dieta y el ejercicio no son suficientes para alcanzar niveles glucémicos normales, la terapia farmacología es a menudo necesaria para alcanzar un control óptimo de la glucemia, los hipoglucemiantes orales son utilizados para llegar a una normogluemia, estos pueden ser utilizados en combinación con otros hipoglucemiantes o insulina.

Los hipoglucemiantes orales son clasificados en dos grandes grupos secretagogos de insulina y no secretagogos de insulina (Cuadro 3). A continuación se mencionan los grupos de hipoglucemiantes orales utilizados en el tratamiento de la Diabetes mellitus tipo 2 haciendo énfasis en los fármacos utilizados en la metodología de este proyecto (glibenclamida y repaglinida).



Cuadro 3. Hipoglucemiantes orales más utilizados en el tratamiento de la Diabetes tipo 2. Modificado de Escorcía, 2009.

No Secretagogos de insulina	Secretagogos de insulina
<p>Biguanidas: su acción principal es disminuir la salida de glucosa hepática particularmente por la disminución de la gluconeogénesis también aumenta la captación de glucosa por el musculo esquelético. Ejemplo Metformina, su principal mecanismo es la inhibición de la gluconeogénesis y disminución de la salida de glucosa hepática.</p>	<p>Sulfonilureas: se unen a receptores específicos en las células β lo cual provoca bloqueo de K-ATPasa se despolariza la membrana ingresa Ca^{++} y se libera insulina. Ejemplos Tolbutamida y Glibenclamida. La tolbutamida pertenece a la primera generación de sulfonilureas, la Glibenclamida se asocia con hipoglucemia.</p>
<p>Inhibidores de α-glucosidasas: su mecanismo de acción es la inhibición competitiva de las enzimas ubicadas en la membrana mucosa del intestino responsables de la descomposición de poli y oligosacárido a monosacáridos por lo tanto se retrasa su absorción lo cual retarda la entrada de glucosa en el sistema circulatorio. Ejemplo Acarbosa y Miglitol, son oligosacáridos que inhiben las enzimas α-glucosidasas ubicadas en el borde en el cepillo del intestino delgado, principalmente glucoamilasa, sucrasa y maltasa, no causan hipoglucemia.</p>	<p>Meglitinidas: su mecanismo de acción es similar al de las sulfonilureas sin embargo se unen al receptor de sulfonilureas en un lugar diferente, su acción es más rápida y su vida media es más corta lo que resulta en una breve estimulación en la liberación de insulina. Ejemplo Nateglinida y Repaglinida, son estructuralmente diferentes que las sulfonilureas, la repaglinida se metaboliza en el hígado y es eliminada principalmente por la bilis, la nateglinida la duración de respuesta es más corta con respecto a la repaglinida.</p>
<p>Tiazolidinedionas: funcionan como ligando de la PPAR (intervienen en la regulación de los genes implicados en el metabolismo de los carbohidratos), mejoran la sensibilidad a la insulina, reduce la lipólisis, podrían aumentar la expresión de GLUT 4 en tejido adiposo y musculo esquelético. Ejemplo Rosiglitazona y Pioglitazona, reducen la salida y la producción de glucosa hepática e incrementan la captación periférica, son altamente absorbidos, son bien tolerados.</p>	<p>Incretinas: son hormonas que se producen en el tracto digestivo que ésta estimula la secreción de insulina y además suprime la liberación de glucagón, mejoran la sensibilidad a la insulina, reducen el consumo de alimentos, presentan papel importante en la replicación de células β y en el descenso de apoptosis de las mismas. Ejemplo Exenatide se une a receptores de GLP-1, administración subcutánea, vida media de 2.5horas.</p>



Sulfonilureas: glibenclamida

Es el secretagogo de insulina más utilizado. La glibenclamida es una sulfonilurea de segunda generación que reduce la glucosa sanguínea debido al incremento de la secreción de insulina por las células β pancreáticas. Las sulfonilureas de segunda generación se distinguen por ser más potentes y presentar menos toxicidad que las de primera generación (Rambiritch, 2014) (Simó, 2002).

Mecanismo de acción: estimula la segunda fase de secreción de insulina por parte de las células beta pancreáticas (insulina preformada), su acción requiere la presencia de una población abundante de células beta con capacidad insulinosecretora. Su acción se basa en la unión a receptores de alta afinidad ubicados en las células beta del páncreas, dicha unión inhibe la apertura de los canales de potasio ATP- sensibles esto evita la salida de potasio de las células desencadenando la despolarización de la membrana plasmática, en consecuencia se abren los canales de calcio dependientes de voltaje lo cual aumenta el contenido de calcio intracelular al igual que su unión a la calmodulina lo cual produce la contracción de los microfilamentos finalizando con la exocitosis de insulina (Fig 7) (Simó, 2002).

Se ha descubierto que la glibenclamida posee una amplia gama de efectos antiinflamatorios ya que podría reducir la producción de citocinas inflamatorias y fosforila moléculas en macrófagos las cuales causan inflamación (Duo-ling Li, 2014).

Este fármaco es absorbido rápidamente en el tracto digestivo y se descompone en el hígado, el 50% de una dosis es excretada por las heces y el resto por la orina, tiene una vida media de eliminación de 10 horas y una duración de acción de hasta 24 horas siendo posible la administración de una dosis diaria (Fig 8) (Contreras, 2004).



Meglitinidas: repaglinida

Es un derivado del ácido benzoico, su mecanismo de acción es similar al de las sulfonilureas: estimula la liberación de insulina de las células beta pancreáticas mediante la unión y cierre de los canales de K dependientes de ATP esto despolariza la membrana plasmática lo que lleva a la apertura de los canales de Ca⁺⁺ dependientes de voltaje se incrementa el calcio intracelular lo cual desencadena la exocitosis de insulina.

A pesar de que el mecanismo de acción es similar a la de las sulfonilureas la repaglinida se une a un receptor diferente, por tal motivo el inicio de la acción es más rápido y su vida media es más corta lo que resulta en una breve estimulación de la insulina (Fig 8).

Este medicamento antihiper glucémico es metabolizado principalmente a través de la biotransformación oxidativa a través del sistema microsomal hepático citocromo P450 particularmente la isoenzima CYP3A4. La vía metabólica de la repaglinida involucra dos sitios principales para su biotransformación: anillo de piperidina y el grupo ácido carboxílico aromático.

La repaglinida tiene afinidad por la glicoproteína P (P-gp) y puede contribuir significativamente a potenciar interacciones fármaco-fármaco con otros sustratos o inhibidores P-gp. Kajosari en Chong-Ki, 2013 reportó que con la coadministración de repaglinida con la CYP3A4 e inhibidor OTAP, ciclosporina A y gemfibrozilo aumentaron significativamente la concentración plasmática de repaglinida en los seres humanos (se deben de cuidar los niveles de glucosa si el paciente recibe un inhibidor o inductor del sistema CYP 3A4 ya que esta combinación puede causar hipoglucemia).

La eficacia es similar a la de las sulfonilureas con la diferencia que la Repaglinida se toma justo antes de los alimentos (puede utilizarse hasta 4 veces en un día) se puede utilizar como monoterapia o en combinación con otros medicamentos excepto las sulfonilureas (Fig 9).

Su principal efecto secundario es la hipoglucemia aunque en menor medida que las sulfonilureas (ya que su acción es más corta); disfunción hepática y renal; no debe interactuar con gemfibrozil ya que eleva drásticamente la acción de la Repaglinida lo cual resulta en una hipoglucemia prolongada (Cheng y Fantus, 2005).

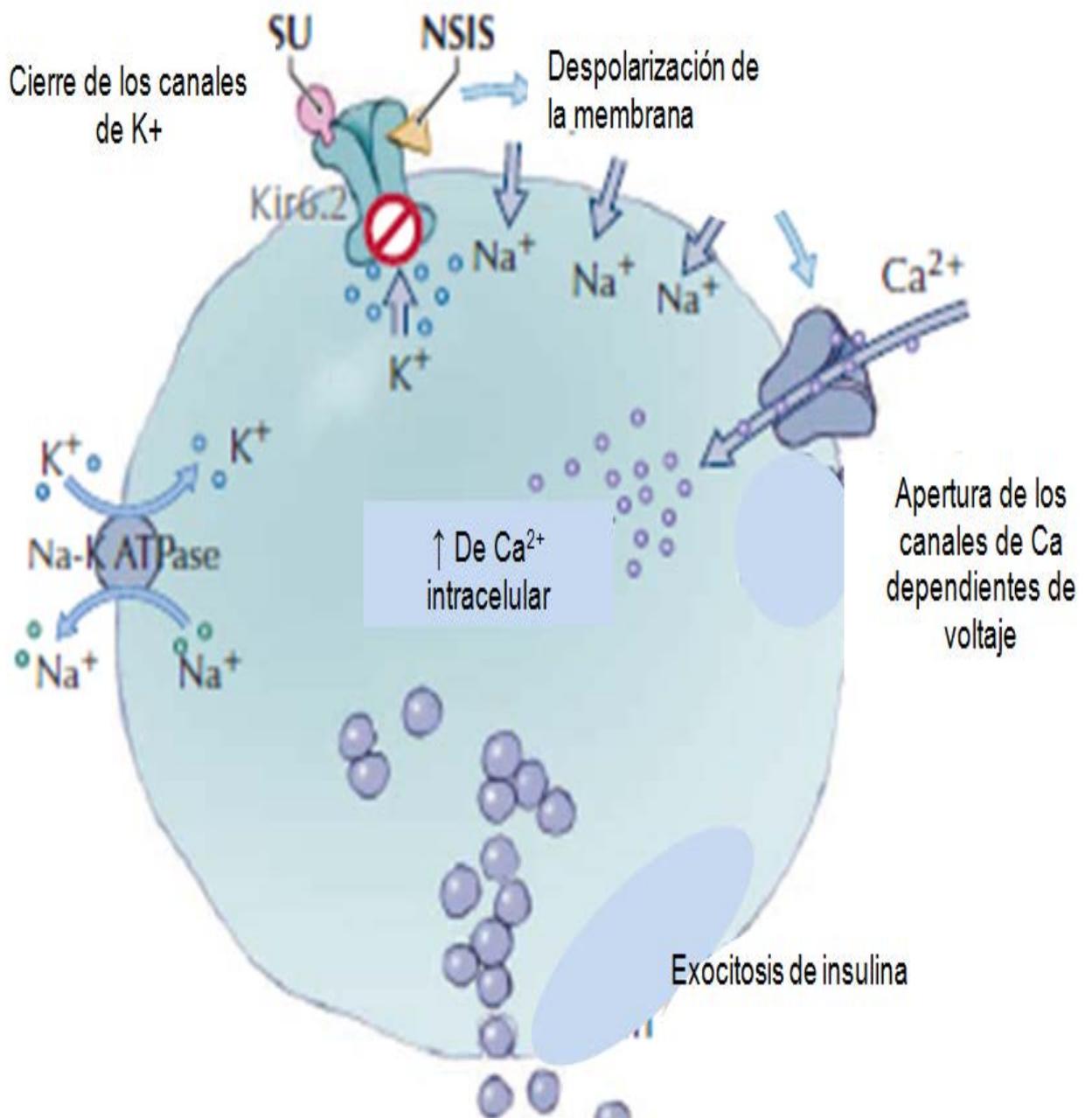


Figura 7. Mecanismos de acción de los secretagogos de insulina (sulfonilureas y meglitinidas). Modificada de Cheng y Fantus (2005).



Figura 8. Estructura de la glibenclamida. Presenta larga duración de acción lo cual permite en la mayoría de los pacientes la administración de una monodosis, no es recomendable en ancianos, personas con antecedentes de infarto cerebral o coronario, epilepsia y neuropatía autonómica (Rosas, 2009)

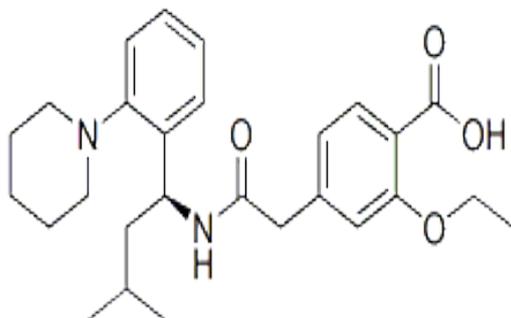
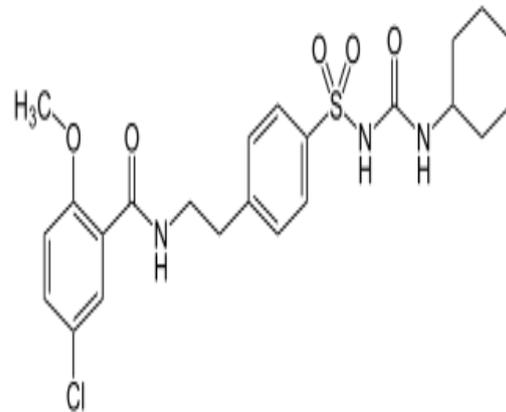


Figura 9. Estructura de la repaglinida. Su ingesta debe realizarse de 15 a 30 minutos antes de cada comida, se puede utilizar de 2 a 4 veces por día, la falta de comida hace innecesaria su ingesta, permite al paciente una mayor flexibilidad (Rosas, 2009)



3.2. Modelos animales más utilizados para el estudio de la DM2.

La Diabetes mellitus tipo 2 ha sido reconocida en diversos mamíferos por lo tanto dicha enfermedad puede presentarse de manera espontánea, sin embargo también puede ser inducida por químicos, hormonas y por manipulación genética.

Los modelos animales son complejos y heterogéneos tal como lo es el síndrome en humanos, en algunos animales se da la resistencia a la insulina y en el otro extremo algunos modelos sufren disfunción de las células β del páncreas (Cuadro 4) (Arias, 2007).

Cuadro 4. Modelos animales para el estudio de la DM2 (Arias, 2007)

Modelos espontáneos análogos.	Características
Rata GK	Hiper glucemia, reducción de tolerancia a la glucosa, deterioro en la secreción de insulina y resistencia periférica de la misma y alteración en el metabolismo lipídico.
Ratón NZO	Elevado peso desde el nacimiento, hiper glucemia, resistencia a la insulina y producción excesiva de glucosa hepática.
Ratón KK	Obesidad en etapa adulta, resistencia a la insulina, hiperinsulinemia y discreta hiper glucemia.
<i>Psammomys obesus</i> (rata israelí de la arena)	Útil para estudiar los efectos de la dieta y el ejercicio en la DM2, cuando tienen cambios en su dieta se hacen obesas y son hiper glucémicas y presentan resistencia a la insulina.
Rata OLETF	Hiper glucemia, curso crónico de la enfermedad, obesidad discreta, alteración en islotes pancreáticos.
Modelos espontáneos intrínsecos	Características
Ratón db/db	Muestran primero una hiperinsulinemia y posteriormente hiper glucemia, degeneración de las células β pancreáticas.
Ratón ob/ob	Modelo de obesidad, insidiosa de diabetes baja.
Ratón Agoutí	Fenotipo complejo con obesidad y resistencia a la insulina.
Rata fa/fa	Hiperlipidemia e hiperinsulinemia están presentes en estas ratas también presentan resistencia a la insulina e hiper glucemia discreta.
Modelos inducidos	Características
Inducción hormonal	Administración de corticoides causa un estado similar a la DM2 humana. La somatostatina, glucagón, las catecolaminas y la tiroxina pueden causar hiper glucemia en animales.
Administración de fármacos	La estreptozocina fármaco utilizado en la quimioterapia del cáncer destruye algunas células β del páncreas causando una disminución en la secreción de insulina.
Manipulación genética	Modificación de genes específicos relacionados con el metabolismo de la glucosa o mecanismo de la insulina.



3.2.1 Modelo Estreptozotocina – Nicotidamida (STZ – NA)

Existen muchos modelos animales utilizados en el estudio de la Diabetes mellitus, en el presente trabajo se utilizó un modelo inducido por el fármaco estreptozotocina establecido por Masiello (1998), éste consiste en la administración de nicotidamida (NA) (Fig 11) 15 minutos antes de la administración de estreptozotocina (STZ) (Fig 10).

Este modelo da como resultado hiperglucemia ya sea moderada o alta dependiendo de la dosis y vía por la cual se administren las sustancias antes mencionadas.

La estreptozotocina es un antibiótico utilizado en quimioterapias, este fármaco es una metil-nitrosourea aislada de *Streptomyces achromogenes* con actividad antibiótica y antineoplásica de amplio espectro. (Arias, 2007).

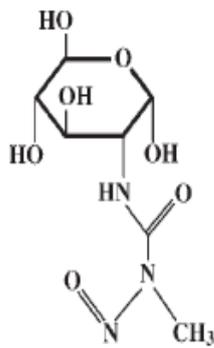


Figura 10. Estreptozotocina (STZ). Tomada de Szkudelski, 2012.

Glucosa: da e especificidad a l a molécula ya que es reconocida por GLUT2 presente en células β del páncreas.

Metil-nitrosourea: fracción citotóxica, alquila el ADN por lo tanto se fragmenta, lo que resulta en una sobreestimulación de la poli ADP ribosa polimerasa 1, razón por la cual decae los niveles de NAD⁺ ya que es utilizado en la reparación del ADN dañado, al decaer los niveles de NAD⁺ también lo hacen los de ATP. Esta fracción toxica también afecta las mitocondrias contribuyendo aún más en los niveles bajos de ATP, disminuye la Aconitasa, se genera ROS y se activan las enzimas JNK'S(apoptosis) todos estos factores ocasionan muerte celular.

Es un i nhibidor competitivo de NAD⁺ ya que tiene un dominio que se liga a la PARP-1 bloqueando su actividad reparadora del ADN por lo tanto no se da el gasto innecesario de ATP, también la NA es un precursor de ATP lo cual resulta en menos muerte celular.

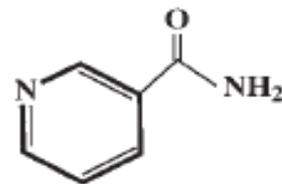


Figura 11. Nicotidamida (NA). Tomada de Szkudelski, 2012.



3.3. Etnofarmacología

Schultes (1991) define etnofarmacología como “La observación, identificación, descripción e investigación experimental de los efectos de las drogas utilizadas en la medicina tradicional” esta es la definición más aceptada.

Una definición más reciente es la sugerida por Andrade Cetto y Heinrich (2011) la cual dice que etnofarmacología es “el estudio de productos naturales biológicamente activos usados tradicionalmente con el propósito de entender su acción terapéutica” (Andrade y Heinrich, 2011).



Para llevar a cabo un estudio etnofarmacológico se debe tomar en cuenta las diferentes disciplinas que esta actividad engloba principalmente la botánica, la bioquímica, la antropología y la farmacología por lo tanto la etnofarmacología es una actividad multidisciplinaria (Fig 12).

Figura 12. La etnofarmacología y sus enlaces con otras disciplinas.

Las observaciones y las descripciones de campo sobre el uso y los efectos de los remedios tradicionales, identificación botánica, los estudios fitoquímicos y farmacológicos están todas dentro del alcance de la etnofarmacología (Holmstedt, 1983).

Una de las herramientas más importantes en la etnofarmacología es el uso de los estudios de campo los cuales son indispensables para la identificación y selección de plantas con posibles efectos farmacológicos.

Uno de los objetivos de la etnofarmacología es rescatar y documentar la importante herencia cultural antes de que se pierda y la investigación y evaluación de los agentes empleados (Holmstedt, 1983).



Una de ellas es la medicina tradicional. Esta es la suma de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en teorías, creencias y experiencias propias de diferentes culturas, y que se utilizan para mantener la salud tanto física como mental (INNSZ, 2015).

En México aún está presente la medicina tradicional y algunos remedios han sido utilizados durante mucho tiempo y estos conocimientos han pasado de generación en generación y son transmitidos oralmente.

Fue hasta 1846 cuando estos conocimientos fueron plasmados en la Farmacopea Mexicana aunque antes de esta primera edición hubo muchos escritos elaborados por las expediciones científicas llevadas a cabo por españoles en la época colonial con el fin de catalogar todo lo posible relacionado con las colonias, desde composición de los suelos, aguas manantiales y características de la flora y fauna mexicana y su posible utilidad económica.

La primera Farmacopea Mexicana documenta el uso de los medicamentos simples como vegetales, animales y minerales más usuales utilizados desde épocas inmemoriales donde predomina el uso de plantas con fines terapéuticos.

Después de la revolución mexicana hubo un desinterés en la investigación de la medicina tradicional aunado con el desarrollo de medicamentos de patente que eran más rentables que la herbolaria mexicana.

Con la impresión de la séptima edición de La Farmacopea Mexicana del Nuevo Milenio editada por la Secretaría de Salud, la medicina tradicional se retoma como propósito de investigación y así se rescata el valor cultural y medicinal de la herbolaria mexicana (UAM, 2015).



3.3.1. Plantas hipoglucemiantes

Andrade Cetto y Heinrich en el 2005 reportaron en México 306 especies de plantas con efecto hipoglucemiante englobadas en 235 géneros y 93 familias en las cuales destacan: *Asteraceae* con 47 especies, *Fabaceae* con 27 especies, *Cactaceae* con 16 especies, *Solanaceae* y *Euphorbiaceae* con 10 especies y *Laminaceae* con 9 especies; pero es probable que falten muchas especies por documentar lo cual puede aumentar la cifra de estas plantas.

3.3.1.1. *Ageratina petiolaris* (Moc. ex DC.) R.M. King & H. Rob.

División Tracheophyta
Clase Magnoliopsida
Orden Asterales
Familia Asteraceae
Genero Ageratina
Especie Ageratina petiolaris



Figura 13. Ejemplar de herbario de *Ageratina petiolaris* (Moc. ex DC.) R.M. King & H. Rob. www.unibio.unam.mx [2014].

Andrade Cetto y Hienrich en el 2005 reportaron su uso en el tratamiento de la DM y documentaron la presencia de terpenos, pero aún no se cuenta con antecedentes farmacológicos y fitoquímicos publicados.

Esta planta se distribuye ampliamente en la República Mexicana algunos estados donde se ha reportado su presencia son, Tamaulipas, Nuevo León, Estado de México, Distrito Federal, Guerrero y Oaxaca entre otros. La planta que se utilizó en la presente investigación fue previamente colectada en Toluca Estado de México.



▣ Antecedentes fitoquímicos de *Ageratina petiolaris*

Datos no publicados obtenidos en el Departamento de Productos Naturales del Instituto de Química por la estudiante de Doctorado en Ciencias Químicas Celia Bustos Brito, identificó dos sustancias con efecto hipoglucemiante en *Ageratina petiolaris* en el mismo extracto acuoso utilizado en el presente trabajo, las cuales son el ácido Clorogénico y el L- Quiroinositol como los compuestos mayoritarios. A continuación se ahonda en estas dos sustancias y las probables vías que explican el efecto hipoglucemiante de la planta.

• Ácido Clorogénico

El grupo de los ácidos clorogénicos es un grupo importante de fenoles dietéticos biológicamente activos. Los compuestos fenólicos están extendidos en la naturaleza y se encuentran principalmente en los alimentos de origen vegetal. Estudios *in vitro* demuestran que el ácido clorogénico presentan efectos antioxidantes, se sugiere que los polifenoles pueden contribuir a los efectos cardioprotectores asociados con dietas ricas en alimentos de origen vegetal (Fig 14) (Johnston, 2003).

Ong Kang (2013) reportó que el ácido clorogénico aparte de sus propiedades antioxidantes, presenta las siguientes propiedades:

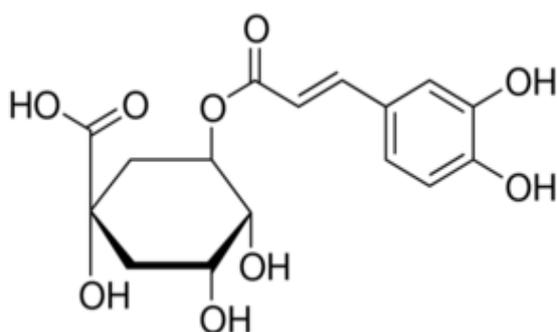


Figura 14. Estructura del ácido clorogénico www.sigmaaldrich.com [2015].

- Su administración crónica inhibe la expresión y la actividad de la Glucosa 6 fosfatasa lo cual reduce la gluconeogénesis hepática.
 - Reduce el transporte de glucosa impulsado por el gradiente de sodio en el intestino.
 - Inhibe la Glucosa 6 fosfato translocasa 1.
 - Suprime la síntesis de ácidos grasos a través de AMPK.
- Estimula la captación de glucosa en el músculo esquelético a través de la activación de AMPK (Fig 15).



• L-Quiroinositol

En general los inositoles actúan como segundos mensajeros de membrana en la secreción de insulina pueden activar la glucógeno sintasa y la piruvato deshidrogenasa e inhibir la adenilato ciclasa.

Los Mio-inositoles son conocidos por sus propiedades antitumorales.

El Mio-inositol presenta dos enantiómeros el D-quirositol y el L-quirositol.

El D-quirositol presenta propiedades hipoglucemiantes, puede ser usado en el tratamiento sintomático de resistencia a la insulina en la DM2; esta molécula incrementa la acción de la insulina en pacientes con Síndrome de ovario poliquístico (Nuissier, 2008).

Comparando el efecto del D-quirositol y el L-quirositol en ratas diabéticas se ha de mostrado que los diferentes esteroisómeros no afectan la acción hipoglucemiante del Quirositol.

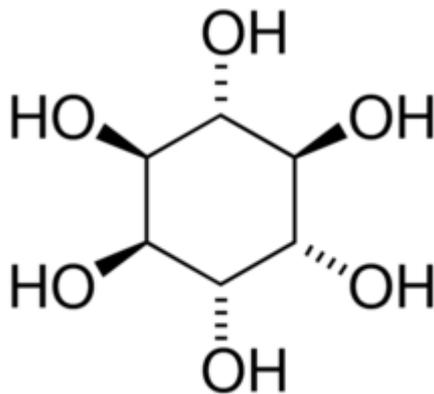


Figura 16. Estructura del L-Quiroinositol
www.sigmaaldrich.com [2015].

El L-quirositol rara vez se encuentra en la naturaleza, pero se reportó que *Syringodium filiforme* una planta acuática acumula una amplia gama de ciclitoles en particular L-Quiroinositol sin embargo esta molécula no ha sido aislada y la asignación estructural solo se ha basado en una ruta de biosíntesis hipotética (Nuissier, 2008).



4. JUSTIFICACION

La Diabetes mellitus tipo 2 se ha convertido en los últimos años en una de las enfermedades con más número de pacientes a nivel mundial y según estimaciones éste padecimiento aumentara la mortalidad por las complicaciones que ésta conlleva. Aunque existen hipoglucemiantes orales efectivos para tratar esta enfermedad, gran cantidad de casos de diabetes están presentes en países en vías de desarrollo en donde no hay un seguimiento médico estricto y en donde los pacientes prefieren tratar sus padecimientos con medicina tradicional, por tal razón es de suma importancia realizar estudios de plantas reportadas y utilizadas para el tratamiento de diabetes, para tener bases sólidas y así poder validar su uso. En el año 2005 Andrade Cetto y Heinrich publicaron una lista de las plantas utilizadas en el tratamiento de la DM2, en este listado mencionan el uso de la especie *Ageratina petiolaris* como una planta hipoglucemiante. El presente trabajo se basa en el uso reportado de dicha planta en algunas comunidades para poder documentar sus efectos hipoglucemiantes.



5. OBJETIVOS

Objetivo general

Probar el efecto hipoglucemiante de *Ageratina petiolaris* con y sin carga de glucosa en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada.

Objetivos particulares

- Ⓢ Probar el efecto del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada.
- Ⓢ Probar el efecto del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada después de una carga de glucosa.

6. HIPÓTESIS

Hipótesis 1

Nula: El Extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* no tendrá efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas.

Alternativa: El extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* tendrá efecto hipoglucemiante en ratas diabéticas.

Hipótesis 2

Nula: El extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* no inhibirá el pico hiperglucémico después de una carga de glucosa.

Alternativa: El extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* inhibirá el pico hiperglucémico después de una carga de glucosa.



7. MÉTODO

Se utilizaron 6 ratas de la cepa Wistar ambos sexos (3 machos y 3 hembras) de aproximadamente 60 días de edad para cada grupo, las cuales permanecieron en una sala a una temperatura de 25°C y un 50% de humedad con un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 de oscuridad con agua y alimento *ad libitum* en el Bioterio de la Facultad de Ciencias de Ciudad Universitaria UNAM.

7.1. Inducción de hiperglucemia

Se administró una dosis de 110mg/kg de Nicotidamida vía intraperitoneal 15 minutos antes de la administración de una dosis de 65mg/kg de Estreptozotocina vía intravenosa.

Las ratas que presentaron niveles glucémicos entre 280 a 350mg/dl fueron incluidas en los grupos hiperglucémicos del presente trabajo.

7.2. Extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* Moc. & Sessè ex DC

Se utilizaron 20g (con base en la información etnobotánica) de la parte aérea de *Ageratina petiolaris* molida la cual se colocó en 500ml de agua destilada después de que ésta llegó a su punto de ebullición, se agitó durante 15 minutos se dejó reposar 5 minutos, posteriormente se filtró con ayuda de tierra de diatomeas, el filtrado se ultracongeló en un Revco a -40°C durante 24 horas pasado este tiempo se liofilizó (LABCONCO FreeZone 2.5) durante 24 horas.



7.3. Administración de tratamientos

Cuadro 5. Tratamientos de los grupos sin carga de Glucosa.

<i>Grupos sin carga de Glucosa</i>	<i>Tratamiento</i>
No hiperglucémico (NH)	Solución fisiológica
Hiperglucémico (H)	Solución fisiológica
Hiperglucémico + Glibenclamida (HGLI)	Glibenclamida 5 mg/kg Euglucon de Roche
Hiperglucémico + Extracto (HE)	Extracto acuoso de <i>Ageratina petiolaris</i> 160 mg/kg.

Cuadro 6. Tratamientos de los grupos con carga de glucosa.

<i>Grupos con carga de glucosa</i>	<i>Tratamiento</i>
No hiperglucémico + Glucosa (NHG)	Carga de glucosa 2 g/kg
Hiperglucémico + Glucosa (HG)	Carga de glucosa 2 g/kg
Hiperglucémico + Repaglinida + Glucosa (HREPG)	Repaglinida (1 mg/kg) + Glucosa (2g/kg). PRANDIN de Sanfer
Hiperglucémico + Extracto + Glucosa (HEG)	Extracto acuoso de <i>Ageratina petiolaris</i> 160 mg/kg + Glucosa 2 g/kg.

Se realizó un ensayo agudo que tuvo una duración de dos horas. Cada tratamiento se administró después de medir glucosa sanguínea basal (T0) y posteriormente se realizaron mediciones en los tiempos 30, 60, 90 y 120 minutos después de la administración utilizando 2 aparatos Accutrend® Plus de Roche, las mediciones se realizaron tomando una gota de sangre de la vena caudal de la rata, todos los tratamientos se administraron vía oral utilizando una cánula disueltos en solución fisiológica.



Se realizaron los experimentos en dos diferentes grupos, con carga de glucosa y sin carga de glucosa. Los grupos con carga de glucosa tuvieron la finalidad de simular la ingesta de alimentos y así poder obtener un estímulo fuerte para la secreción de insulina.

Para los grupos sin carga se utilizó el medicamento glibenclamida (Euglucon de Bayer) como control positivo Hiperglucémico más fármaco, dicho medicamento es de acción lenta y la recomendación de su dosis es de una diaria ya que sus efectos duran 24 horas.

Para los grupos con carga de glucosa, se utilizó Glucosa anhidra (Marca Sigma, G0350500 FLUKA) y en el grupo HREPG se utilizó el medicamento repaglinida (PRANDIN de Sanfer), el uso de este medicamento es recomendado a la par con la ingesta de alimentos ya que su acción es rápida en comparación de glibenclamida y su duración es de pocas horas (aproximadamente 4 horas) y se puede utilizar con cada comida.

Para el análisis de resultados se realizó una *t student* con un valor de significancia de $p \leq 0.05$ y las gráficas fueron realizadas con ayuda del programa Microsoft Excel 2013.



8. RESULTADOS

En la Figura 17 se presentan los resultados de estos grupos sin carga de glucosa donde se observa que existe diferencia significativa entre el grupo NH con el grupo H en todos los tiempos, entre el grupo H con HGLI se obtuvo diferencia significativa a partir del T60, comparando el grupo H con HE existe diferencia significativa en los T90 y T120 y en los mismos tiempos se observó diferencia entre el grupo HGLI con HE (Cuadro 7).

En la Figura 18 muestra los resultados de los grupos con carga de glucosa y se observa que existe diferencia significativa entre el grupo NHG con el grupo HG en todos los tiempos, entre el grupo HG y el grupo HREPG se obtuvo diferencia significativa desde el T30, entre los grupos HG y el grupo HEG existe diferencia en el T120 y comparando los grupos HREPG con el grupo HEG hay diferencia significativa desde el T30 (Cuadro 8).



Cuadro 7. Niveles de G lucosa sanguínea (mg/dl) en g rupos sin carga de glucosa.

Tiempo Grupo	0min.	30min.	60min.	90min.	120min.
NH	122±1.4	124±2.1	118±3	116±4.1	118±4.3
H	299±11.6&	301±9.4&	296±12.1&	293±8.1&	284±12.8&
HGLI	308±8.4	291±11.8	252±14.4aB	199±12.9aB	166±12.4aB
HE	304±7.9	297±13.3	265±11.5a	247±9.8aB#	234±11.8aB#

Cuadro 7. Presenta las medias de los valores de glucosa sanguínea(mg/dl) de los grupos sin carga de glucosa ± Error estandar. a Diferencia significativa respecto al T0 de su grupo; & Diferencia significativa respecto al grupo NH; B Diferencia significativa respecto al grupo H; # diferencia significativa respecto al grupo HGLI, todas las pruebas con una p≤0.05.

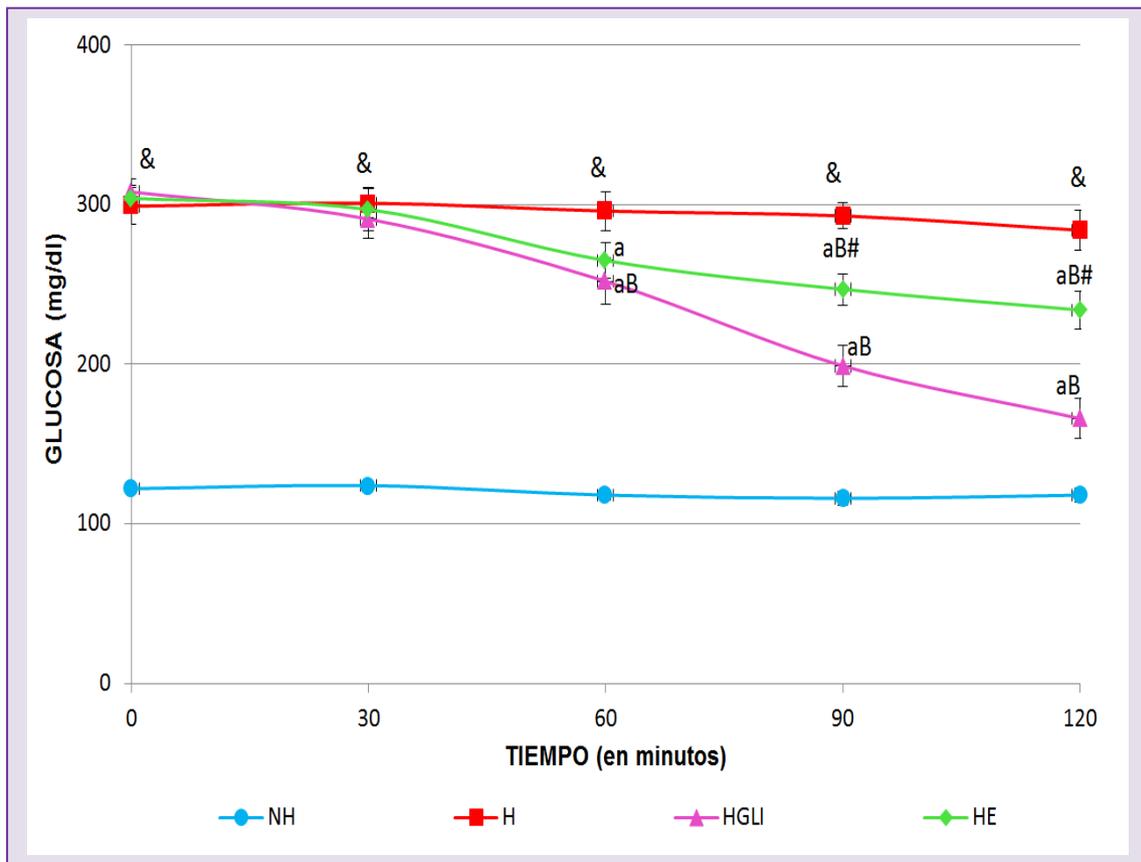


Figura 17. Niveles de glucosa sanguínea (mg/dl) en los grupos sin carga de glucosa. a Diferencia significativa respecto al T0 de su grupo; & Diferencia significativa respecto al grupo NH; B Diferencia significativa respecto al grupo H; # diferencia significativa respecto al grupo HGLI, todas las pruebas con una p≤0.05.



Cuadro 8. Niveles de Glucosa sanguínea (mg/dl) en grupos con carga de glucosa.

Tiempo \ Grupo	0min.	30min.	60min.	90min.	120min.
NHG	123±2.8	171±6.8a	159±10.4a	142±11	125±6
HG	297±8.7\$	485±27.6a\$	469±34.9a\$	403±25.4a\$	394±17.1a\$
HREPG	300±11	352±14.0aP	319±17.8P	274±21.5P	253±24.1P
HEG	303±14.2	436±26.4aY	408±20.1aY	369±16aY	324±14.7PY

Cuadro 8. Presenta las medias de los niveles de glucosa sanguínea (mg/dl) en los grupos en con carga de glucosa ± Error estandar. a Diferencia significativa respecto al T0 de su grupo; \$ Diferencia significativa respecto al grupo NHG; P Diferencia significativa respecto al grupo HG; Y Diferencia significativa respecto al grupo HREPG, todas las pruebas con una p≤0.05.

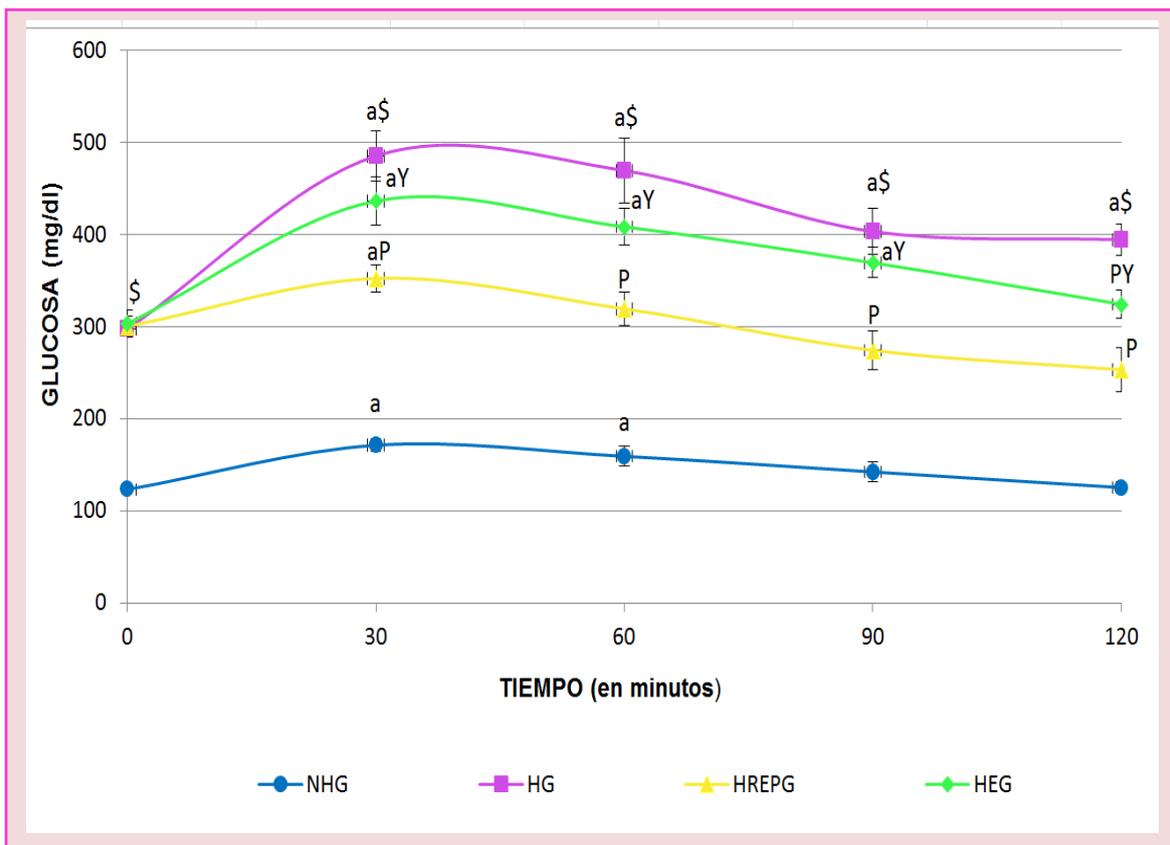


Figura 18. Niveles de glucosa sanguínea (mg/dl) en grupos con carga de glucosa. a Diferencia significativa respecto al T0 de su grupo; \$ Diferencia significativa respecto al grupo NHG; P Diferencia significativa respecto al grupo HG; Y Diferencia significativa respecto al grupo HREPG, todas las pruebas con una p≤0.05.



9. DISCUSIÓN

Entre los grupos NH e H ambos con solución fisiológica no se observó diferencia con respecto a sus T0. El grupo H es un grupo con hiperglucemia moderada inducida (280 – 350 mg/dl) a través del modelo STZ-NA mantuvo los niveles de glucosa sanguínea a lo largo de los 120 minutos que duró el experimento estos resultados afirman que el modelo STZ-NA utilizado en el presente trabajo es un modelo estable y funcional para el estudio de la DM2.

En el grupo NHG se obtuvo diferencia significativa en los T30 y T60 regresando a los niveles normales de glucosa sanguínea desde el T90; en el presente trabajo las ratas utilizadas en el grupo NHG presentaron niveles de glucosa sanguínea de 171 mg/dl 30 minutos después dada la administración de glucosa vía oral y regresaron a sus niveles normales de glucosa sanguínea al término de la prueba.

En el grupo HG se obtuvo diferencia significativa desde el T30 dichos resultados nos muestran que existe el pico hiperglucémico 30 minutos después de una carga de glucosa, éste grupo no regreso a sus niveles basales de glucosa sanguínea. En el presente trabajo los niveles de glucosa sanguínea al inicio de la prueba estaban en 297mg/dl y al término de la misma en 394mg/dl; las ratas con hiperglucemia moderada son funcionales para el estudio de la DM2.

En el grupo HREPG, estadísticamente el fármaco no inhibe el pico hiperglucémico que se da después de una carga de glucosa, pero si se observa la Figura 18 el pico es más pequeño si lo comparamos con los otros grupos que recibieron la carga de glucosa, dicho fármaco ayuda a que los niveles glucémicos no sean tan altos después de dar la carga.



Comparando los grupos sin carga de glucosa

- ✓ Grupo NH con el Grupo H: la prueba estadística mostró que existe diferencia significativa en éstos grupos en los 120 minutos que duró la prueba, estos resultados demuestran que el modelo STZ-NA establecido por Masiello (1998) induce diferentes niveles de hiperglucemia dependiendo de la dosis de estreptozotocina y nicotidamida que se utilice, y las ratas con hiperglucemia moderada son funcionales para el estudio de la DM2.

- ✓ Grupo H con el Grupo HGLI: se observó diferencia significativa desde el T60. La glibenclamida debido a su mecanismo de acción estimuló la secreción de insulina en el grupo H con niveles de glucosa entre 280mg/dl a 350mg/dl después de 60 minutos de su administración, esto demuestra que en las ratas con dichos niveles de glucemia las células β son funcionales y que existe secreción de insulina pero esta no ejerce un efecto adecuado.

- ✓ Grupo H con el Grupo HE: se obtuvo diferencia significativa desde el T90. El extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* presentó efecto hipoglucemiante en ratas STZ-NA donde los valores de glucosa sanguínea están entre 280mg/dl y 350mg/dl, aunque se desconoce el mecanismo por el cual ejerce su efecto hipoglucemiante, posiblemente su mecanismo sea mediante la inhibición de la gluconeogénesis efecto dado principalmente por la presencia de ácido clorogénico. El otro compuesto aislado es el L-quirositol, para conocer el mecanismo de este compuesto se requiere de estudios que prueben si existe una estimulación en la secreción de insulina por dicho compuesto.

- ✓ Grupo HGLI con el Grupo HE: existen diferencias significativas en los T90 y T120, la glibenclamida es una sulfonilurea y su mecanismo de acción es ser secretagogo de insulina por lo tanto es hipoglucemiante por que estimula la secreción de insulina de las células β pancreáticas funcionales; el mecanismo del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* es



desconocido pero esta planta demuestra ser una planta hipoglucemiante ya que bajo los niveles de glucosa sanguínea después de 90 minutos de la administración del extracto en ratas con hiperglucemia donde los niveles de glucosa de dichas ratas se presentó entre 280mg/dl a 350mg/dl.

Comparando los grupos con carga de glucosa

- ✓ Grupo NHG con Grupo HG: se obtuvo diferencia significativa en todos los tiempos de estos dos grupos.
- ✓ Grupo HG con Grupo HREPG: se observó diferencia significativa desde el T30, el fármaco repaglinida es una meglitinida que debido al mecanismo de acción conocido estimula la secreción de insulina preformada después de un estímulo en este caso Glucosa, la repaglinida estadísticamente no inhibe el pico hiperglucémico que se presenta después de una carga de glucosa pero los resultados obtenidos muestran que este fármaco disminuye el pico comparándolo con los otros grupos que se le administro glucosa, también dicho medicamento ayuda a que los niveles de glucosa sanguínea lleguen a su estado basal después de dar la carga.
- ✓ Grupo HG con el Grupo HEG: existe diferencia significativa a partir del T120, el extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* no inhibe el pico hiperglucémico después de una carga de glucosa pero en el T120 se observa una disminución de los niveles de glucosa sanguínea, el extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* tiene efecto hipoglucemiante después de 120 minutos de su administración junto con la administración de la carga de glucosa.
- ✓ Grupo HREPG con el Grupo HEG: se obtuvo diferencia significativa desde el T30, el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* no se puede comparar con el efecto realizado por la repaglinida, extracto no tiene efectos evidentes en grupos con



carga de glucosa pero se observa en el gráfico que hay una tendencia hacia bajar los niveles de glucosa sanguínea, mientras que en el grupo HG los niveles glucémicos se quedan estancados desde el T90.

El efecto hipoglucemiante de *Ageratina petiolaris* que se observó en el presente trabajo está mediado posiblemente por los dos compuestos químicos mayoritarios previamente aislados el Ácido clorogénico y el L-quirositol, aunque se requieran de más estudios para corroborar los efectos de la planta.

Los resultados obtenidos sobre el comportamiento del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* proporcionan conocimientos de una posible vía de acción de ésta planta la cual posiblemente sea la inhibición de la enzima Glucosa 6 fosfatasa, enzima clave para que se lleve a cabo la Gluconeogénesis, pero se requieren de más estudios para identificar la vía por la cual la planta ejerce su efecto hipoglucemiante.

Es recomendable que se lleven a cabo estudios para identificar la vía de acción del L-quirositol que según la bibliografía posiblemente ayude en la secreción de insulina.

Si comparamos al extracto con los fármacos utilizados, su efecto hipoglucemiante es similar al del fármaco glibenclamida comparando los grupos HGLI, HREPG y HE, aunque el efecto hipoglucemiante del extracto no puede ser explicado con un mecanismo similar al de la glibenclamida ya que el fármaco estimula secreción de insulina y el efecto hipoglucemiante del extracto posiblemente se explique por otras vías que aún no han sido establecidas.

En este trabajo se probó el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* en un ensayo agudo. Se requieren demás estudios fitoquímicos e in vitro para conocer las posibles vías en la cual actúa dicha planta y debido a que se obtuvo una respuesta en la disminución de los niveles de glucosa es recomendable evaluar sus efectos en un ensayo crónico.



10. CONCLUSIONES

En el presente trabajo se cumplió con los objetivos planteados y se puede concluir lo siguiente:

La glibenclamida tiene efecto hipoglucemiante en ratas que presentan niveles glucémicos entre 280 a 350 mg/dl (Hiperglucemia moderada) por lo tanto las ratas con dichos niveles de glucosa sanguínea pueden ser utilizadas para el estudio del efecto hipoglucemiante de plantas reportadas para el tratamiento de la Diabetes mellitus tipo 2 aunque el modelo utilizado STZ – NA no es un modelo de Diabetes mellitus tipo 2 solo es un modelo de hiperglucemia si puede ser utilizado para observar el efecto mencionado.

La repaglinida inhibe el pico hiperglucémico en ratas con los índices glucémicos ya mencionados después de una carga de glucosa comparado con el grupo que solo se la administro la carga de glucosa.

El extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* tiene efecto hipoglucemiante y éste efecto se puede observar a partir de los 60 minutos después de la administración del extracto en el grupo HE en comparación con el grupo H por lo tanto se rechaza la hipótesis 1 planteada en el presente trabajo y se puede concluir que el extracto acuoso de *Ageratina petiolaris* tiene efecto hipoglucemiante.

El extracto acuso de *Ageratina petiolaris* no inhibe el pico hiperglucémico después de una carga de glucosa por lo tanto se confirma la hipótesis 2 plantea en esta trabajo.



11. REFERENCIAS

- ◆ Alvarez, Aldana Dagoberto. Rodriguez, Bebert Yuliet. 2000. Historia de la Diabetes mellitus.
- ◆ Andrade-Cetto A. Hienrich M. 2005. Mexican plants with hypoglucaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology* 99, 325-48.
- ◆ Andrade-Cetto A. Hienrich M. 2011 From the field into the lab: useful approaches to selecting species based on local knowledge. *Frontiers in Pharmacology* 2 (20)1-5.
- ◆ Asociación Mexicana de Diabetes (AMD). Página: www.amdiabetes.org [2014].
- ◆ American Diabetes Association (ADA). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2012; 35: 64-71.
- ◆ American Diabetes Association (ADA). Página: www.diabetes.org [2014].
- ◆ Arias J. y J. Balibrea. 2007. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutr Hosp.* 22 (2); 160-68.
- ◆ Brunetti Antonio, Chiefari E. Foti. 2014. Recent advances in the molecular genetics of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes* 5(2): 128-40.
- ◆ Castrejón V. Carbó R. Martínez M. 2007. Mecanismos moleculares que intervienen en el transporte de glucosa. *REB* 26(2):49-57.
- ◆ Cheng AY, Fantus IG. 2005. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *CMAJ.* Jan 18; 172(2): 213-26.



- ◆ Chong-Ki L. Choi J, Bang J.2013. Effects of Fluvastatin on the Pharmacokinetics of Repaglinide: Possible Role of CYP3A4 and P-glycoprotein Inhibition by Fluvastatin. Korean J Physiol Pharmacol 245-51.
- ◆ Contreras C. Diabetes Mellitus. 2ed. 2004. Mediterráneo.Chile 468pp.
- ◆ Centro Nacional para la Prevención de enfermedades Crónicas y Promoción de la Salud División de Diabetes Aplicada, 2011.
- ◆ Duo Ling Li, et al. 2014. Glibenclamide Decreases ATP-Induced Intracellular Calcium Transient Elevation via Inhibiting Reactive Oxygen Species And Mitochondrial Activity in Macrophages. PLOS ONE 9(2) 1-9.
- ◆ Escorcía S. Hipoglucemia por fármacos antidiabéticos.2009. Endocrinología y Nutricion 17 (3): 120-8.
- ◆ Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, 2012. Instituto Nacional de Salud Pública.
- ◆ Fragoso Iñiguez Selene, Coello Coutiño Patricia. 2008. La AMPK y la Homeostasis Energética. REB 27 (1): 3-8.
- ◆ Holmstedt Bo. Bruhn Jan G. 1983. Ethnopharmacology-A Challenge. Journal of Ethnopharmacology 8, 251-56.
- ◆ Instituto Nacional de Estadística y Geografía, Censo de Población y Vivienda 2010 www.inegi.org.mx
- ◆ Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Estadísticas de Mortalidad, 2012 www.inegi.org.mx
- ◆ International Diabetes Federation (IDF). Annual report 2013 www.idf.org



- ◆ Jiménez Escobar, Javier Tébar. 2009. La Diabetes en la práctica clínica. Medica panamericana, Buenos Aires Argentina, 521 pp.
- ◆ Johnston Kelly L. Clifford Michael N. Morgan Linda M. 2003. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. The American journal of Clinical nutrition. 78: 728-33.
- ◆ Madrid Conesa J. 1998. El libro de la diabetes. 2ed., Libro del Año, S.L., España, 233pp.
- ◆ Mata Cases M. 2014. Diabetes mellitas tipo 2: Protocolo de actuación. Grupo de Estudio de la Diabetes en Atención Primaria de Salud de la Sociedad Catalana de Medicina Familiar Comunitaria, Hospital de Endocrinología. FMC-Protocolos 1-50.
- ◆ Masiello P. Broca C, Gross R, Roye M. Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. 1998. Experimental NIDDM: development of new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. Diabetes 47: 224-9.
- ◆ Nuissier Gladys. Diaba F. Grignon M. 2008. Bioactive agents from beach waste: Syringodium flotsam evaluation as a new source of L-chiro-inositol. Innovative Food Science and Emerging Technologies 9: 396–400.
- ◆ Olivares J.A. Reyes, A. Arellano Plancarte. 2008. Bases Moleculares de las Acciones de la Insulina. Revista de Educacion Bioquimica. REB (1): 9-18.
- ◆ Ong Kang Wei. Hsu A. Huat B. 2013. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. Biochemical Pharmacology 85: 1341-51.
- ◆ Organización Mundial de la Salud (OMS) www.who.int [2014].



- ◆ Rambiritch Virendra. Maharaj B. Nidoo P. 2014. Glibenclamide in patients with poorly controlled type 2 diabetes: 12 week, prospective, single-center, open-label, dose-escalation study, *Clinical Pharmacology: Advances and Applications*. 6, 63-69.
- ◆ Rosas, Guzmán J. Lyra Ruy. Cavalcant Ney. 2009. *Diabetes Mellitus Visión Latinoamericana*. Intersistemas, México. 765pp.
- ◆ Sánchez Rodríguez Ángel. 2010. *Protocolos Diabetes Mellitus tipo 2*. Sociedad Española de Medicina Interna y Elsevier España. 1-254.
- ◆ Schultes O., 1991. Historical perspective and future of ethnopharmacology. *J Ethnopharmacol* 32: 7-34.
- ◆ Simó R. Hernández C. 2002. Tratamiento de la diabetes mellitus: objetivos generales y manejo en la práctica clínica. *Esp Cardiol* 55 (8): 845-60.
- ◆ Szkudelski Tomasz. 2012. Streptozotocin–nicotidamide-induced diabetes in the rat. Characteristics of the experimental model. *Experimental Biology and Medicine* 1-10.
- ◆ Universidad Autónoma Metropolitana www.difusioncultural.uam.mx [2015].
- ◆ World Health Organization (WHO). 1999. Department of Noncommunicable Disease Surveillance. Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complication. Geneva: WHO.
- ◆ www.canstockphoto.es [2014].
- ◆ www.innsz.mx [2015].
- ◆ www.sigmaaldrich.com [2015].
- ◆ www.unibio.unam.mx [2014].

12. Anexos

Anexo 1. Complicaciones de la DM2

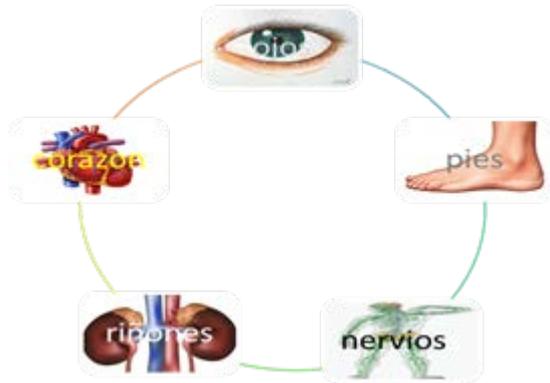


Figura 1. Principales órganos afectados por el control inadecuado de la DM2.

La DM no suele causar complicaciones cuando el control glucémico es adecuado desde el inicio de la enfermedad, pero sí las causa ante un control inadecuado; en especial, ante hiperglucemias que se asocian cifras de HbA1c > 7% de forma crónica (Jiménez, 2009).

Las complicaciones de la diabetes son clasificadas en dos grandes grupos; las microvasculares que son lesiones en los vasos sanguíneos de la microcirculación que afectan a la retina, el glomérulo y a los nervios periféricos complicaciones conocidas como retinopatía, nefropatía y neuropatía; y las macrovasculares las cuales afectan a los vasos sanguíneos de mayor tamaño que afectan a las arterias que nutren al miocardio, el cerebro y las extremidades inferiores (Fig 1) (OMS, 2014), (Jiménez, 2009).

❖ Complicaciones microvasculares

- *Retinopatía*: es una causa importante de ceguera y discapacidad visual. Se debe al daño de los vasos sanguíneos de la capa posterior del ojo, la retina, lo que ocasiona una pérdida progresiva de la vista, que a veces llega a ser ceguera. Los cambios típicos incluyen engrosamiento de la membrana basal, aumento de la pérdida vascular, pérdida de pericitos retinianos y formación de microaneurismas capilares. Todos estos cambios asociados a la intensidad de la hiperglucemia y el tiempo de evolución de la enfermedad (Rosas, 2009).

Es la complicación microvascular más frecuente en pacientes diabéticos, existen dos formas, la no proliferativa y la proliferativa según la ausencia o presencia de neovascularización en la retina (OMS, 2014) (Sánchez, 2010).



- No proliferativa: son microaneurismas, hemorragias intrarretinianas, manchas algodinosas, exudados duros.
- Proliferativa: se caracteriza por la presencia de nuevos vasos y proliferación de tejido fibroso, neovascularización, hemorragia vítrea, desprendimiento de retina, glaucoma neovascular.

Se manifiesta con un deterioro en la agudeza visual, es la principal causa de ceguera en los adultos, la presencia de retinopatía supone un marcador de riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares (Mata, 2014) (Sánchez, 2010).

- *Nefropatía*: es una complicación crónica de la DM que está asociada a un importante aumento en la mortalidad, principalmente relacionada a la enfermedad cardiovascular. Esta complicación es la principal causa de insuficiencia renal crónica en pacientes que ingresan en programas de diálisis en países desarrollados. (Rosas, 2009).

Se manifiesta con un aumento en la excreción urinaria de albumina y alteraciones en la filtración glomerular. Inicialmente se produce una pérdida de albumina por el riñón que oscila entre 20 y 200mg/l (entre 30 y 300mg en orina en 24 horas). Cuando la albumina supera los 300mg/24h suele ser detectada mediante las tiras convencionales de proteinuria, cuando el deterioro renal es muy avanzado se produce una elevación de creatinina plasmática constituyendo la fase de insuficiencia renal. La nefropatía es causante de muerte si no se trata a tiempo, en los países desarrollados esta es una causa importante de diálisis y trasplantes renales (Mata, 2014), (OMS, 2014), (Sánchez, 2010).

- *Neuropatía*: son lesiones en los nervios, causada por la hiperglucemia de la diabetes, puede manifestarse por la pérdida sensorial, lesiones en los miembros e impotencia sexual. Es un grupo heterogéneo de alteraciones del sistema nervioso periférico, puede tener una distribución de polineuropatía o de mononeuropatía (puede implicar algún nervio craneal) (OMS, 2014), (Sánchez, 2010).



- La polineuritis distal simétrica es la complicación crónica más frecuente de la diabetes (62%). La forma clínica más habitual es la sensitiva-motora en extremidades inferiores. Su detección precoz es importante porque identifica los pacientes con mayor riesgo de pie diabético.

La neuropatía autonómica afecta al 20-40% de los diabéticos tipo 2. La afección más grave es la cardiovascular ya que se asocia a aumento de muerte súbita, arritmias cardíacas e isquemia miocárdica silente, un 50% de los pacientes fallecen en los 2-5 años siguientes al diagnóstico (Mata, 2014).

Pie diabético: se considera una de las complicaciones más devastadoras debido a las ulceraciones, estas representan el 85% de las amputaciones realizadas, causando elevadas tasas de morbilidad y mortalidad (Rosas, 2009). Es causado por alteraciones de los vasos sanguíneos y los nervios, a menudo se complica con úlceras que obligan a amputar. Es una de las complicaciones con mayores implicaciones económicas que afectan la calidad de vida de un paciente, es una consecuencia de la pérdida de sensibilidad por neuropatía. En México el 2% de los pacientes diagnosticados han sufrido ya amputaciones de miembros (ENSANUT, 2012) (Mata, 2014) (OMS, 2014).

❖ Complicaciones macrovasculares

Las enfermedades cardiovasculares representan la principal causa de mortalidad entre diabéticos. Cerca del 75% de las muertes cardiovasculares atribuidas a la DM están directamente relacionadas a la enfermedad arterial coronaria. Las tres principales complicaciones macrovasculares son la cardiopatía isquémica, accidente cerebrovascular y la arteriopatía periférica (Rosas, 2009) (Jiménez, 2009).

La hiperglucemia daña los vasos sanguíneos mediante el proceso conocido como aterosclerosis o endurecimiento y obstrucción de las arterias. Este estrechamiento de las arterias puede reducir el flujo de sangre al músculo cardíaco (infarto del miocardio), del encéfalo (accidente cerebrovascular) o de los miembros (dolor y curación tórpida de las heridas infectadas). (OMS, 2014).



La cardiopatía isquémica es la responsable del 72% de las muertes en la diabetes tipo 2 y en México 2.8% de los pacientes enfermos han sufrido infartos (ENSANUT, 2012).

❖ Otras complicaciones

Las personas con diabetes son más propensas a sufrir neumonía y gripe; las personas con diabetes mayores de 60 años tienen hasta 3 veces más probabilidad de tener incapacidad para caminar más de 400 metros, subir escaleras y dificultad de realizar labores en su hogar también son más propensas a necesitar ayuda de dispositivos para tener movilidad si se les compara con personas del mismo grupo de edad pero sin diabetes (ADA, 2014).

Enfermedad dental: la enfermedad periodontal es común en personas con diabetes. Entre los adultos y los jóvenes con diabetes se duplica el riesgo. Aproximadamente un tercio de las personas con diabetes sufren de enfermedad periodontal aguda con una pérdida de la adhesión de las encías a los dientes de más de 5 milímetros (ADA, 2014) (Rosas, 2009).

Durante el embarazo: el control inadecuado de la diabetes durante el primer trimestre del embarazo puede provocar malformaciones congénitas (del 5 al 10% de los embarazos sufren esta complicación) y alrededor del 20% de las mujeres con diabetes sufren abortos espontáneos. El mal control de la diabetes durante el segundo y tercer trimestre puede dar lugar a bebés con obesidad lo que representa un riesgo tanto a la madre como al bebé (ADA, 2014) (Rosas, 2009).

Disfunción sexual: la diabetes aumenta en forma significativa el riesgo de padecer disfunción sexual tanto en hombres como en mujeres. La disfunción sexual más frecuente es la disfunción eréctil y se observa en pacientes diabéticos mal controlados, esta complicación se observa hasta en un tercio de los hombres adultos diabéticos (ADA, 2014) (Rosas, 2009).



Anexo 2. Metabolismo de la glucosa

La DM es un desorden metabólico en el que se ve afectado el metabolismo de la glucosa por lo tanto se tienen que mencionar las principales vías por las cuales se transforma la misma, también es importante mencionar estas vías ya que los tratamientos ya sean hipoglucemiantes orales o insulina exógena al igual que algunas de las plantas hipoglucemiantes utilizadas para controlar dicha enfermedad van dirigidos a una de las vías de la glucosa que a continuación se mencionaran.

La glucosa es el principal sustrato energético de los tejidos y el único utilizado por el cerebro. Los factores determinantes de la concentración de glucosa en sangre incluyen el volumen de distribución en el espacio extracelular, así como la velocidad de entrada y salida de glucosa en dicho espacio (Rosas, 2009).

La glucosa al ser una molécula hidrofílica su ingreso a las células se realiza mediante dos tipos de proteínas acarreadoras: los transportadores de glucosa asociados a sodio (SGLT) y los sistemas facilitadores del transporte de glucosa (GLUT).

Los SGLT se expresan principalmente en el intestino delgado y epitelio tubular renal los cuales se encargan de la absorción y reabsorción de nutrientes. Existen 3 tipos de SGLT los cuales se expresan en diferentes tejidos; los SGLTI se expresan en intestino delgado, corazón y riñón, los SGLTII está presente en el túbulo contorneado proximal y por último el SGLTIII se encuentra en las neuronas colinérgicas del intestino delgado y en las uniones neuromusculares.

Los GLUT se expresan en todas las células del organismo pero hay 14 tipos de estos transportadores los cuales se expresan en diferentes tejidos. A continuación se presenta una tabla mostrando los diferentes tipos de GLUT y el tejido donde se expresan (Cuadro 1).



Cuadro 1. Clasificación de sistemas facilitadores del transporte de glucosa GLUT en Ratas (Castrejón, 2007).

Tipo GLUT	Células o tejido	Tipo GLUT	Células o tejido
GLUT1	Eritrocitos, células endoteliales del cerebro, neuronas, riñón y linfocitos.	GLUT8	Testículo y tejidos dependientes de insulina.
GLUT2	Células β pancreáticas, hígado, riñón e intestino delgado.	GLUT9	Riñón, hígado, intestino delgado, placenta, leucocitos y pulmones.
GLUT3	Sistema nervioso central, placenta, hígado, riñón, corazón y linfocitos.	GLUT10	Hígado y páncreas.
GLUT4	Tejidos sensibles a la insulina y linfocitos.	GLUT11	Corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, riñón, placenta y páncreas.
GLUT5	Intestino delgado, testículo y riñón.	GLUT12	Músculo esquelético, tejido adiposo e intestino delgado.
GLUT6	Cerebro, bazo y leucocitos.	GLUT13	Cerebro.
GLUT7	Intestino delgado, colon, testículos y próstata.	GLUT14	Testículos.



Datos relevantes acerca de los GLUT: si existen alteraciones en el gen que codifica para el GLUT1 se relaciona con el desarrollo de la DM tipo 2. La deficiencia de GLUT3 está relacionada con la restricción del crecimiento intrauterino fetal y a la vez los niños que padecieron dicha restricción tienen mayor riesgo de desarrollar DM tipo 2. En pacientes con DM tipo 2 se encuentra disminuida la expresión de las vías de señalización que translocan al GLUT 4. La expresión de GLUT8 se encuentra aumentada en tejidos sensibles a insulina en el caso de DM tipo 2 como una posible vía alterna para compensar la deficiencia funcional de los GLUT dependientes de insulina. El transportador GLUT10 se encuentra sobreexpresado en pacientes con DM tipo 2 principalmente en el páncreas e hígado. El GLUT12 está relacionado con la nefropatía diabética, es considerado como un segundo sistema de transporte de glucosa dependiente de insulina (Castrejón, 2007).

Los niveles de glucosa sanguínea son regulados principalmente por 4 hormonas como son la adrenalina, cortisol, glucagón y la insulina. De todas estas hormonas la que tiene un mayor efecto hipoglucemiante es la insulina, éste efecto se debe a que induce la translocación de GLUT a la membrana plasmática de las células del músculo esquelético, de los adipocitos y hepatocitos lo cual produce la entrada de glucosa a través de éstos transportadores disminuyendo drásticamente los niveles de glucosa sanguínea. A continuación se describe con más detalle este proceso (Castrejón, 2007).

La insulina promueve la captación de glucosa al interior de las células y promueve la síntesis de glucógeno.

El hígado es el primer órgano alcanzado por la insulina, una vez que ésta es secretada y llega al torrente sanguíneo. La insulina promueve la síntesis y almacenamiento de glucógeno, al mismo tiempo inhibe la glucólisis mediante la activación de la glucógeno sintetasa e inhibición de la glucosa 6-fosfatasa (Rosas, 2009).



La glucosa es oxidada por activación de la glucocinasa y fosfofructocinasa por lo que aumenta la producción de piruvato. Finalmente evita la gluconeogénesis mediante la inhibición de la fosfoenolpiruvato carboxilasa. La insulina es secretada al torrente sanguíneo para ejercer su efecto biológico en órganos que dependen de su acción para captar y utilizar la glucosa (Rosas, 2009).

La insulina se une a su receptor en las células que la requieren y genera una cascada hacia abajo mediante segundos mensajeros que dan como resultado la translocación de los transportadores de glucosa principalmente GLUT4 en los tejidos dependientes (Fig 7). Una vez en el interior, la glucosa se va principalmente a la vía glucólisis generando piruvato por lo tanto ATP para que la célula tenga energía para llevar a cabo sus funciones (Rosas, 2009).

La insulina es secretada por las células β pancreáticas este proceso inicia cuando la glucosa llega a los transportadores GLUT2 presentes en dichas células para estimular la exocitosis de gránulos de insulina, este mecanismo se describe con más detalle en el siguiente apartado.



Anexo 3. Mecanismo de la insulina

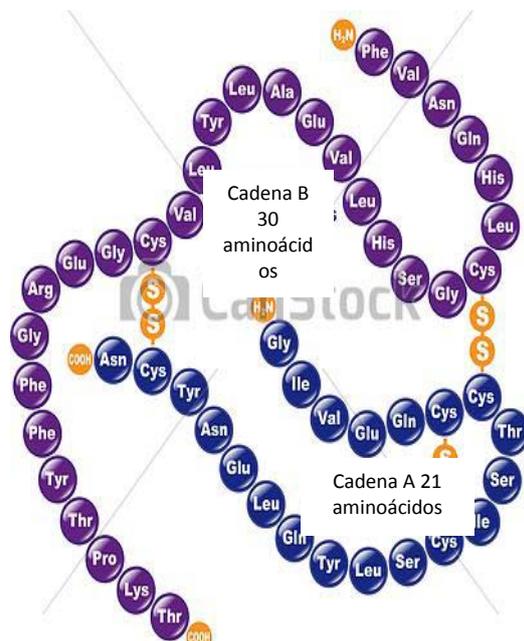


Figura 2. Estructura de la insulina humana, está compuesta por dos cadenas la cadena A de 21 aminoácidos y la cadena B de 30 aminoácidos. www.canstockphoto.es [2014].

La insulina es una hormona peptídica producida en las células β pancreáticas se encuentra codificada en el brazo corto del cromosoma 11. Está formada por una cadena A de 21 aminoácidos y la cadena B de 30 aminoácidos (Fig 2). El péptido C y la insulina madura se almacenan juntos y son secretados simultáneamente. Ésta hormona es liberada por las células β pancreáticas en respuesta a niveles elevados de glucosa en sangre; la insulina controla funciones energéticas como lo son el metabolismo de la glucosa y los lípidos (Olivares, 2008) (Rosas, 2009).

El estímulo fisiológico más potente en la liberación de insulina es la glucosa y es dosis dependiente, otras macromoléculas que pueden estimular su secreción pero con menos potencia son aminoácidos, acetonas, péptidos intestinales y neurotransmisores (Rosas, 2009).

La infusión de glucosa a una velocidad constante muestra un patrón de secreción de insulina bifásica con un pico rápido en la etapa inicial, dependiente de la insulina preformada y posteriormente un pico tardío más lento dependiente de síntesis de novo (Rosas, 2009).

La glucosa entra a la célula β por difusión pasiva por medio del transportador GLUT 2, los niveles de glucosa en el interior de las células iguales o superiores a 70mg/dl estimulan la secreción de insulina. Una vez en el interior la glucosa es el blanco de la glucoquinasa formando glucosa 6-fosfato la cual se lleva a glucólisis hasta oxidarse en 2 piruvatos.

El piruvato entra al ciclo de los ácidos tricarboxílicos generando agua, CO_2 así como NADH y FADH_2 estas dos últimas moléculas son generadoras de ATP en la fosforilación oxidativa, la relación ATP/ADP genera cambios conformacionales en los canales de potasio ATP-dependientes provocando su cierre, se inicia la despolarización de la membrana lo cual provoca la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje en consecuencia entra calcio y son secretados los gránulos de insulina preformada (Fig 3) (Brunetti, 2014) (Rosas, 2009).

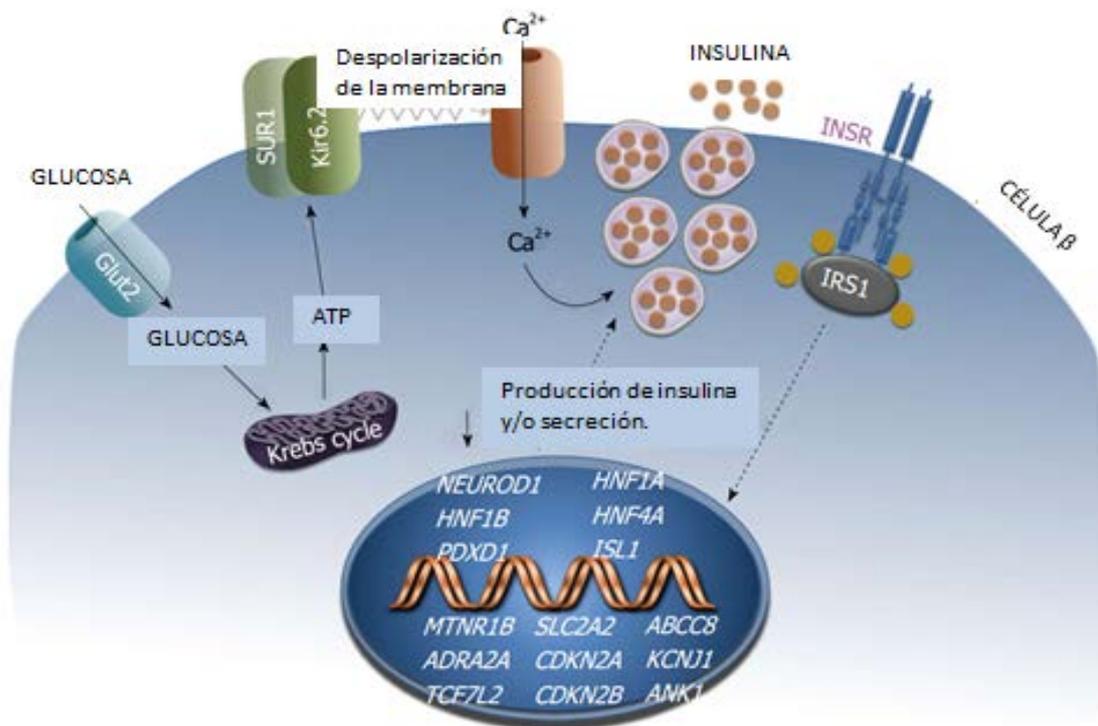


Figura 3. Estimulación de la secreción y producción de insulina por las células β pancreáticas. La glucosa entra por el transportador de glucosa GLUT2, la glucosa que ingresa genera ATP y se despolariza la membrana existe una entrada de calcio y este produce la exocitosis de gránulos de insulina preformada. Tomada de Brunetti, 2014.



La insulina ejerce su efecto al unirse a su receptor específico (IR). El receptor de insulina es una glucoproteína que pertenece a los receptores transmembrana de la familia de los receptores de los factores de crecimiento. Está formado por 2 subunidades proteicas codificadas en un solo gen (Fig 4).

- Subunidad α : es la más grande es extracelular y está ligada a la subunidad β mediante puentes de disulfuro.
- Subunidad β : cruza la membrana celular y su dominio intracelular tiene actividad de cinasa de tirosina que inicia la vía de señalización intracelular.

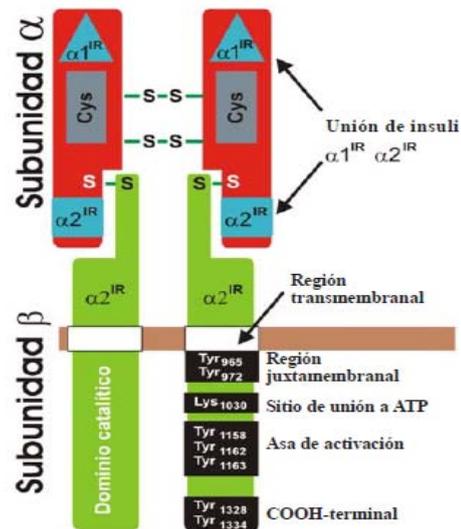


Figura 4. Estructura del receptor de insulina. Las subunidades α contienen regiones de unión a la insulina, es una región rica en cisteínas. La subunidad β contiene porciones extracelular, intracelular y transmembranal, en su porción intracelular se localiza el dominio catalítico de cinasa de la tirosina con un sitio de unión a ATP en sitios de fosforilación de tirosina localizados en las regiones juxtamembranal, asa de activación y carboxilo terminal (Olivares 2008).

Una vez que la insulina se une a la subunidad α la cual activa a la subunidad β , ésta funciona mediante autofosforilación de sus residuos de Tirosina, lo cual induce el reclutamiento de proteínas adicionales al complejo y fosforila una serie de sustratos intracelulares incluyendo al sustrato del receptor de insulina tipo 1 y 2 (IRS-1 y 2).

Estos sustratos activados conducen cada uno a reclutamiento subsiguiente y activación de cinasas, fosfatasas y otras moléculas de señalización adicionales que pueden dividirse en una vía de transducción metabólica mediada por fosfatidil inositol 3 cinasa (PI3k) y en una vía de transducción mitogénica mediada por proteína cinasa activadora de la mitosis (MAP cinasas). Ambas



vías regulan la mayoría de las acciones de la insulina asociadas a la regulación del metabolismo energético, expresión genética y efectos mitogénicos (Olivares, 2008) (Rosas, 2009).

La señalización vía mitogénica mediada por MAP cinasas: éstas cinasas tienen una amplia gama de sustratos incluyendo factores de transcripción y otras cinasas, que participan principalmente en la regulación de la expresión genética en tejidos sensibles a la insulina pero no en la regulación del transporte de glucosa (Fig 5) (Olivares, 2008).

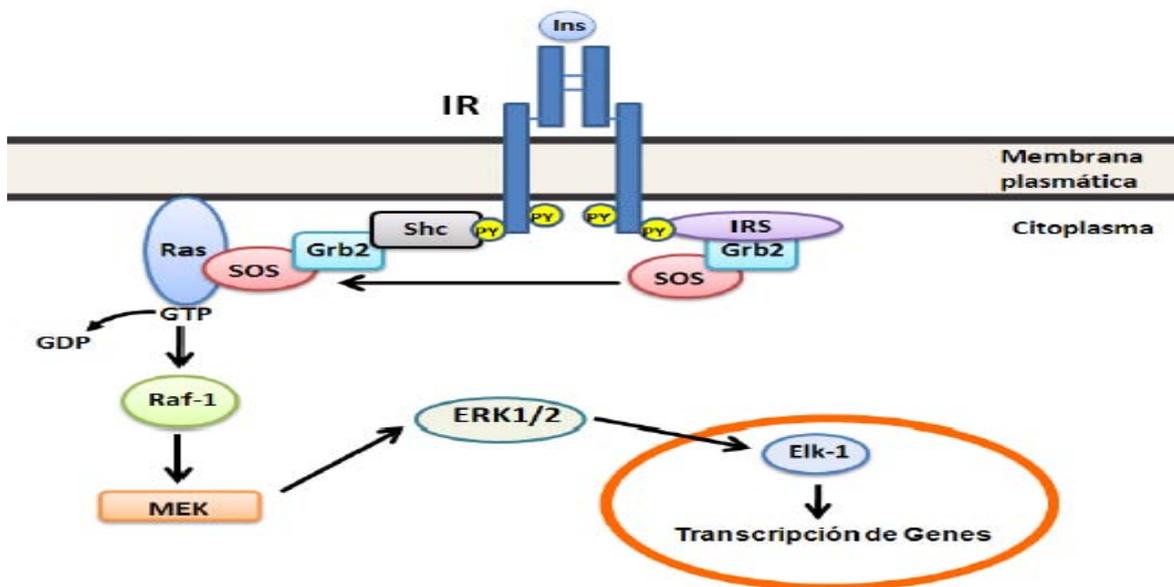


Figura 5. Activación de la vía de las MAPK por acción de la insulina. La insulina activa esta vía a través de los dos mecanismos: 1) la activación del IR promueve la activación de la proteína Shc, la cual une al complejo Grb2/SOS, SOS activa a Ras la cual enciende la cascada de las MAPK. GTP-Ras une y activa a Raf-1 lo cual lleva a la fosforilación y activación de la MEK y de las ERK1/2. 2) depende de la activación del IRS por lo que la insulina es capaz de activar a las MAPKs, una vez activo el IRS, une al complejo Grb2/SOS y a partir de este punto los siguientes pasos tienen la misma secuencia que la forma anteriormente descrita (Olivares 2008).

La señalización de la vía metabólica mediante activación de PI3k conduce al movimiento y translocación de vesículas que contienen transportadores de glucosa GLUT 4 hacia la membrana celular en tejidos que dependen de insulina para su captación como en el músculo estriado, tejido adiposo y miocardio principalmente. Ejerce su función en el metabolismo de la glucosa y de los lípidos (Fig 6 y Fig 7) (Olivares, 2008) (Rosas, 2009).

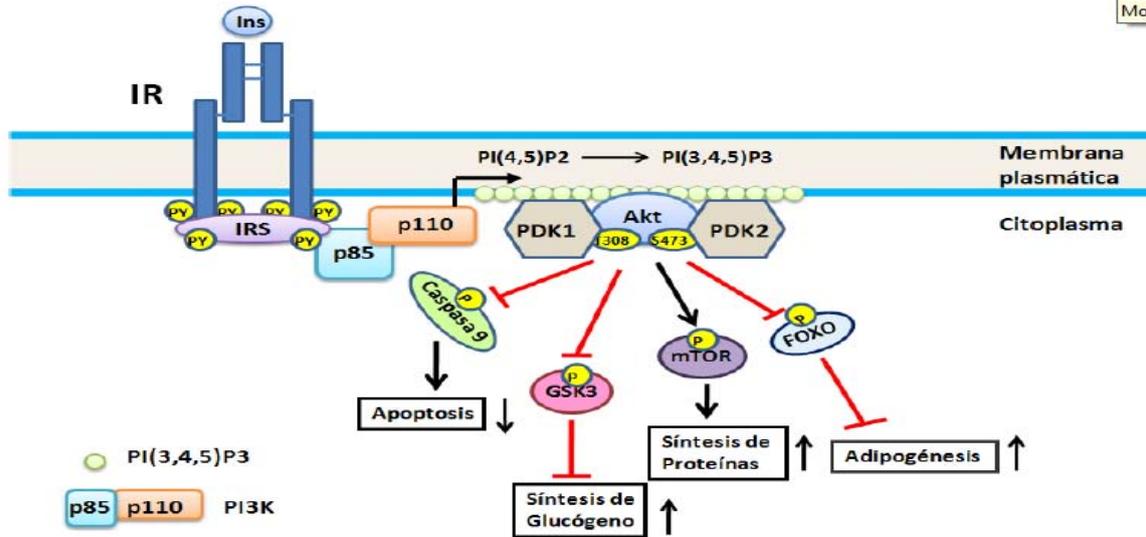


Figura 6. Activación de la vía PI3K/Akt por la insulina. El IR activo activa a IRS los sitios de tirosina forforilados por IR se convierten en sitios de unión y proteínas que contienen dominios SK2 como lo es PI3K/Akt éste consta de una reguladora (p85) y una subunidad catalítica (p110). La interacción de p85/ IRS-1 activa a p110 y éste último tiene acceso a PI(4,5)P que es su sustrato y se fosforila en la posición 3 del inositol y genera PI(3, 4, 5)P que sirve como sitio de unión para cinasas de Ser como PDK1 y Akt. El complejo PDK2 activa a Akt e induce una primera fosforiliación en la Ser 473 que es seguida por la fosforilación de la Thr 308 (inducida por PDK1). Akt regula varios de los efectos metabólicos de la insulina a través de la regulación de diferentes sustratos que propagan la respuesta (Olivares 2008).

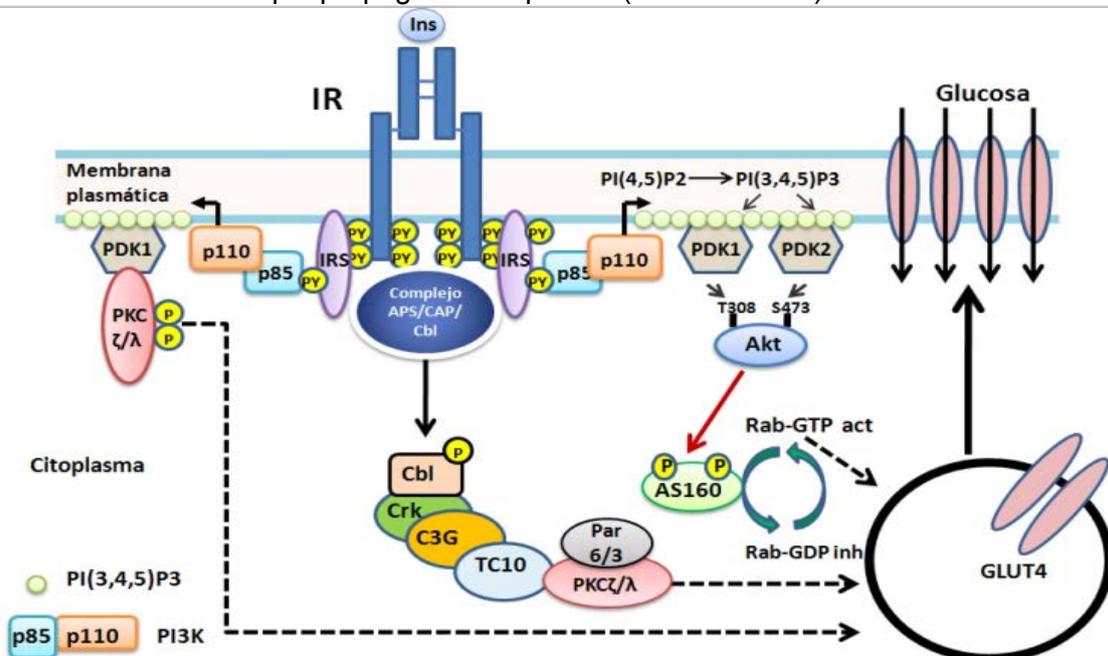


Figura 7. Regulación del transporte de glucosa por la insulina. La insulina promueve la translocación del transportador GLUT4 en tejidos dependientes de este transportador. Cuando AS160 es fosforilada por Akt se inhibe, por lo que se incrementa el tráfico dependiente de Rab-GTP (activo) de GLUT4 a la membrana plasmática. PDK1 induce también la fosforilación de sitios críticos en el asa de activación de dos formas atípicas de la PKC (PKCζ/λ), que contribuyen de manera significativa a la translocación de GLUT4 inducida por la insulina (Olivares 2008).