



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Estudio crónico del efecto hipoglucemiante  
de las hojas de *Bromelia karatas* L.  
en ratas STZ-NA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**BIÓLOGA**

P R E S E N T A:

Gabriela Sánchez Villaseñor

DIRECTOR DE TESIS:  
Dr. Adolfo Andrade Cetto  
2016

Cd.Mx.





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

Sánchez  
Villaseñor  
Gabriela  
53 97 52 01  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
30020879-3

2. Datos del tutor

Dr.  
Adolfo  
Andrade  
Cetto

3. Datos del Sinodal 1

Dr.  
René de Jesús  
Cárdenas  
Vázquez

4. Datos del Sinodal 2

M. en C. Agustín  
Carmona  
Castro

5. Datos del Sinodal 3

M. en C.  
Jazmín  
Samarío  
Román

6. Datos del Sinodal 4

Biol.  
Fernanda Artemisa  
Espinoza  
Hernández

7. Datos del trabajo escrito

Estudio crónico del efecto hipoglucemiante de las hojas de *Bromelia karatas* L. en ratas STZ-NA  
88 p.  
2016

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Ciencias por formarme profesionalmente.

A DGAPA, PAPIIT (Proyecto IN 214413) por los recursos para llevar a cabo este proyecto.

A DGAPA, PAPIIT (Proyecto IN 228216) por las becas que apoyaron a este proyecto.

Al proyecto CONACYT ciencia básica CB-2010- 01 0151264 por contribuir con recursos para la realización de este proyecto.

Al Dr. Adolfo Andrade Cetto por darme la oportunidad de realizar este proyecto de investigación, por brindarme su apoyo, conocimientos y confianza.

Al Dr. René de Jesús Cárdenas Vázquez por el apoyo académico brindado, por sus sugerencias y por ser parte del jurado de este trabajo.

Al M. en C. Agustín Carmona Castro por los comentarios realizados a este trabajo, por su apoyo y por formar parte del jurado del presente trabajo.

A la Biol. Fernanda Artemisa Espinoza Hernández por las revisiones y comentarios realizados que enriquecieron al presente trabajo escrito, por su apoyo y por pertenecer al jurado de este trabajo.

A la M. en C. Jazmín Samario Román por las sugerencias al presente trabajo que permitieron enriquecerlo y por ser parte de mi jurado.

Al Biol. Gerardo Mata Torres Valle por su apoyo, aportaciones y sugerencias durante la realización del presente proyecto.

A cada uno de mis compañeros del laboratorio de Etnofarmacología por brindarme gran apoyo, conocimientos y compañía.

# Índice General

<b>Agradecimientos</b>	<b>3</b>
<b>Abreviaturas y símbolos</b>	<b>7</b>
<b>Índice de Tablas</b>	<b>8</b>
<b>Índice de Figuras</b>	<b>9</b>
<b>Índice de Gráficas</b>	<b>10</b>
<b>Resumen</b>	<b>11</b>
<b>Introducción</b>	<b>12</b>
<b>Antecedentes</b>	<b>16</b>
<b>Diabetes mellitus</b>	<b>16</b>
Historia	16
Epidemiología	17
Prevalencia Mundial	17
Prevalencia en México	18
Consecuencias de las cifras	19
Costos de la DM	20
Medidas preventivas para disminuir el incremento de personas con DM	21
Definición	21
Descripción	21
Clasificación	22
<b>Diabetes mellitus tipo 2</b>	<b>24</b>
Generalidades de la digestión y absorción de los carbohidratos	24
Homeostasis de la glucosa	25
Etiología y factores de riesgo	27
Fisiopatología	29
Papel de la Resistencia a la Insulina en la fisiopatología de la DM2	30
Complicaciones de la DM2	32
Criterios de diagnóstico de la DM2	34
<b>Tratamientos de la DM2</b>	<b>36</b>
Agentes terapéuticos actuales	37
Hipoglucemiantes orales	37
Secretagogos de insulina	39
Sulfonilureas	39
Glibenclamida	40
<b>Modelos animales experimentales para DM2</b>	<b>41</b>
<b>Etnofarmacología</b>	<b>42</b>
<b>Familia Bromeliaceae</b>	<b>44</b>
<b><i>Bromelia karatas</i> L.</b>	<b>44</b>
Sinónimias	45
Nombres comunes	45
Descripción morfológica	47
<i>B. karatas</i>	47
Importancia ecológica	52
Distribución de <i>B. karatas</i>	53
<b>Antecedentes de <i>B. karatas</i></b>	<b>54</b>

Etnobotánicos	54
Tratamiento para la diabetes	54
Fitoquímicos	55
Toxicológicos	56
Farmacológicos	56
<b>Justificación</b>	<b>57</b>
<b>Objetivos</b>	<b>59</b>
<b>General</b>	<b>59</b>
<b>Particulares</b>	<b>59</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>60</b>
<b>Materiales y métodos</b>	<b>61</b>
<b>Colecta de <i>B. karatas</i></b>	<b>61</b>
Acondicionamiento del material botánico	61
<b>Obtención del extracto acuoso</b>	<b>62</b>
<b>Cálculo del DER (<i>Drug extract ratio</i>)</b>	<b>63</b>
<b>Cálculo de la dosis de extracto acuoso de <i>B. karatas</i></b>	<b>64</b>
<b>Animales experimentales</b>	<b>64</b>
<b>Inducción química de hiperglucemia moderada (Modelo experimental STZ-NA)</b>	<b>65</b>
<b>Diseño experimental</b>	<b>65</b>
<b>Dosis</b>	<b>66</b>
Glibenclamida	66
Extracto acuoso de <i>Bromelia karatas</i> L.	66
<b>Obtención de muestras y determinación de parámetros sanguíneos</b>	<b>66</b>
Determinación cuantitativa de la glucemia en sangre de la vena caudal	66
Determinación para el porcentaje de concentración de HbA <sub>1c</sub>	67
Determinación cuantitativa de los triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL	68
<b>Análisis estadístico</b>	<b>68</b>
<b>Resultados</b>	<b>69</b>
Obtención del rendimiento del extracto acuoso de <i>B. karatas</i>	69
Obtención del porcentaje de rendimiento del extracto acuoso de <i>B. karatas</i>	69
Determinación de dosis de glibenclamida y extracto acuoso de <i>B. karatas</i>	70
<b>Obtención de ratas con hiperglucemia moderada para el estudio crónico</b>	<b>70</b>
<b>Concentración de glucosa en plasma sanguíneo (mg/dL)</b>	<b>71</b>
<b>Porcentaje de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>)</b>	<b>75</b>
<b>Concentración de triglicéridos en plasma sanguíneo (mg/dL)</b>	<b>77</b>
<b>Concentración de colesterol HDL en plasma sanguíneo</b>	<b>79</b>
<b>Concentración de colesterol total en plasma sanguíneo</b>	<b>80</b>
<b>Discusión</b>	<b>81</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>88</b>
<b>Literatura consultada</b>	<b>90</b>



## Abreviaturas y símbolos

ADA	American Diabetes Association
AMPc	Adenosín monofosfato cíclico
ANOVA	Análisis de varianza
ATP	Adenosín trifosfato
<i>Bk</i>	<i>Bromelia karatas</i> L.
BE	Extracto butanólico
Ca <sup>2+</sup>	Calcio
cHDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad
CHg	Control Hiperglucémico
CHg+G	Control Hiperglucémico+Glibenclamida
CNg	Control Normoglucémico
CONABIO	Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad
cT	Colesterol total
DCCT	<i>Diabetes Control and Complications Trial</i>
DER	Drug extract ratio
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EHg+ <i>Bk</i>	Experimental Hiperglucémico + extracto acuoso de <i>Bromelia karatas</i> L.
EWE	Extracto acuoso
FMD	Federación Mexicana de Diabetes
FPG	Glucosa plasmática en ayuno ( <i>Fasting plasma glucose</i> )
GK	Glucoquinasa
GLI	Glibenclamida
GLUT2	Transportador de glucosa isoforma 2
GLUT4	Transportador de glucosa isoforma 4
HbA <sub>1c</sub>	Hemoglobina glicada
cHDL	Lipoproteínas de alta densidad
HO	Hipoglucemiantes Orales
IDF	International Diabetes Federation
i.p.	Intraperitoneal
IR	Receptor de insulina
IRS	Sustratos de receptor de insulina
i.v.	Intravenosa
K <sup>+</sup>	Potasio
MT	Medicina Tradicional
NA	Nicotinamida
OGTT	Prueba oral de tolerancia a la glucosa ( <i>oral glucose tolerance test</i> )
OMS	Organización Mundial de la Salud
PG	Glucosa plasmática ( <i>Plasma glucose</i> )
PM	Plantas medicinales
RI	Resistencia a la insulina
STZ	Estreptozotocina
SUR 1	Receptor de sulfonilureas
SU	Sulfonilureas
SSA	Secretaría de Salud/México
WE	Extracto etanol-agua
WHO	World Health Organization



## Índice de Tablas

Tabla 1. Estimaciones de la prevalencia mundial de diabetes _____	17
Tabla 2. Primeros 10 países en número de personas con diabetes, entre 20-79 años de edad _____	18
Tabla 3. Perfil del país durante 2010 y 2012 _____	19
Tabla 4. Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes _____	28
Tabla 5. Complicaciones agudas de la diabetes _____	32
Tabla 6. Complicaciones crónicas de la diabetes _____	33
Tabla 7. Criterios de diagnóstico de diabetes _____	35
Tabla 8. Mecanismos de acción generales de los potenciales tratamientos para la diabetes _____	36
Tabla 9. Grado óptimo del control de la glucemia para prevenir y retrasar complicaciones _____	37
Tabla 10. Clasificación de hipoglucemiantes orales _____	38
Tabla 11. Clasificación taxonómica de <i>Bromelia karatas</i> L. _____	44
Tabla 12. Nombres comunes de <i>Bromelia karatas</i> L. _____	46
Tabla 13. Diseño experimental _____	65
Tabla 14. Promedios de los niveles de glucosa plasmática (mg/dL) _____	73
Tabla 15. Promedios de los porcentajes de hemoglobina glicada en sangre (%HbA <sub>1c</sub> ) _____	75
Tabla 16. Promedios de los niveles plasmáticos de triglicéridos (mg/dL) _____	78
Tabla 17. Promedios de los niveles plasmáticos de colesterol HDL (mg/dL) _____	79

## Índice de Figuras

Figura 1. Trastornos de la glucemia de acuerdo a tipo y etapa	22
Figura 2. Perfil de glucosa en una persona sana	25
Figura 3. Fisiopatología de la hiperglucemia e incremento de ácidos grasos en sangre en la DM2	31
Figura 4. <i>Bromelia karatas</i> L.	47
Figura 5. <i>Bromelia karatas</i> L.	47
Figura 6. Raíz horricia de <i>Bromelia karatas</i> L.	47
Figura 7. Corte longitudinal de tallo inconspicuo de <i>Bromelia karatas</i> L.	48
Figura 8. Hojas alargadas y laceoladas de <i>B. karatas</i> . (CONABIO, 2015)	49
Figura 9. Cambio de dirección de las espinas en la hoja de <i>B. karatas</i> (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)	49
Figura 10. Inflorescencia de <i>B. karatas</i> (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)	50
Figura 11. Corte transversal de inflorescencia de <i>Bromelia karatas</i> L. (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)	50
Figura 12. Estructura de la inflorescencia de <i>B. karatas</i> (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)	51
Figura 13. Frutos de fusiformes de <i>Bromelia karatas</i> L.	52
Figura 14. Frutos de fusiformes de <i>Bromelia karatas</i> L.	52
Figura 15. Distribución de <i>B. karatas</i> en América (CONABIO, 2015)	53
Figura 16. Distribución de <i>B. karatas</i> en la República Mexicana (CONABIO, 2015)	53

## Índice de Gráficas

Gráfica 1. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de <i>B. karatas</i> sobre los niveles promedio de glucosa plasmática (mg/dL) en ratas STZ-NA _____	74
Gráfica 2. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de <i>B. karatas</i> sobre porcentajes promedio de hemoglobina glicada (HbA1c) en ratas STZ-NA_____	76
Gráfica 3. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de <i>B. karatas</i> sobre los niveles promedio de triglicéridos (mg/dL) en ratas STZ-NA_____	78
Gráfica 4. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de <i>B. karatas</i> sobre los niveles promedio de cHDL (mg/dL) en ratas STZ-NA _____	79



## Resumen

El presente trabajo se **enfocó** en determinar el posible efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Bromelia karatas* L. (*B. karatas*) a largo plazo. Dicha planta es empleada de forma tradicional para tratar la **diabetes mellitus tipo 2 (DM2)** por habitantes del municipio de Tlanchinol, Hidalgo. Para ello, se llevó a cabo un estudio crónico, en el cual se administró dicho extracto a una dosis de 218 mg/Kg de peso, durante un periodo de 42 días, en ratas con hiperglucemia moderada por inducción química (modelo experimental STZ-NA). Como fármaco control se utilizó **glibenclamida (GLI)**. El análisis del efecto hipoglucemiante se realizó con base en la determinación cuantitativa de los niveles séricos de glucosa, y en el porcentaje de **hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>)** en sangre. Además se efectuó la medición de los niveles séricos de triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL, cada dos semanas. El análisis de los resultados mostró que la administración diaria del extracto de *B. karatas* ejerce un efecto hipoglucemiante significativo sobre los niveles séricos de glucosa en ratas STZ-NA, durante el periodo de administración. El extracto administrado también presentó un efecto sobre el porcentaje sérico de HbA<sub>1c</sub> en ratas hiperglucémicas. Los resultados obtenidos corresponden con el uso tradicional de la planta como coadyuvante en el tratamiento de la enfermedad, lo que permite contribuir al entendimiento de los aspectos etnofarmacológicos de la especie.



## Introducción

En un contexto poblacional, la **diabetes mellitus (DM)** refiere alcances epidemiológicos considerables tanto a nivel mundial como nacional, dado que la incidencia, prevalencia y mortalidad se están incrementando a un ritmo acelerado, presentándose a edades más tempranas (Secretaría de Salud/México (**SSA**), 2015) y más comúnmente en los países de ingresos bajos y medianos (*World Health Organization (WHO)*, 2016) afectando a la población mundial más vulnerable (Wild, Roglic, Green, Sicree, & Kin, 2004).

Se estimó para el mundo que en 2015, 415 millones de personas vivían con esta enfermedad, lo cual representó el 8.8% de la población adulta (*International Diabetes Federation (IDF)*, 2015). Para **México** en 2012, se estimó que existían 11.5 millones de diabéticos entre la población (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (**ENSANUT**), 2012). La **DM** es una enfermedad crónica de causas múltiples caracterizada por causar hiperglucemia, que a su vez deriva en complicaciones crónicas y agudas (WHO, 1999) (Pinhas-Hamiel & Zeitler, 2007).

La American Diabetes Association (**ADA**) clasifica en cuatro categorías clínicas a la DM; de estos, la **diabetes mellitus tipo 2 (DM2)**, ocupa el mayor porcentaje de los casos de DM, hasta el 91% en los países de altos ingresos (ADA, 2014a).

La DM2 está influida por factores tanto genéticos como ambientales; entre ellos está presente la condición de obesidad y, por lo tanto, una etapa inicial de **resistencia a la insulina (RI)**. A medida que aumenta la RI, se presenta un aumento compensatorio en la secreción pancreática de insulina y la función de las células  $\beta$  del páncreas disminuye gradualmente. Esta disfunción genera una concentración anormal en los niveles de grasas en sangre conocida como **dislipidemia diabética**, lo que deriva en más **complicaciones**. Para retrasar y disminuir estas complicaciones se requiere de un control para mantener la glucemia dentro de los parámetros recomendados (*American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology - Medical Guidelines (AAACE/ACE)*, 2015), el cual se sugiere llevar a cabo de la siguiente manera: modificando el estilo de vida,



empleando un tratamiento con **hipoglucemiantes orales (HO)**, ya sea en monoterapia, en combinación con otros HO o en combinación con insulina (Cheng & Fantus, 2005).

A pesar de los considerables progresos en los tratamientos actuales para tratar la DM2 con HO, tanto de origen natural como sintético, las complicaciones propias de la diabetes continúan siendo un importante problema de salud; por ello, la búsqueda de nuevos fármacos que la controlen aún continúa (Arumugam, Manjula, & Paari, 2013).

Las **plantas** han sido siempre una fuente ejemplar de algunos de los fármacos actualmente disponibles, se han derivado directa o indirectamente de ellas. En esa línea, el potencial de las plantas medicinales para el desarrollo de tratamientos que contribuyan a la atención primaria de la DM2 y que eviten las complicaciones que de la enfermedad se deriven es muy amplio, dado que los compuestos de las plantas pueden optimizar el metabolismo de la glucosa y la condición integral de las personas que padecen esta enfermedad.

Debido a que la DM2 se presenta normalmente en personas con obesidad, la búsqueda de nuevos tratamientos tiene como objetivo principal reducir la RI y estimular la secreción de insulina (Soumyanath, 2006). Un ejemplo de fármaco desarrollado a partir de una planta es la **metformina** derivado de *Galega officinalis*, empleada como un tratamiento para la diabetes en la Europa medieval (Shenfield, 2013). Actualmente, algunas formulaciones a base de plantas que presentan actividad hipoglucemiante, se presentan en el comercio como medicamentos novedosos, a pesar de que ya han sido empleados por sus propiedades terapéuticas por los sistemas de **medicina tradicional (MT)** (Wadkar, Magdum, Patil, & Naikwade, 2008).

Adicional a lo anterior, se estima que a nivel mundial la atención primaria de salud de hasta un 80% de la población de los países en desarrollo, se basa en la medicina tradicional; adoptada por tradición cultural y debido a que no existen otras opciones accesibles. Esto aunado al alto costo de los medicamentos, o por la creencia generalizada de que lo “natural” es sinónimo de inocuo (WHO, 2004), lo cual fomenta su uso, principalmente en los países con mayor prevalencia de DM2 (Saravanan & Pari, 2008).



Debido a lo anterior, en México, las instituciones educativas y de investigación muestran avances progresivos en el campo de la investigación de las plantas medicinales, señalando un número creciente de especies vegetales empleadas para el tratamiento de la DM2 cada año. Tan solo en 2013, se reportaron por lo menos 383 especies de plantas empleadas para ese fin y se propone que este número podría ser de al menos 500 especies (Andrade-Cetto & Heinrich, 2005; Mata, Cristians, Escandón-Rivera, Juárez-Reyes, & Rivero-Cruz, 2013). Alrededor del mundo, más de 1,000 plantas han sido descritas como eficaces en el tratamiento de la DM (Day & Bailey, 2006); sin embargo, muchas de estas no han recibido una evaluación médica o científica exhaustiva de sus supuestos beneficios. Para dicha evaluación preclínica, se emplean diversos modelos experimentales similares al padecimiento (Eddouks, Chattopadhyay, & Zeggwagh, 2012). El modelo STZ-NA inducido químicamente, simula un síndrome parecido a la DM2 y por sus características, permite el desarrollo de estudios crónicos, como el realizado en el presente ensayo preclínico (**Modelo STZ-NA** (Masiello *et al.*, 1998)).

Dichos avances son motivados por el potencial de desarrollo que la **etnofarmacología** ofrece ante la demanda de conocimientos que contribuyan a la búsqueda y comprensión de nuevos tratamientos contra la enfermedad, al igual que a la validación del uso de las plantas medicinales para este fin y, por consiguiente, a la revisión de la seguridad de su uso. El planteamiento de la presente investigación se establece, se define y se desarrolla como parte de un proyecto que se centra en la búsqueda de especies vegetales de uso tradicional para tratar la diabetes, probando su potencial efecto hipoglucemiante.

Por otro lado, entre las plantas reportadas para el tratamiento de la DM2, se encuentra *B. karatas*, a la cual se le han dado varias denominaciones entre la población tales como: piñuela, aguama, chak ch'om, cardo o piña. Es una especie terrestre con un valor alto de importancia ecológica perteneciente a la familia **Bromeliaceae**. Entre sus reportes de uso están el comestible, el ornamental, y el medicinal; asimismo, existen reportes la presencia de: de flavonoides glucosilados, terpenos, carotenoides, flavonoides y antocianinas, entre la composición fitoquímica de sus hojas.



Además, existen reportes acerca de su uso tradicional para tratar la diabetes, así como el reciente reporte etnofarmacológico publicado en el cual se determinó el efecto hipoglucemiante agudo de la planta sobre los niveles de glucosa sérica en ratas STZ-NA (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013). En conjunto, estos antecedentes motivaron a establecer el **objetivo** central de esta investigación, la cual es determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Bromelia karatas* L., administrado de forma crónica en ratas STZ-NA.





## Antecedentes

### Diabetes mellitus

#### Historia

La historia de la identificación inicial de la diabetes y del camino al descubrimiento de la insulina está llena de hallazgos notables, así como de errores y descubrimientos casuales. (C. Ronald, 2005). La primera referencia de la *diabetes mellitus* se encontró en varios papiros antiguos; en el de *Ebers*, encontrado por *Georg Ebers* en 1872 cerca de Tebas, atribuida a *Imhotep* y que se cree fue escrito en 1550 a.e.c. En dicho papiro se describe la “excesiva orinadera” y se describen varios remedios para la misma, la cual ahora conocemos como poliuria (Zúñiga Guajardo & Rangel Rodríguez, 2003).

Desde 1500 a.e.c., existen referencias de población con diabetes, conocida como “exceso de orina”. Un médico griego de la era Romana, Areteo de Capadocia, definió mejor la enfermedad y la acuñó con el término *diabetes* (agua pasando a través de un sifón, por la poliuria). En la medicina hindú se describió como “*malhumeha*” (orina de miel), descrito en un documento (*Ayur Veda*) de Sumatra, que data del año 400 a.e.c. Posteriormente, durante el siglo XVIII, el médico escocés *William Cullen*, con base en sus investigaciones decidió agregarle el término “*mellitus*” de “miel” (Instituto Nacional de Estadística y Geografía/México (INEGI), 2013).

Desde entonces hasta la fecha, los logros en materia de la DM han sido cuantiosos y significativos, tales como: el avance en el conocimiento de los principios metabólicos básicos de fisiología animal; en la búsqueda de las causas de la enfermedad; en el descubrimiento, aislamiento y síntesis de la insulina; al igual que en el campo de la prevención y tratamiento de la enfermedad. Hoy en día, los centros de investigación de todo el mundo se han dedicado a realizar estudios enfocados en revisar las causas, la prevención y la mejora de los tratamientos de la enfermedad, teniendo avances (Barnett & Krell, 2007).



## Epidemiología

### Prevalencia Mundial

Los casos de muerte y discapacidad consecuencia de la diabetes se han convertido en una amenaza a la esperanza y a la calidad de vida de la población mundial, convirtiéndose en una epidemia global (Pan American Health Organization/WHO (**PAHO/WHO**), 2010). Dentro de este contexto, con la finalidad de dimensionar el comportamiento de esta epidemia y para mejorar la calidad de vida de las personas con diabetes, la **Federación Internacional de la Diabetes (IDF)** por sus siglas en inglés) ha estimado la carga mundial de personas con diabetes mellitus periódicamente. Como resultado, en el año 2000 estimó en aproximadamente 151 millones el número personas adultas con diabetes (en el grupo de edad de 20 a 79 años) y para 2015, estimó que aproximadamente 415 millones el número de personas vivían con esta enfermedad (lo que representó el 8.8% de la población adulta). Además, calculó que 5 millones de personas mueren a causa de esta enfermedad. Asimismo, la IDF, proyecta que para el 2040 el número de personas diabéticas se podría incrementar a 642 millones, lo cual representaría el 10.4% de la población mundial de entre 20 y 79 años de edad, de no implementar medidas adecuadas (IDF, 2015). Lo que muestra un claro aumento en la prevalencia de la enfermedad, la cual se presenta como resultado del envejecimiento de la población, la urbanización y de los cambios en el estilo de vida (Tabla 1).

**Tabla 1.**  
**Estimaciones de la prevalencia mundial de diabetes**

Año	Prevalencia mundial (%)
2000	4.6 %
2003	5.1 %
2011	8.3 %
2015	8.8 %
2040	10.4 %

(IDF, 2000; IDF, 2003; IDF, 2011; IDF, 2013; IDF; 2015)



## Prevalencia en México

En el escenario mundial, México pasó de ocupar el séptimo lugar de los países con el mayor número de personas con diabetes a ocupar el sexto lugar en 2015, con aproximadamente 11.5 millones; y se estima que para el 2040, ocupe el quinto lugar con 20.6 millones de mexicanos que vivan con diabetes (IDF, 2015) (Tabla 2). Estos datos reflejan la transición poblacional, la cual va envejeciendo (ENSANUT, 2012).

**Tabla 2.**

**Primeros 10 países en número de personas con diabetes, entre 20-79 años de edad**

LUGAR	2011		2015	
	País	Millones de personas	País	Millones de personas
<b>1</b>	China	90,0	China	129,7
<b>2</b>	India	61,3	India	101,2
<b>3</b>	EUA	23,7	EUA	29,6
<b>4</b>	Rusia	12,6	Brasil	19,6
<b>5</b>	Brasil	12,4	Bangladesh	16,8
<b>6</b>	Japón	10,7	México	16,4
<b>7</b>	México	10,3	Rusia	14,1
<b>8</b>	Bangladesh	8,4	Egipto	12,4
<b>9</b>	Egipto	7,3	Indonesia	11,8
<b>10</b>	Indonesia	7,3	Pakistán	11,4

(IDF, 2011; IDF, 2015)

De acuerdo a la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, en 2012 la **prevalencia** de diabetes constituyó el **9.2%** en adultos con diagnóstico médico previo de la enfermedad (6.4 millones de mexicanos diagnosticados); lo que refleja un incremento en comparación a la misma encuesta realizada en 2006 (**7.3%**, 3.7 millones). Sin embargo, la cifra de dicha prevalencia en el 2006 se incrementó con respecto a la cifra estimada en la encuesta realizada en el 2000 (**4.6%**, 2.1 millones de diabéticos). En resumen, la prevalencia de diabetes se duplicó del 2000 al 2012 (Encuesta Nacional de Salud (**ENSA**), 2000; ENSANUT, 2006; ENSANUT, 2012).



Lo anterior hace patente el incremento del número de personas que padecen diabetes y que este número aumentará durante las próximas décadas. Adicionalmente, esta enfermedad se ubicó en las primeras **causas de muerte** en el país, atribuyendo a esta patología la segunda causa de mortalidad entre la población mexicana. En 2010, fallecieron 80,788 personas a causa de la DM, superada tan solo por las enfermedades del corazón; para 2013, se convirtió en la primera causa de muerte en el país (89,420 personas), con una tasa de incidencia de 75.5 defunciones por cada 100 mil habitantes; además de que la tasa de mortalidad de dicho padecimiento ha presentado un incremento acelerado desde 1998 (Tabla 3) (INEGI, 2011; INEGI, 2013). En contraste, la cifra de la mortalidad entre las personas diagnosticadas va en decremento.

**Tabla 3.**  
**Perfil del país durante 2010, 2012**

Característica	2010	2012
<b>Población total nacional</b>	112,336,538	118,395,054
<b>Defunciones ocurridas en el país</b>	592,018	602,354
<b>Defunciones por enfermedades del corazón</b>	105,710	109,297
<b>Defunciones por DM</b>	80,788	85,055

(Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), 2016) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, México), 2013) (Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, México), 2014)

### Consecuencias de las cifras

De acuerdo a la ENSANUT 2012, del total de adultos mexicanos que han sido diagnosticados con diabetes (6.4 millones), únicamente el 21.7% reportó seguir una vigilancia estricta; este hecho aumenta las posibilidades de incrementar y agravar las complicaciones propias de la enfermedad en las personas sin vigilancia. Además, se estimó que el total de personas adultas con diabetes podría ser incluso el doble que el número de personas diagnosticadas con DM. Por otro lado, entre los mexicanos con diagnóstico previo de diabetes, se incrementó la proporción de los que reciben tratamiento con insulina de 7.3% en 2006 a 13.1% en 2012, lo que incrementa los gastos públicos de salud (ENSANUT, 2012).



Adicionalmente, la diabetes es una enfermedad crónica, por lo cual el tratamiento es requerido por la persona que la padece a lo largo de toda su vida. El inicio de la enfermedad es asintomática y debido a ello el diagnóstico se establece tardíamente, y como consecuencia, no se trata adecuadamente, ocasionando a su vez complicaciones, tales como: infarto al miocardio, insuficiencia renal, ceguera, amputación de extremidades e incluso la muerte prematura. Otro factor que se suma al problema, es la incidencia de la enfermedad en edades más tempranas, lo que aumenta el tiempo requerido de tratamiento (Flores Hernández, Reyes Morales, Reynoso Noverón, & Hernández Ávila, 2012; (Hernández-Ávila, Gutiérrez, & Reynoso-Noverón, 2013). Por otro lado, aunque la mortalidad disminuyó, las personas diagnosticadas no presentan mejoría en la calidad de vida.

### **Costos de la DM**

Estimaciones realizadas por la IDF indican que en el año 2015 la diabetes había generado un impacto económico en los Sistemas de Salud Internacionales de entre 673 billones de dólares y 1,197 billones de dólares.

En México, por su parte, la ENSANUT estimó un costo promedio anual por paciente de 707 dólares, resultando un mayor costo para el paciente con complicaciones. Por otro lado, un estudio calculó un costo total anual, en 2010, en costos directos de atención médica de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 para el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en 452 064 988 dólares. Los días en hospitalización y en unidad de cuidados intensivos fueron los servicios con mayor costo (Rodríguez Bolaños , Reynales Shigematsu, Jiménez Ruíz , Juárez Márquez, & Hernández Ávila, 2010).



## **Medidas preventivas para disminuir el incremento de personas con DM**

La DM2, es el tipo de diabetes más común, presente entre el 87% y el 91% de la población que padece algún tipo de diabetes, por lo que representa un problema sanitario mundial que además se asocia con los cambios culturales, sociales y con el envejecimiento de la población. En relación a estos cambios, la obesidad es una patología asociada al desarrollo de la DM2; por tal razón, las políticas públicas están encaminadas a promover y conservar la salud, reduciendo la carga de obesidad y diabetes. En este mismo sentido, la WHO considera como prioridad prestar atención especial al aumento de la prevalencia de diabetes que en muchos países se presenta y que, de manera extraordinaria, se presenta en los países de ingresos bajos y medianos (WHO, 2016). En México, se han tomado varias medidas encaminadas a combatir el sobrepeso, la obesidad y la diabetes; para que de este modo, se mejore la calidad de vida de la población (SSA, 2013).

### **Definición**

La *diabetes mellitus* se define como: “Un conjunto de trastornos metabólicos de etiología múltiple, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales, caracterizado por hiperglucemia crónica así como trastornos en el metabolismo intermedio de carbohidratos, grasas y proteínas, debido a la deficiencia en la secreción o acción de la insulina, o por ambos” (ADA, 2014<sup>b</sup>).

### **Descripción**

La diabetes evoluciona atravesando varios estadios clínicos a lo largo de su historia natural. Se caracteriza por hiperglucemia en ayunas, aunque también se reconoce en las etapas menos manifiestas, principalmente por la presencia de intolerancia a la glucosa. Frecuentemente, la diabetes se detecta en algún análisis de sangre o de orina rutinario, o por las molestias que derivan de una complicación, a causa de la hiperglucemia crónica. Por ello, el diagnóstico de la diabetes, en especial el de la DM2, es tardío debido a una hiperglucemia asintomática, lo



que incrementa los efectos de las complicaciones que causa la enfermedad (ADA, 2014<sup>a</sup>; Barnett & Krell, 2007).

La diabetes es una condición que da lugar a daños, disfunción y fracaso a largo plazo de varios órganos, principalmente ocasionados por la hiperglucemia crónica; en especial en: ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (Barnett & Krell, 2007). Son varios los procesos patógenos que intervienen en el desarrollo de la diabetes. Con frecuencia, la deficiencia en la secreción de la insulina o los defectos en la acción de la insulina coexisten en el mismo paciente, y a menudo no está claro qué anomalía es la causa principal de la hiperglucemia. La enfermedad puede presentarse con los síntomas característicos que la acompañan, tales como: polidipsia, poliuria, pérdida de peso, cansancio, y en algunos casos: polifagia y visión borrosa (ADA, 2014<sup>a</sup>; SSA, 2010; WHO, 1999).

### Clasificación

La clasificación clínica actual de la diabetes fue propuesta en 1997 por la *American Diabetes Association* y adoptada en 1999 por la *World Health Organization*, basada fundamentalmente en el estadio clínico (etapa fisiopatológica) y en los tipos etiológicos. El grado de hiperglucemia puede cambiar con el tiempo, dependiendo de la extensión del proceso subyacente de la enfermedad, se puede apreciar en la Figura 1.

**Figura 1.**

**Trastornos de la glucemia de acuerdo a tipo y etapa:**

Etapa Tipo	Normoglucemia	Hiperglucemia			
	Regulación normal de la glucosa	Glucemia alterada en Ayuno o intolerancia a la glucosa	Diabetes mellitus		
			No requiriendo insulina	Requiriendo insulina para control	Requiriendo insulina para sobrevivir
Diabetes mellitus tipo 1					→
Diabetes mellitus tipo 2				→	
Otros tipos Específicos				→	
Diabetes gestacional				→	

Figura 1. Se observan gráficamente los tipos etiológicos de la diabetes y las etapas clínicas (ADA, 2014; WHO, 1999).



De acuerdo a las recomendaciones señaladas por el comité ejecutivo de la ADA, la DM se puede clasificar en cuatro categorías clínicas (Tabla 3):

**Tabla 3.**

**Clasificación de la diabetes mellitus:**

<b>Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)</b>	Se caracteriza por la destrucción de células $\beta$ pancreáticas lo que conduce, en general, a la deficiencia absoluta de insulina. Afecta frecuentemente a la población joven. Requiere de la administración diaria de insulina. Se distinguen dos subtipos: <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Diabetes autoinmune</li> <li>➤ Diabetes idiopática</li> </ul>
<b>Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)</b>	Se caracteriza por un déficit progresivo de secreción de insulina sobre la base de una insulinoresistencia. Ambos suelen estar presentes en el momento en que esta forma de diabetes es clínicamente manifiesta. Afecta frecuentemente a las personas en etapa adulta.
<b>Otros tipos específicos de DM:</b>	Se caracterizan por otras causas como: <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Defectos genéticos en la función de células <math>\beta</math></li> <li>➤ Defectos genéticos en la acción de la insulina</li> <li>➤ Enfermedades del páncreas exocrino</li> <li>➤ Inducidas farmacológica o químicamente</li> <li>➤ Infecciones</li> <li>➤ Formas infrecuentes de diabetes de origen inmune</li> <li>➤ Otros síndromes genéticos asociados con frecuencia con diabetes</li> </ul>
<b>Diabetes gestacional (DG)</b>	Se caracteriza por presentar hiperglucemia durante el embarazo. DM diagnosticada durante el embarazo no es una DM claramente manifiesta

(ADA, 2014)





## Diabetes mellitus tipo 2

El panorama epidemiológico de la diabetes confirma la importancia de los estudios realizados en torno a ella, en especial los relacionados con la DM2. A continuación, se describen de manera más amplia las características que este padecimiento presenta, posterior a un apartado que de manera introductoria resume algunos aspectos básicos del metabolismo de los carbohidratos y la acción de la insulina, para comprender mejor la fisiopatología de la DM2.

### Generalidades de la digestión y absorción de los carbohidratos

En general, los carbohidratos o hidratos de carbono desempeñan diversas funciones biológicas, tanto sus unidades monoméricas constituyentes (como la glucosa o la ribosa) como los polímeros (como el almidón o el glucógeno), entre las cuales están: el reconocimiento celular (sistema inmunitario), la protección celular (como en las paredes celulares de bacterias y plantas), la señalización celular, la adhesión celular (como lubricantes biológicos), el control del tráfico de proteínas y el mantenimiento de la estructura biológica (por ejemplo: la celulosa) (Mathews, Van Holde, Appling, & Anthony-Cahill, 2013); además, **constituyen el principal aporte energético al organismo** en forma de energía química extraída a través de un conjunto de procesos enzimáticos que conforman al metabolismo de los carbohidratos, llevado a cabo en los distintos tejidos.

La mayoría de los carbohidratos ingeridos en la dieta son **polisacáridos**, los cuales requieren para su digestión ser hidrolizados por enzimas  $\alpha$ -amilasa salivales y por  $\alpha$ -amilasa pancreáticas en boca y en intestino delgado respectivamente. Del producto de esta acción resultan los oligosacáridos, los cuales son hidrolizados por las oligosacaridasas, desdoblado la glucosa de estos. En cambio, los disacáridos son hidrolizados directamente en la superficie de la mucosa intestinal, mientras que los monosacáridos, como la **glucosa**, son absorbidos directamente por el enterocito en el intestino al torrente sanguíneo, a favor de un gradiente de concentración por medio del transportador transmembranal de glucosa, **GLUT2**.



Es importante subrayar que, aunque las células pueden metabolizar diversas hexosas en la glucólisis, para la obtención de energía, la **glucosa es el principal combustible** para la mayor parte de las células. De hecho, el cerebro utiliza normalmente glucosa como única fuente de energía; sin embargo, como se describe más adelante, la regulación de este aporte energético es controlada para la óptima manutención del metabolismo del organismo.

### Homeostasis de la glucosa

Para que los tejidos que utilizan glucosa como sustrato primario (cerebro, cornea, cristalino, medula renal y testículo) mantengan su metabolismo regulado, el organismo debe mantener constante la concentración de glucosa en sangre (**normogluemia**). Esta regulación de los niveles de glucosa en sangre se mantiene mediante la captación periférica y la producción hepática de glucosa, con ello la cifra de glucemia fluctúa poco a lo largo del día, a pesar de los cambios producidos por los periodos de alimentación y ayuno (60-110 mg/dL; idealmente 80-105 mg/dL). Aunque son varias hormonas las que intervienen en el metabolismo de los glúcidos, como la adrenalina, la hormona tiroides, las catecolaminas, los glucocorticoides, las hormonas tiroideas y la hormona del crecimiento, son la **insulina** y el **glucagon** las principales hormonas responsables de regular este estado constante de estabilidad altamente eficiente al que se le conoce como homeostasis de la glucosa (Figura 2) (Kuri Morales *et al.*, 2007).

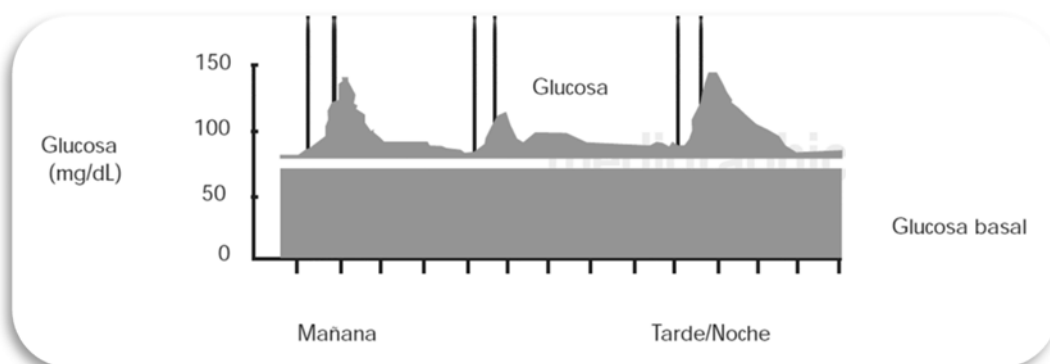


Figura 2. Perfil de glucosa en una persona sana (Kuri Morales *et al.*, 2007).



Debido a que la secreción de insulina por las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans es el único medio eficiente con el que el organismo cuenta para reducir la glucemia (ejerciendo su efecto en hígado, músculo y tejido adiposo, principalmente), entre otras funciones, resulta comprensible que el control de la secreción de insulina sea mediado de forma estricta, ejecutado por la propia glucosa y por diversos factores metabólicos, nerviosos, hormonales y en ocasiones, farmacológicos, lo que precisa una integración rápida por parte de las células  $\beta$ . Por lo tanto, cualquier alteración en el funcionamiento de esta célula tiene una repercusión importante en la homeostasis de la glucosa (Henquin, 2007).

El exceso de glucosa que ingresó al organismo es almacenado en el en forma de **glucógeno**, como reservorio de energía para ser empleada durante los periodos de ayuno, convirtiendo el glucógeno almacenado en glucosa por medio de la **glucogenólisis**. Adicionalmente, a partir de este exceso de glucosa también se forman los **triglicéridos**, los cuales se almacenan en el tejido adiposo, donde posteriormente puede ocurrir la **lipólisis**, produciendo glicerol y ácidos grasos libres. Además, el hígado también puede producir glucosa a partir de proteínas y grasas a través de un proceso llamado **gluconeogénesis**. Por lo tanto, los cambios en los niveles de glucosa, suprimen la producción de glucosa hepática, estimulan la captación de glucosa en el músculo e inhiben la lipólisis. Lo anterior da como resultado una reducción en la concentración de los ácidos grasos libres en la sangre, que mejora aún más el efecto de la insulina en el hígado y músculo. La homeostasis general, en condiciones normales, se logra a través de un equilibrio del metabolismo de la glucosa, ácidos grasos libres y amino ácidos, con el fin de mantener un nivel de glucosa en sangre equilibrado y para proporcionar un suministro ininterrumpido de glucosa al cerebro (Surya, Salam, & Vallika, 2014; DeFronzo, *et al.*, 2015).



## **Etiología y factores de riesgo**

La secuencia patológica (etiopatológica) de la DM2 es compleja e implica muchos elementos que actúan en conjunto para causar la enfermedad, lo que resulta en un conocimiento limitado de esta. Sin embargo, se sabe que la etiología de la DM2 implica la aparición de resistencia a la insulina como paso inicial, seguida por la alteración de la función de las células  $\beta$  del páncreas y la pérdida de dichas células. Además, resulta claro que los factores genéticos (predisposición genética) y los factores ambientales (estilo de vida), tienen un papel importante en el desarrollo de la enfermedad (Alonso-Magdalena, Quesada, & Nadal, 2011). En esta misma línea, las actuales investigaciones toman en cuenta las posibles interacciones genéticas y genético-ambientales, así como los diferentes mecanismos de regulación génica en distintos órganos y tejidos bajo diferentes condiciones (factores epigenéticos) (Tusié Luna, Huerta Chagoya, Vázquez Cárdenas, & Cruz López, 2015; Jyothi Kommoju & Mohan Reddy, 2011). Este panorama nos invita a la revisión de los factores de riesgo, los que se enumeran en la tabla 4.



**Tabla 4.**

**Factores de riesgo para el desarrollo de diabetes**

<b>Obesidad</b>	Es el factor de riesgo más importante para la DM2: <ul style="list-style-type: none"><li>• Índice de masa corporal (IMC) mayor a 25</li><li>• Perímetro de la cintura &gt; 80 cm en mujeres y &gt;90 cm en hombres</li></ul>
<b>Susceptibilidad genética</b>	Tener algún antecedente familiar de diabetes en primer y segundo grado
<b>Antecedentes obstétrico</b>	El riesgo de desarrollar DM2 es mayor en mujeres con antecedentes de: <ul style="list-style-type: none"><li>• Diabetes gestacional</li><li>• Hijos con peso mayor a 4 Kg al nacer</li></ul>
<b>Dieta inadecuada</b>	El patrón dietético influye en el riesgo de presentar la enfermedad
<b>Sedentarismo</b>	Realizar menos de 150 minutos de actividad física a la semana influye en el riesgo para el desarrollo de DM2
<b>Fármacos</b>	Antipsicóticos atípicos, diuréticos, betabloqueadores, glucocorticoides, anticonceptivos orales, tacrolimus, ciclosporina, ácido nicotínico, antirretrovirales inhibidores de la proteasa, hormonas agonistas de la gonadotropina, clonidina y pentamidina
<b>Otros factores de riesgo son:</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Enfermedad isquémica coronaria o vascular de origen aterosclerótico</li><li>• Hipertensión arterial</li><li>• Triglicéridos <math>\geq 150</math> mg/dL</li><li>• Colesterol HDL &lt; 40 mg/dL</li><li>• Bajo peso al nacer o macrosomía</li><li>• Adultos con escolaridad menor a la educación primaria</li><li>• Síndrome de ovario poliquístico</li><li>• Acantosis nigricans</li><li>• Tabaquismo</li></ul>

(Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes tipo 2 (GGPC), 2008) (ALAD, 2013) (Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD), 2013)



## **Fisiopatología de la Diabetes Mellitus Tipo 2**

La DM2 es el tipo más frecuente de diabetes. Es una enfermedad sistémica, crónico-degenerativa, con grados variables de predisposición hereditaria y con participación de diversos factores ambientales; se caracteriza por hiperglucemia crónica, debido trastornos en la secreción o acción de la insulina, siendo predominante cualquiera de las dos características aunque generalmente se detectan ambas en su manifestación clínica, lo que afecta al metabolismo intermedio de los hidratos de carbono, proteínas y grasas. Lo anterior se asocia necesariamente a un fracaso progresivo de las células  $\beta$  conforme la enfermedad evoluciona. Las personas con DM2 suelen presentar RI en grados variables y, en forma concomitante, una deficiencia en la secreción de insulina de forma relativa, más que absoluta. Las concentraciones de insulina plasmática pueden ser normales o elevadas, pero la condición de resistencia a la misma impide el buen control de la glucemia (Secretaría de Salud (SSA) México, 2010; Barnett & Krell, 2007)

Los pacientes suelen ser mayores de 30 años cuando se hace el diagnóstico, son obesos y presentan relativamente pocos síntomas clásicos. A menudo, a lo largo de su vida, ellos no necesitan tratamiento con insulina para sobrevivir, aunque podrían requerirlas en las etapas finales para el control de la glucemia. La enfermedad se presenta de manera más frecuente en personas con hipertensión o dislipidemia (Barnett & Krell, 2007). La DM2 está relacionada con la obesidad en el momento en el los pacientes desarrollan la enfermedad, siendo la obesidad un factor que agrava la enfermedad; a su vez esta condición sugiere la presencia de RI.

De acuerdo a la Asociación Latinoamericana de Diabetes, desde el punto de vista fisiopatológico, la DM2 se puede subdividir en:

- A. Predominantemente insulinoresistente con deficiencia relativa de insulina.
- B. Predominantemente con un defecto secretor de la insulina con o sin resistencia a la insulina (ALAD, 2013).



Para que la DM2 se presente, se requieren de defectos acompañantes de la secreción de insulina, en especial aquellos que tienen que ver con la contribución significativa de la RI. Además la RI, la aparición de la DM2 se vincula con los siguientes padecimientos: hipertensión arterial, dislipidemia, aterosclerosis, entre otros. A continuación se describirá a grandes rasgos esta alteración.

### **Papel de la Resistencia a la Insulina en la Fisiopatología de la DM2**

El metabolismo de la glucosa, normalmente está regulado por una retroalimentación entre las células  $\beta$  de los islotes y los tejidos sensibles a la insulina (Kahn, Cooper, & Del Prato, 2014). Cuando esta presenta alguna anomalía, se presenta una propensión a desarrollar DM2, estado conocido como RI, que comprende una alteración patológica en la que las células, que normalmente respondían ante la presencia de insulina, dejan de hacerlo, por lo que se afecta la eliminación de glucosa mediada por esta hormona; esto conlleva a la disminución de la efectividad de la hormona en los tejidos muscular, hepático y adiposo, ya sea que la insulina sea de origen exógeno o endógeno (Leahy, Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus, 2005; Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008; SSA, 2010).

Son múltiples los factores que intervienen en la aparición de la RI, tanto genéticos como ambientales (Tomkin, 2008). Se sabe que la resistencia a la insulina antecede de 10 a 20 años a la presencia de DM2 (Warram, Martin, MD, Krolewski, Soeldner, & Kahn, 1990), pero que la presencia de esta alteración no necesariamente evoluciona a DM2 (Despres *et al*, 1996).

En general, durante la RI se presentará un decremento tanto en los efectos metabólicos de esta hormona como en sus efectos supresores sobre la producción endógena de glucosa, sus efectos estimuladores sobre la captación periférica de glucosa (principalmente por el músculo esquelético), sobre la síntesis de glucógeno y sus efectos inhibidores sobre la lipólisis en tejido adiposo; lo que conducirá al aumento anormal en el nivel de glucosa en la sangre (Hawkins & Rossetti, 2007; Surya, Salam, & Vallika, 2014). Por ello se sabe que, una vez las concentraciones de glucosa en sangre presentan un aumento (incluso dentro de los límites normales), se debe a que la RI está presente, debido a un descenso continuo en la función de las células  $\beta$ . El deterioro progresivo en la función de estas células, es el resultado del avance



progresivo de esta alteración, así como de la intolerancia a la glucosa. La hiperglicemia postprandial, es causada por la pérdida de secreción de insulina en la primera fase y la baja supresión de la producción hepática de glucosa después de las comidas, debido a la deficiencia de insulina y exceso de glucagón (Figura 3) (Kahn, Cooper, & Del Prato, 2014; Stumvoll, Goldstein, & van H, 2005).

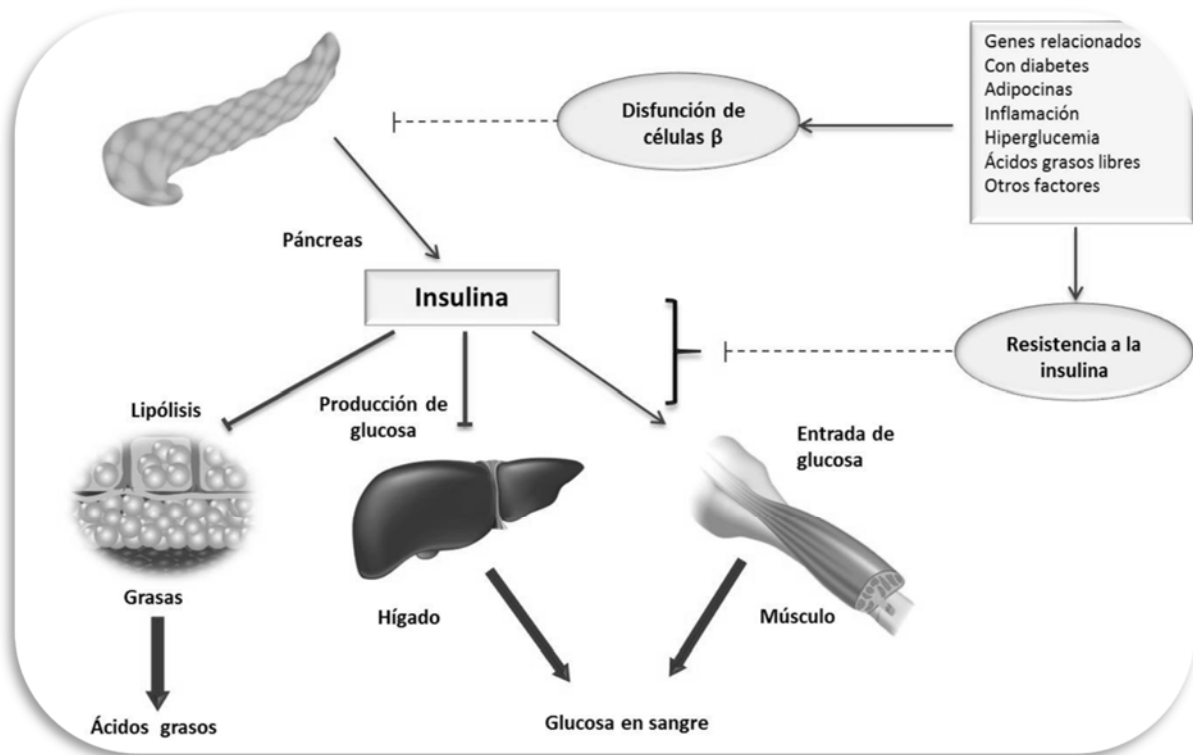


Figura 3. Fisiopatología de la hiperglicemia e incremento de ácidos grasos en sangre en la DM2, donde se observa el efecto que la RI tiene sobre los diferentes tejidos: liberación de ácidos grasos por tejido adiposo; aumento en la producción de glucosa por el hígado; y descenso en el ingreso de glucosa al músculo esquelético (Stumvoll, Goldstein, & van H, 2005).

Al disminuir la función de las células  $\beta$ , otras deficiencias hormonales ocurren a medida que progresa la DM2, como se manifiesta en las hormonas amilina e incretina, que intervienen como factores en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa (Braverman, 2007).

El tejido adiposo también tiene un papel importante en la patogénesis de la DM2. La RI a nivel de los adipocitos conduce a la lipólisis sin restricciones y a la elevación de ácidos grasos libres circulantes. El aumento en los ácidos grasos libres, a su vez, disminuye aún más la





respuesta de la insulina en músculo esquelético y la función de las células  $\beta$ , mientras que provoca el aumento en la producción hepática de glucosa. La glucosa genera toxicidad, lo que resulta en la hiperglucemia descontrolada que reduce aún más la sensibilidad a la insulina y la secreción de insulina pancreática (AACE, 2012)

En las personas con obesidad central y RI se presenta un aumento moderado de la concentración de triglicéridos, descenso de la concentración del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) y aumento de partículas LDL pequeñas y densas, a lo que se le conoce como **dislipidemia aterogénica**, el cual es un patrón lipídico característico de la DM2, que repercute en el incremento de las complicaciones microvasculares y macrovasculares que a su vez tienen un impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes con DM2 (Pedro-Botet, Benaiges, & Pedrago, 2012).

## **Complicaciones de la DM2**

Como se ha hecho mención anteriormente, la **DM2** está asociada a variadas complicaciones graves, que reducen la calidad de vida y aumentan la mortalidad prematura (AACE/ACE, 2015). Esto se debe en gran parte a que la DM2 tiene una larga fase asintomática preclínica que frecuentemente no es detectada. Por sus características, pasa desapercibida durante muchos años, dado que la hiperglucemia se presenta de forma gradual, y generalmente no es tan grave en las primeras etapas. Esto aumenta el riesgo de presentar complicaciones **macrovasculares** y **microvasculares**. Estas complicaciones están relacionadas con la duración del padecimiento (Barnett & Krell, 2007). Y se dividen en agudas y crónicas. Las complicaciones agudas son las descompensaciones metabólicas hiperglucémicas e hipoglucémicas; mientras que, las complicaciones crónicas son relacionadas con los años de evolución del padecimiento y del grado de control de la misma. Las complicaciones agudas se enlistan en la tabla 5:

**Tabla 5****Complicaciones agudas de la diabetes:**

<b>Hiperglucemia hiperosmolar</b>	Se caracteriza por hiperglucemia, deshidratación severa, hiperosmolaridad asociada a pérdida de conciencia y ausencia de acidosis metabólica significativa.
<b>Hipoglucemia</b>	Reducción crítica del suministro de glucosa al encéfalo (reducción por debajo de 50 mg/dL), alteración de conciencia y síntomas focales.

(Pinhas-Hamiel &amp; Zeitler, 2007)

Las complicaciones crónicas de la diabetes se pueden clasificar en **macrovasculares** y **microvasculares**. En la tabla 6 se enlistan las complicaciones crónicas con más detalle.

**Tabla 6.****Complicaciones crónicas de la diabetes:**

<i>Tipo de complicación</i>	<i>Complicación</i>
<b>Microvasculares</b>	Retinopatía Nefropatía Neuropatía
<b>Macrovasculares</b>	Enfermedad cerebrovascular Enfermedad de las coronarias Enfermedad vascular periférica Pie diabético
<b>Otras</b>	Deterioro cognitivo Riesgo a infecciones Riesgos de discapacidad física Riesgo vascular

(Pinhas-Hamiel &amp; Zeitler, 2007)

La detección temprana y un tratamiento adecuado en las personas con diabetes, son una estrategia adecuada para reducir la tendencia a presentar complicaciones (SSA, 2013).



## Criterios de diagnóstico de la DM2

Durante décadas los criterios de diagnóstico fueron basados en dos principales pruebas, ya fuera la glucosa plasmática en ayunas (FPG, *fasting plasma glucose*) o la prueba oral de tolerancia a la glucosa dos horas después de ingerir 75g de glucosa (OGTT, *oral glucose tolerance test*).

En 2009, el *International Expert Committee*, integrado por representantes de la *American Diabetes Association* (ADA), la *International Diabetes Federation* (IDF), y la *European Association for the Study of Diabetes* (EASD), recomendó el uso de la HbA<sub>1c</sub>, como prueba para diagnosticar la diabetes conocida como **hemoglobina glicada**.

La prueba de HbA<sub>1c</sub> tiene varias ventajas, incluyendo una mayor comodidad, mayor estabilidad preanalítica, y menos perturbaciones del día a día durante los periodos de estrés y las enfermedades. Son atractivas las ventajas que representa esta prueba, sin embargo, la prueba es costosa, no está estandarizada en el país, no se recomienda su uso en el diagnóstico para diabetes mellitus tipo 1, tampoco en el caso que el recambio de eritrocitos este aumentado, como en la anemia hemolítica e insuficiencia renal, ni en estados de aumento de glóbulos rojos (WHO, 2011).

Las desventajas del uso de HbA<sub>1c</sub> impiden el uso generalizado de la prueba para el diagnóstico de la diabetes, es por ello para los criterios de diagnóstico de diabetes se aceptan varias pruebas diagnósticas.

Desde 2010, los criterios de diagnóstico de diabetes, propuestos por la ADA, quedan de la siguiente manera (Tabla 7).



**Tabla 7.**

**Criterios de diagnóstico de diabetes**

<b>1.- HbA<sub>1c</sub> ≥ 6.5%</b>	La prueba debe realizarse en un laboratorio utilizando un método que ha sido certificado por el <i>National Glycohemoglobin Standardization Program</i> (NGSP) y estandarizado para el ensayo del <i>Diabetes Control and Complications Trial</i> (DCCT)
<b>2.- FPG ≥ 126 mg / dl (7,0 mmol / l)</b>	La prueba se debe llevar a cabo en ayuno, que se define como la no ingesta calórica durante al menos 8 horas. FPG, Glucosa plasmática en ayuno ( <i>Fasting plasma glucose</i> )
<b>3.- 2-h de glucosa plasmática ≥ 200 mg / dl (11,1 mmol / l) durante una OGTT</b>	La prueba debe realizarse como se describe por la WHO, utilizando una carga de glucosa que contiene el equivalente a 75g de glucosa anhidra disuelta en agua. OGTT, prueba oral de tolerancia a la glucosa ( <i>oral glucose tolerance test</i> )
<b>4.- PG ≥ 200 mg / dl (11,1 mmol / l)</b>	La prueba se realiza en un paciente con síntomas clásicos de crisis por hiperglucemia. PG, Glucosa plasmática ( <i>Plasma glucose</i> )

(American Diabetes Association (ADA), 2013) (Zamudio-Villarreal, 2010)



## Tratamientos de la DM2

Los tratamientos empleados para tratar la diabetes se han enfocado tradicionalmente en reducir los niveles de glucosa, puesto que hay evidencia que indica que mantener un control adecuado de la glucemia, reduce los riesgos de padecer complicaciones microvasculares que conlleva el padecimiento. De acuerdo a los diferentes mecanismos en que actúan los tratamientos potenciales para reducir la glucosa, es posible nombrarlos en la siguiente tabla (Tabla 8) (Baynes, 2006).

**Tabla 8.**

**Mecanismos de acción generales de los potenciales tratamientos para la diabetes**

<i>Mecanismos</i>	<i>Ejemplo de tratamiento</i>
Reducir de la absorción intestinal de carbohidratos	Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas
Aumentar la secreción de insulina pancreática	Sulfonilureas
Reducción en la producción de glucosa hepática	Biguanidas
Aumentar la sensibilidad a la insulina	Biguanidas

(Baynes, 2006)

En general, los avances científicos que derivan del conocimiento de la fisiopatología de la DM2, de los efectos que los tratamientos tienen sobre la enfermedad, así como nuevos tratamientos orales y formulaciones de insulina han dado lugar a nuevas terapias para el tratamiento de la DM2.

La incidencia de complicaciones clínicas de la diabetes, especialmente las microvasculares, está relacionada con los niveles de HbA<sub>1c</sub>. Por lo cual, el *Diabetes Control and Complications Trial*, el *Kumamoto trial*, el *United Kingdom Prospective Diabetes Study*, consideran el riesgo de complicaciones micro y macrovasculares en función de los niveles de HbA<sub>1c</sub> a lo largo del tiempo (Cooppan, 2007). Recientemente *Kumamoto trial*, señala como óptimo control los siguientes criterios (Tabla 9).



---

**Tabla 9.****Grado óptimo del control de la glucemia para prevenir y retrasar complicaciones****1.- HbA<sub>1c</sub> menor al 6.5%****2.- Concentración de glucosa basal inferior a 110 mg/dL****3.- 2-h de glucosa plasmática inferior a 180 mg/dL**(Cooppan, 2007) (World Health Organization (WHO), 2011)

---

Bajo esos criterios, los objetivos del tratamiento deben incluir un peso adecuado, con el mantenimiento de los niveles de glucosa lo más próximos al rango de normalidad (HbA<sub>1c</sub> < 6.5%), y la mejoría del perfil lipídico y de la presión arterial. Para el desarrollo del plan de tratamiento, debe considerarse, la edad, situación social, factores culturales y las condiciones generales del paciente, como la presencia de complicaciones como las microvasculares y macrovasculares u otras condiciones médicas. El régimen de ejercicios recomendado deberá ser individualizado, moderado y constante, que vaya de acuerdo a la edad y a la actividad física (GGPC, 2008; AACE, 2011).

**Agentes terapéuticos actuales**

El tratamiento de la hiperglucemia en los pacientes con DM2 ha tenido numerosos avances en los últimos años con nuevas estrategias y tratamientos. El uso eficaz de los fármacos y las técnicas terapéuticas actuales puede establecer la normoglucemia en muchos pacientes (Lebovitz H. E., 2007).

**Hipoglucemiantes orales**

Los hipoglucemiantes orales son compuestos con estructuras químicas y mecanismos de acción diferentes, que actúan disminuyendo las concentraciones de glucosa en sangre durante el tratamiento de la diabetes (González-Sánchez & Ortiz-Andrade, 2012). El uso de los hipoglucemiantes orales está indicado cuando la dieta prescrita y el ejercicio por sí solos no sean suficientes para un control glucémico adecuado. Puede utilizarse en monoterapia o en combinación con otros hipoglucemiantes orales o insulina (ADA, 2013).



Los hipoglucemiantes orales se pueden dividir de acuerdo a su mecanismo primario de acción, a sus características químicas y farmacológicas (Tabla 10).

**Tabla 10.**  
**Clasificación de hipoglucemiantes orales**

<i>Agente oral Hipoglucemiante</i>	<i>Principio activo</i>	<i>Mecanismo de acción primario</i>	<i>Posibles efectos adversos</i>
<b>Sulfonilureas (1946)</b>	Clorpropamida <b>Glibenclamida</b> Gliclazida Glimepirida Glipizida Tolbutamida Tolazomida	Estimula la liberación de insulina	Hipoglucemia, Aumento de peso
<b>Biguanidas (1957)</b>	Metformina Buformina	Inhibe la salida de glucosa hepática	Diarrea relacionada con la dosis, Acidosis láctica en pacientes con compromiso renal
<b>Inhibidores de <math>\alpha</math>-Glucosidasa (1995)</b>	Acarbosa Miglitol	Retrasa la absorción de carbohidratos para disminuir la hiperglucemia postprandial	Diarrea relacionada con la dosis, Dolor abdominal, Flatulencias
<b>Tiazolidinediones (Glitazonas) (1997)</b>	Pioglitazona Rosiglitazona Troglitazona	Incrementa la sensibilidad a la insulina en tejido muscular y adiposo	Edema, Anemia, Edema pulmonar, Aumento de peso, Falla cardíaca
<b>Meglitinidas (Secretagogos de acción rápida)</b>	Nateglinida Repaglinida	Estimula la secreción de la insulina	Hipoglucemia, Aumento de peso
<b>Inhibidores de la DPP-4 (Potenciadores de incretinas) (2006)</b>	Sitagliptina Pramlintide Vildagliptina Linagliptina	Restaura los niveles de GLP-1 y GIP	No son clínicamente significativos
<b>Incretinas reguladoras de GLP-1 (2005)</b>	Exenatida Liraglutida	Estimulan la secreción de insulina	Náuseas, Vómito, Cefaleas
<b>Inhibidores de la lipasa intestinal</b>	Orlistat	Reduce la absorción de grasa a nivel intestinal	Reduce la absorción de vitaminas liposolubles, Diarrea

(Cheng & Fantus, 2005) (González-Sánchez & Ortiz-Andrade, 2012) (Lebovitz H. E., 2007) (Kahn, Cooper, & Del Prato, 2014)



## Secretagogos de insulina

Los secretagogos de insulina empleados actualmente estimulan la secreción de insulina por parte de las células  $\beta$ -pancreáticas al provocar el bloqueo de los canales de potasio dependientes del ATP ( $K_{ATP}$ ) en la membrana plasmática de esta célula, lo que conlleva a la liberación de insulina (Lebovitz, 2007; González-Sánchez & Ortiz-Andrade, 2012). Entre los secretagogos más empleados se encuentran las sulfonilureas.

## Sulfonilureas

Las sulfonilureas (SU) se han utilizado para el tratamiento de la DM2 desde la década 1950-1960. Estas aumentan la fase tardía de secreción de insulina, lo que incrementa la posibilidad de hipoglucemia posprandial tardía y en ayunas. Las SU no aumentan la biosíntesis de insulina. En estudios *in vitro* se han confirmado sus efectos extrapancreáticos, como la reducción de la producción hepática de glucosa o la mejora de la resistencia insulínica en tejidos periféricos, aunque la relevancia clínica de estas acciones es significativa (Lebovitz H. E., 2007). Las sulfonilureas compensan la deficiencia de las células  $\beta$  pancreáticas al estimular la secreción de insulina.

El mecanismo de acción de las SU es estimular la secreción de insulina por las células  $\beta$  mínimamente funcionales. Su acción está mediada por la unión al receptor de las sulfonilureas (SUR1), una subunidad del  $K_{ATP}$  situado en la membrana plasmática de las células  $\beta$ . Esta interacción origina el cierre de dichos canales, lo cual reduce la salida de potasio y ocasiona la despolarización de la membrana provocando la apertura de los canales de  $Ca^{+}$  dependientes de voltaje con el consecuente aumento de  $Ca^{+}$  intracelular lo que, finalmente, provocará la fusión de los gránulos transportadores de insulina con la membrana celular, estimulando la secreción de la insulina (Cheng & Fantus, 2005; Del Olmo González, Carrillo Pérez, & Aguilera Gumpert, 2008; González-Sánchez & Ortiz-Andrade, 2012).





## **Glibenclamida**

Las sulfonilureas más empleadas son la glibenclamida, la gliclazida y la glimepirida. La glibenclamida es una SU de segunda generación, presentando un riesgo de hipoglucemias e hiperinsulinemias (GGPC, 2008). Además, ejerce un efecto hipoglucemiante agudo. Adicionalmente, tiene actividad hipoglucemiante crónica debido a la potenciación de la acción de esta hormona, a través de un aumento en el número de receptores. Por sus características es empleada habitualmente para estudios comparativos (Amaya A., 2007).



## Modelos animales experimentales para DM2

Para el estudio de la DM2, existen diversos tipos de **modelos experimentales** que simulan los síntomas clínicos de la enfermedad, lo que permite la observación y análisis de diferentes factores. Los diversos modelos experimentales que se utilizan para el estudio de la diabetes van desde: nivel subcelular, líneas celulares, órganos aislados de animales y animales íntegros con diabetes inducida por diferentes métodos. Los **modelos animales de DM2** se pueden clasificar según su mecanismo de producción en: **espontáneos** (animales propensos a la enfermedad en condiciones que favorecen el desarrollo de la misma) e **inducidos** (Fernández Saavedra, Jardón Delgado, & Figueroa-Hernández, 2005; Méndez & Ramos, 2010).

Los modelos animales se han utilizado ampliamente para investigar factores como: la actividad hipoglucémica, el modo de acción y los efectos secundarios de las plantas y de sus principios activos *in vivo*. La gran diversidad de modelos animales es debida a la heterogeneidad de las condiciones de la diabetes en el hombre. Por ello, ningún modelo animal individual es totalmente representativo de un tipo particular de enfermedad en el humano. De igual modo, el efecto hipoglucemiante que muestran algunos agentes no son necesariamente eficaces en el hombre y viceversa. Por lo tanto, cada modelo muestra diferentes características que se observan en los estados diabéticos humanos (Day & Bailey, 2006; Eddouks, Chattopadhyay, & Zeggwagh, 2012).

Los **modelos experimentalmente** más empleados actualmente son los inducidos por: fármacos, hormonas, modificación en la dieta y métodos quirúrgicos. Los modelos inducidos por fármacos presentan como principal ventaja, que el grado de alteración de las células  $\beta$  puede ser regulado por la dosis administrada (Arias-Díaz & Balibrea, 2007).

El modelo que se empleó en este estudio fue: la administración de estreptozotocina (**STZ**) y nicotinamida (**NA**) (modelo STZ-NA). La STZ produce la destrucción progresiva de las células  $\beta$  en la rata, lo que produce insulínismo pancreático; en cambio, la nicotinamida



protege parcialmente las células  $\beta$  del efecto citotóxico de la STZ y genera el desarrollo de un síndrome similar al de la DM2 (Masiello *et al.*, 1998).

El modelo se caracteriza por la destrucción parcial de las células  $\beta$ , que conduce a una disminución de insulina y un aumento de glucosa en la sangre de la rata, lo que a su vez genera hiperglucemia moderada, que no requiere insulina exógena. El modelo STZ-NA es adecuado para estudios crónicos, ya que permanece estable durante meses, y permite el estudio de compuestos naturales y nuevos medicamentos de carácter hipoglucemiante; además, conserva la respuesta secretora de insulina ante sulfonilureas como la glibenclamida, lo que facilita el estudio comparativo (Amaya-Chávez, 2007; Skudelski, 2012).

## **Etnofarmacología**

El término etnofarmacología se publica por primera vez en 1967 en el libro “*Ethnopharmacologic Search for Psychoactive Drugs*” (Efron, D. y Cols). Más adelante, en 1982, Bruhn y Holmstedt la definen como: “la exploración científica interdisciplinaria de los agentes biológicamente activos empleados y observados tradicionalmente por el hombre”. Dicha definición no integraba ni retomaba las formas de preparación de los remedios tradicionales ni la exploración de la medicina tradicional. En 1983, los mismos autores redefinen etnofarmacología como: “la observación, identificación, descripción e investigación experimental de los ingredientes y de los efectos de drogas indígenas, siendo un verdadero campo de investigación interdisciplinario” (Holmstedt & Bruhn, 1983).

La investigación etnofarmacológica es interdisciplinaria (Etkin y Elisabetsky, 2005; Phillipson, J.D, 2007), ya que abarca diversos campos, tales como: la antropología, etnografía, etnobotánica, taxonomía, fitoquímica y farmacología (Gertsch, 2009). En ese sentido, ofrece estudios integrados que resultan en el uso de fármacos derivados del conocimiento tradicional.

Hoy en día, muchas clases farmacológicas incluyen derivados de productos naturales, tales como: la aspirina, colchicina, quinina. Son algunos los ejemplos de lo que las plantas medicinales nos han dado en el pasado. La mayoría de los fármacos derivados de plantas



medicinales fueron descubiertos originalmente a través del estudio de las curas tradicionales y muchos de ellos no podrían sustituirse químicamente (Heinrich & Gibbons, 2001).

Según datos de la WHO, el uso, desarrollo e interés por la medicina tradicional (principalmente, por los remedios herbolarios), ha aumentado considerablemente, tanto en países desarrollados, como en países en desarrollo. Se ha producido un creciente mercado nacional e internacional de hierbas medicinales y se estima que del 70 al 80% de la población, ha recurrido a ellos (Correa, 2002).

Debido a que el uso de la medicina tradicional va en aumento, surge una creciente necesidad de evaluar los sistemas de forma integral e interdisciplinaria, son principalmente a base de plantas (Phillipson, 2001; 2007). Dicho objetivo sólo se puede lograr a través de un estudio etnofarmacológico correctamente desarrollado, con el apoyo de las diversas disciplinas que lo integran.

Muchos compuestos químicos de las plantas con bioactividad secundaria (metabolitos secundarios), han evolucionado como antiherbívoros o antimicrobianos y, subsecuentemente, han sido adaptados por su actividad fisiológica en el organismo humano, a través de la medicina tradicional (Arnason, 1995). Los metabolitos secundarios representan una fuente importante de productos farmacéuticos activos, ya sea en forma de moléculas de productos naturales, o como modificaciones sintéticas (Phillipson, 2001; 2007).



## Familia Bromeliaceae

La familia Bromeliaceae comprende: 3 subfamilias, 51 géneros y cerca de 1500 especies, entre terrestres y xerófitas; tales como: la piñuela (*Bromelia karatas* L.) o Dickia y otras autótrofas desprovistas de raíz. Basado en sus hábitos de crecimiento y otras características, las bromeliáceas se dividen en las subfamilias Pitcairnioideae, Tillandsioideae y Bromelioideae.

El género *Bromelia*, a la cual pertenece la piñuela, comprende 50 especies, algunas rizomatosas, nativas de Centro y Sudamérica y de las Antillas, Centro América y Norte de Sudamérica. La Flora Mesoamericana indica que el género *Bromelia* L. se distribuye desde México hasta Argentina y en Las Antillas (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).

### *Bromelia karatas* L.

**Tabla 11.**

**Clasificación taxonómica de *Bromelia karatas* L.**

Reino	<b>Plantae</b>
División	<b>Magnoliophyta</b>
Clase	<b>Liliopsida</b>
Orden	<b>Bromeliales</b>
Familia	<b>Bromeliaceae</b>
Género	<b><i>Bromelia</i></b>
Especie	<b><i>Bromelia karatas</i> L.</b>

(CONABIO, 2015)



## **Sinónimias**

*Bromelia acanga* L.

*Bromelia acaulis* Stokes

*Bromelia caratas* Hill

*Bromelia nudicaulis* var. *caraguata* Lam.

*Bromelia plumieri* (E.Morren) L.B.Sm.

*Karatas lagopus* E.Morren ex Devans.

*Karatas plumieri* E.Morren

*Nidularium karatas* (L.) Lem. Ex Griseb.

(CONABIO, 2015)

**Tabla 12. Nombres comunes de *Bromelia karatas* L.**

<b>Piñuela *</b>	<b>Español</b>
<b>Aguama **</b>	<b>Español</b>
<b>chak ch'om</b>	<b>Maya</b>
<b>Cardo</b>	<b>Español</b>
<b>Piña</b>	<b>Español</b>
Aguama cazuela	Español
Aguava	No descrito
Bichicol	No descrito
Bóthuch	Huasteco
Bromelia	Español
Cabeza negra	Español
Cazuela	Español
Ch'am	Maya
Chac ch'om	Maya
Chak ch'am	No descrito
Chom	Maya
Ch'om	Maya
Chóm	Maya
Chuqui	No descrito
Guámara	Cora
Guapilla	No descrito
Guapillo	No descrito
Huapilla	No descrito
Jocoitze	No descrito
Jocuiste	No descrito
Jocuixtle	No descrito
Monkey banana	Ingles
Pingwing	Ingles
Piña de castilla	Español
Piña de iguana	Español
Piña fina	Español
Piñuela pechona	Español
Platanillo silvestre	Español
Socoiztle	No descrito
Socuiztle	No descrito
Tasuchi	No descrito
Timbiriche	No descrito
Tumbiriche	No descrito
Tzicuitz	Zoque
Wild pine	Ingles

(Montes2014; Moyano, 2012)\* (Naralista, 2016)\*\* (CONABIO, 2015) (Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales, 2010) (CONABIO, 2015) (Orellana, Guerra, & Dávila, Sondeo agrosocioeconomico y recolección de cultivares de muta (*Bromelia* sp.) en el oriente de Guatemala, 2012) (The University of the West Indies, 2007)



## Descripción morfológica

*B. karatas* es una planta terrestre, carente de tallo aparente (acaule) y posee forma de roseta. En cada una de sus partes presenta tomento suave de color café. Se caracteriza por florecer, fructificar y morir, dejando un hijuelo (Figuras 4 y 5).



Figuras 4 y 5. *B. karatas*. (CONABIO, 2015)

La **raíz** es escasa, crece poco, es delgada y fibrosa. Se origina de cualquier lado de la cazuela, es decir homorricia (Figura 6) (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).



Figura 6. Raíz homorricia de *B. karatas*. (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)





El **tallo** de la planta es poco aparente, obsoleto e indefinido (inconspicuo). Presenta un pseudotallo ya que no se distingue. Durante la floración solo se observa la prolongación de este (Figura 7) (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).

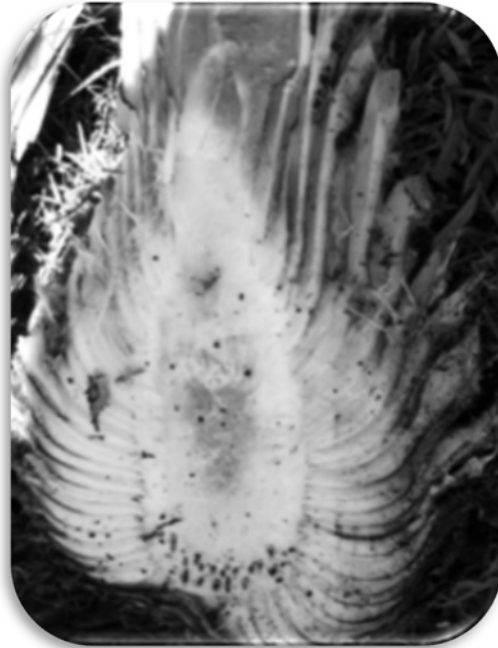


Figura 7. Corte longitudinal de tallo inconspicuo de *B. karatas* (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)

La **hojas** de *B. karatas* son lanceoladas (en forma de lanza) y alargadas (12 cm y 15 cm y de grosor 2.8 mm); **escapo** ausente o muy corto, completamente cubierto por las vainas foliares, de color verde brillante por el haz y verde grisáceo por el envés; un poco cóncavas hacia el haz; densamente ferrugíneo tomentosas hacia la base por el envés con coloración blanca; en los márgenes presenta numerosas espinas de color café oscuro, agudas, pungentes, erectas y curvas en el ápice, de 7,9 mm de largo, separadas por 3 a 6,4 cm. El número de hojas por planta varía de entre 13 y 30 dependiendo de la etapa de crecimiento y desarrollo. El sentido de las espinas en la hoja puede cambiar en los últimos 30 cm desde el ápice de la hoja (Figura 8 y 9) (Espejo-Serna & López-Ferrari, 2010; Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).



Figura 8. Hojas alargadas y lanceoladas de *B. karatas*. (CONABIO, 2015)

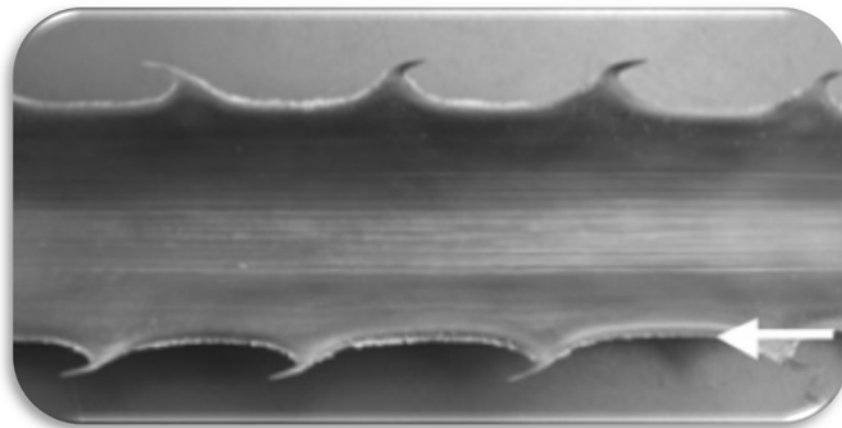


Figura 9. Cambio de dirección de las espinas en la hoja de *B. karatas* (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)



**Inflorescencia.** Sésil, en forma de nido como una cabezuela sentada en el centro de la roseta foliar con muchas flores dispuestas en un denso capitulo, aplanada en el ápice, de 15 a 35 cm de diámetro y rodeada por las hojas internas de color rojo brillante y verde pálido, la inflorescencia terminal, erecta, compuesta, nidular, de 11 a 15 cm de largo, 10 a 15 cm de diámetro, con varias espigas, con escapo corto o ausente (Figura 10) (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).



Figura 10. Inflorescencia de *B. karatas* (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)



Figura 11. Corte transversal de inflorescencia de *Bromelia karatas* L. (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)



**Flores.** Erectas, de 6.2 a 10.6 cm de longitud, sobre pedicelos robustos muy cortos de 13.1 a 19.5 mm de largo, densamente ferrugíneo tomentosas.

**Sépalos.** Cuenta con tres gamosépalos lanceolados, agudos pero no mucronados, carnosos, connados en la base, densamente ferrugíneo tomentosos externamente parte abisal, de color verde (Figura 12).

**Pétalos.** Presenta tres gamopétalos de color lila con la base y el margen blanco, connados en la base, redondeados en el ápice, estrechamente lanceolados, glabros y carnosos.

**Estambres.** Denominados epicoralinos, son más cortos que los pétalos, los filamentos se encuentran pegados a los pétalos en la base, dos por cada pétalo.

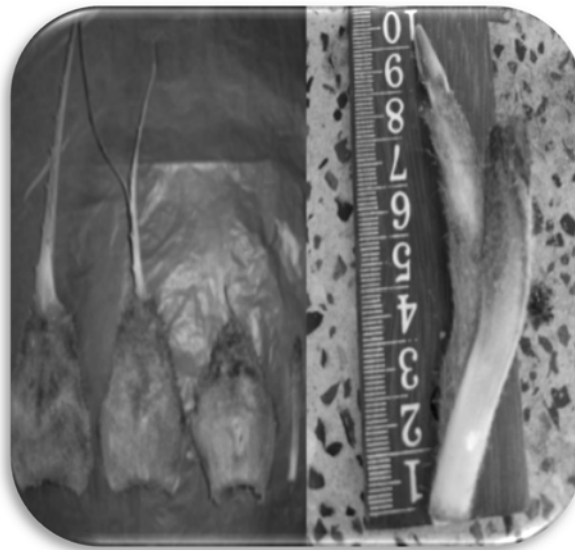


Figura 12. Estructura de la inflorescencia de *B. karatas* (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)

**Fruto.** Es una baya agridulce y jugosa de cáscara hebrosa de color blanco amarillento o café oscuro, dependiendo del morfotipo; completamente ferrugíneo tomentoso, fusiforme, estrecho hacia la parte basal y apical, pero más redondo en su parte central, pulpa de color blanco dividida en tres lóculos (Figuras 13 y 14) (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014).

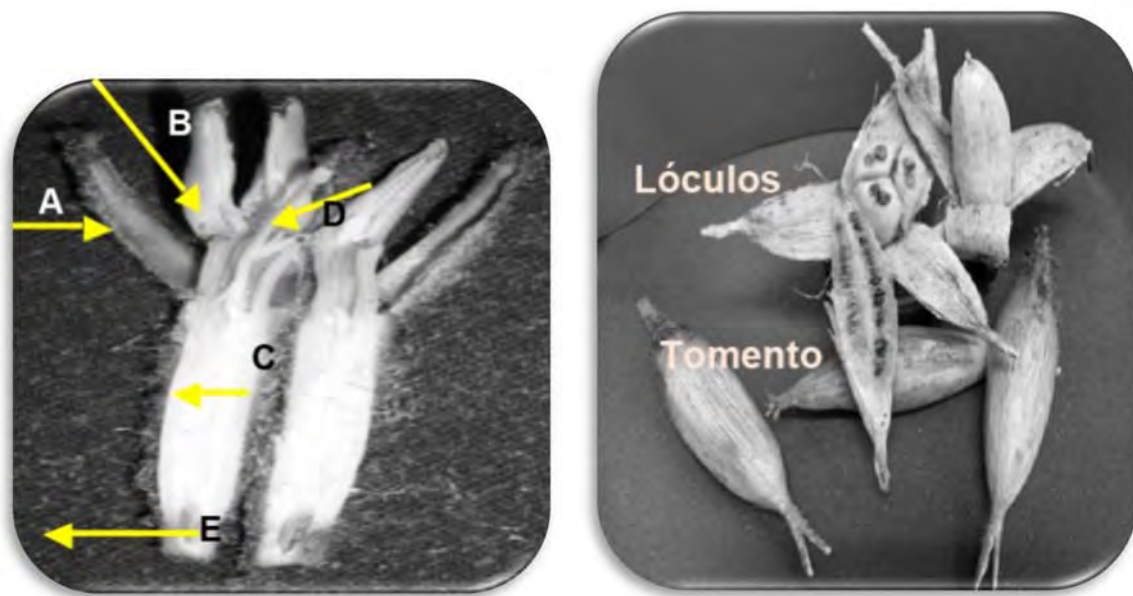


Figura 13 y 14. Frutos de fusiformes de *Bromelia karatas* L. (Montes, Terán, Zuñiga, & Caldón, 2014)

### Importancia ecológica

*B. karatas* es una especie terrestre con un valor alto de importancia ecológica entre las plantas terrestres perennes de algunas selvas bajas caducifolias del norte de la Península de Yucatán, principalmente por su abundancia y cobertura (González-Salvatierra, Luis Andrade, Orellana, Peña-Rodríguez, & Reyes García, 2013).



## Distribución de *B. karatas*

La **distribución de *B. karatas*** en América, abarca desde México hasta Ecuador y Brasil. En México, abarca principalmente la zona tropical, en altitudes que van desde los 50 a los 1500 msnm (Orellana, Guerra, & Dávila, 2012; CONABIO, 2015). La distribución a nivel mundial se ilustra en la Figura 15.



Figura 15. Distribución de *B. karatas* en América (CONABIO, 2015)

La distribución reportada en la literatura, específicamente en la República Mexicana, abarca los siguientes estados: Campeche, Chiapas, Ciudad de México (antes Distrito Federal), Guerrero, Jalisco, Michoacán de Ocampo, Nayarit, Oaxaca, Querétaro de Arteaga, San Luis Potosí, Sinaloa, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz de Ignacio de la Llave y Yucatán (Figura 16) (CONABIO, 2015).



Figura 16. Distribución de *B. karatas* en la República Mexicana (CONABIO, 2015)



## **Antecedentes de *B. karatas***

### **Etnobotánicos**

Hornung-Leoni y Morton categorizan entre los usos de *B. karatas* el medicinal. Entre las formas de uso medicinal descritos en la literatura se encuentran: el jugo del fruto fresco para tratar el escorbuto y la diabetes; el fruto hervido es utilizado como diurético; las semillas trituradas hervidas con azúcar son empleadas para expulsar parásitos internos; mientras que el jugo de las hojas es empleado como febrífugo y vermífugo (Hornung-Leoni, 2011; Morton, 1981 en Flora of Kaxil Kiuic, 2010). En Hidalgo, específicamente en la región de Huasteca, se emplean las hojas de *B. karatas* (“timbiriche”) para la preparación de un té contra la inflamación (Villavicencio y Pérez, 2005 en Hornung-Leoni, 2011).

### **Tratamiento para la diabetes**

Moyano plantea que, derivado de que la *B. karatas* L. es una monocotiledónea con amplia variedad y diversidad de metabolitos antioxidantes, del género podría derivar actividad antidiabética (Duke J., 2009 en Moyano D. *et al*, 2012). Por otro lado, Díaz en 1976 reporta la utilización de esta especie para tratar la enfermedad. Por su parte, Morton reporta su utilización del jugo de la fruta de esta planta para tratar la diabetes (Morton, 1981 en Flora of Kaxil Kiuic, 2010).

Específicamente, para el tratamiento de la **DM2**, Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013), reportaron el uso de esta especie para este fin, la cual crece en San Simón, Hidalgo y que es empleada por los habitantes de Tlanchinol, de ese mismo estado. Adicionalmente, los autores confirmaron que para el tratamiento, son empleados aproximadamente 30 gramos de las hojas secas de la planta, las cuales se hierven en un litro de agua, para ser ingeridos a lo largo del día como agua de uso (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013).



## Fitoquímicos

La composición fitoquímica de la planta fue reportada por Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013); donde confirman, por medio de cromatografía en capa fina, que los principales compuestos encontrados en las hojas de la planta fueron flavonoides glucosilados, presentes en los diferentes extractos de hoja de la especie: seis en el extracto etanol-agua (**WE**) cuatro en el extracto acuoso (**EWE**) y siete en el extracto butanólico (**BE**). Asimismo, reportaron la presencia de terpenos en todos los extractos de hoja que probaron: dos en cada uno de los extractos anteriores y cuatro detectados en el extracto hexánico (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013).

Williams (1978) realizó un estudio para detectar la distribución de flavonoides en las hojas de las diversas especies de la familia Bromeliaceae, en el cual reportó que estos compuestos no estaban presentes en las hojas de *Bromelia karatas* L. Mientras que los resultados reportados por Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013), indican que no se detectaron alcaloides en ninguno de los extractos que habían probado (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013).

En estudios fitoquímicos anteriores a los realizados para detectar los compuestos en las hojas, enfocados en detectar la composición y caracterización de algunos glucoconjugados de la pulpa del fruto de *B. karatas*, se identificaron 38 volátiles al igual que cuatro compuestos glucosídicos como: 1-O- $\beta$ -D-glucopiranosil antranilato, y 3,4-dimetoxifenil  $\beta$ -D-glucopiranosil (Parada *et al.*, 1996; Parada & Duque, 1998)

*B. karatas* presenta un aumento del contenido foliar de compuestos con actividad antioxidante, así como un mayor contenido de pigmentos (carotenoides) especialmente durante la temporada de sequía (González-Salvatierra, Luis Andrade, Orellana, Peña-Rodríguez, & Reyes García, 2013). La naturaleza polar de los metabolitos responsables de la actividad antioxidante detectada en los extractos de la planta sugieren que esta actividad se debe a la presencia de productos fenólicos, incluyendo flavonoides y antocianinas (González-Salvatierra, Andrade, Escalante-Erosa, García-Sosa, & Peña-Rodríguez, 2010).





## **Toxicológicos**

En un estudio acerca de la toxicidad que provocan las plantas de la flora yucatanense en el humano, se enlistan los frutos de *Bromelia karatas* L. (“*Chak ch’am*”) como causantes de escozor e inflamación en los labios (Flores, Canto-Aviles, & Flores-Serrano, 2001).

## **Farmacológicos**

En 2013, tras probar el efecto hipoglucemiante de la administración aguda por vía oral del extracto acuoso de *B. karatas* a dosis 350 mg/kg y dosis 35 mg/kg, Andrade-Cetto y Medina-Hernández (2013), se comprobó este efecto significativo y se encontró que este guarda relación con la dosis administrada. Asimismo, confirmaron el efecto del extracto etanol-agua, sin encontrar relación con la dosis administrada (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013).



## Justificación

El interés de la población mexicana por el uso de las plantas medicinales (PM) para el tratamiento de la DM2 se ha incrementado por diversos factores, entre los cuales se encuentran: la alta diversidad y disponibilidad florística medicinal mexicana con potencial terapéutico (entre 3,000 y 5,000 especies); la creencia de que no provocan efectos secundarios; la idea de que son más seguras y menos costosas que los tratamientos basados en síntesis química; la arraigada tradición que México tiene desde la época prehispánica (conservada actualmente en diversas regiones geográficas) en el empleo de plantas para mejorar la salud al tratar diversos padecimientos; y al progresivo incremento de la prevalencia de DM2 en la población mexicana. Estos factores han derivado en la incorporación de especies vegetales para este propósito. Por ejemplo, en 2005, se reportó el uso de al menos 306 especies vegetales para tratar la DM2 y para 2013, se reportaron por lo menos 383 especies de plantas empleadas para ese fin. Este incremento motiva al estudio etnofarmacológico de las plantas con posible efecto hipoglucemiante, cuyo objetivo principal es el de aportar evidencia del efecto de las plantas en el proceso de la enfermedad (Lozoya, 1994; Huerta, 1997; Hernández Alonso, Martínez Cruz, Domínguez Domínguez, & Hernández Cubilla, 2007; Esquivel-Gutiérrez, Noriega-Cisneros, Saavedra-Molina, & Salgado-Garciglia, 2013; Andrade-Cetto & Heinrich, 2005; Mata, Cristians, Escandón-Rivera, Juárez-Reyes, & Rivero-Cruz, 2013).

El estudio detallado de las plantas con posible efecto hipoglucemiante ha resultado en el aislamiento de compuestos activos con mecanismo de acción conocido, como la metformina, sintetizada a partir de la estructura de la galegina (componente de la *Galega officinalis* L.). Las PM o sus extractos pueden optimizar el metabolismo de la glucosa y la condición integral de las personas que padecen la enfermedad; sin embargo, para el desarrollo de un fármaco, es indispensable la identificación del metabolito secundario así como su posible mecanismo de acción. La actividad biológica de las plantas está relacionada con su composición química y ésta contiene más de un compuesto orgánico, asociada a más de un mecanismo de acción. Además, el efecto hipoglucemiante observado empíricamente en la MT, puede estar dado por la interacción sinérgica o aditiva del o los compuestos de la planta, por lo que es necesario tomar en cuenta dichos factores durante su estudio (Soumyanath, 2006; Esquivel-Gutierrez,



2013). Esta perspectiva hace patente la importancia de los estudios etnofarmacológicos, debido al amplio potencial de las PM para el desarrollo de tratamientos que eviten las complicaciones de la DM2.

En México, el estudio de las plantas medicinales se encuentra en una fase de crecimiento y desarrollo, teniendo un avance progresivo en la producción de trabajos de investigación (Camou Guerrero, Reyes-García, Martínez-Ramos &, & Casas, 2008). Sin embargo, solo el 1% de las PM han sido estudiadas a fondo. Además, la mayoría de los estudios realizados con plantas con potencial hipoglucemiante han sido a nivel experimental: el 90% de éstos han sido enfocados al estudio de los efectos agudos; el 10% de las plantas estudiadas tienen estudios clínicos y toxicológicos pero en menos del 10% de las plantas estudiadas se han realizado estudios crónicos o a mediano plazo (Alarcón-Aguilar, Hernández Galicia, & Román-Ramos, 2008). Por ello, el presente proyecto busca contribuir al entendimiento de las PM con un estudio crónico, el cual permitirá determinar los efectos de *B. karatas* a largo plazo.

En 2013, tras un estudio de campo en el que se reportó el uso tradicional de *B. karatas* para tratar la diabetes mellitus tipo 2 en el municipio de Tlanchinol, Hidalgo, fue confirmado el efecto hipoglucemiante de la planta con un estudio agudo administrado a ratas STZ-NA. Los autores también reportaron que el tratamiento con mejor efecto hipoglucemiante fue el extracto acuoso de *B. karatas* a dosis de 350 mg/kg (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013). Con base en estos resultados reportados y con la intención de ampliar el conocimiento de los efectos del extracto acuoso de *B. karatas* a largo plazo, se plantea el presente trabajo, el cual se centra en el estudio **crónico** del efecto hipoglucemiante de las hojas de la planta en ratas STZ-NA.

Se espera que la información generada a partir del presente trabajo, aporte antecedentes útiles para futuros estudios, por ejemplo: ayudar a establecer un conocimiento más completo de los compuestos de *B. karatas*, facilitar la comprensión de los mecanismos de acción de estos compuestos, brindar mayor información acerca de los efectos que produce la planta y finalmente, ayude al entendimiento fundamental de los aspectos farmacológicos de ésta.



## Objetivos

### General

Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *B. karatas* administrado de forma crónica en ratas STZ-NA.

### Particulares

- Elaborar el extracto acuoso de *B. karatas* L., calcular el DER (Drug extract ratio) y calcular la dosis del extracto.
- Inducir un modelo experimental ajustado, que produzca hiperglucemia moderada estable a largo plazo, con respuesta secretora de insulina ante sulfonilureas, a partir del modelo STZ-NA en ratas Wistar propuesto por Masiello en 1998.
- Determinar el efecto, a largo plazo, del extracto acuoso de las hojas de *B. karatas* en ratas STZ-NA sobre los niveles séricos de glucosa.
- Determinar los niveles séricos de HbA<sub>1c</sub> (%) en ratas hiperglucémicas para observar el efecto que la administración crónica del extracto acuoso de *B. karatas* tiene sobre estos porcentajes.
- Determinar los niveles séricos de triglicéridos, colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y colesterol total (cT) para analizar el efecto que el extracto acuoso de *B. karatas*, administrado de forma crónica a ratas hiperglucémicas STZ-NA, tiene sobre estos niveles.
- Contribuir al entendimiento etnofarmacológico de *Bromelia karatas* L.



## Hipótesis

1. La inducción del modelo experimental empleado, elevará los niveles de glucosa en sangre significativamente, de forma moderada y se mantendrá estable a lo largo del experimento crónico.
2. Las células  $\beta$  pancreáticas tendrán una respuesta secretora de insulina ante la administración de glibenclamida, disminuyendo significativamente la glucemia en ratas STZ-NA de la cepa Wistar a lo largo de 42 días respecto al grupo control con hiperglucemia.
3. La administración crónica (vía oral), durante un periodo de 42 días, del extracto acuoso de las hojas de *B. karatas* tendrá un efecto hipoglucemiante significativo sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada inducida.
4. El extracto acuoso de las hojas de *B. karatas* administrado de forma crónica, a lo largo de 42 días, ejercerá una disminución significativa sobre los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> plasmática en ratas STZ-NA.
5. Los niveles séricos de triglicéridos y el colesterol total presentarán una elevación posterior a la inducción de hiperglucemia en ratas STZ-NA.
6. La administración crónica del extracto acuoso de *Bromelia karatas* L., durante un periodo de 42 días, disminuirá los niveles séricos de triglicéridos y de colesterol total en ratas STZ-NA.
7. Los niveles séricos de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (**cHDL**) disminuirán tras la inducción de hiperglucemia en ratas STZ-NA.
8. El extracto acuoso de las hojas de *B. karatas*, administrado vía oral a lo largo de 42 días aumentará los niveles séricos de cHDL en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada.



## **Materiales y métodos**

### **Colecta de *B. karatas***

El material vegetal de *B. karatas* se colectó el 26 de octubre de 2011 en el estado de Hidalgo. Se colectaron principalmente las hojas de la planta por el Dr. Adolfo Andrade Cetto con la ayuda de su equipo de trabajo de la Facultad de Ciencias de la UNAM, de la informante Isabel Escalante, del informante “Profe Chabelo”, de los curanderos y de los habitantes de la zona. A la colecta se le asignó el número 219.

La identificación taxonómica de la planta fue llevada a cabo por el M. en C. Ramiro Cruz Durán. El ejemplar herborizado (deshidratado, prensado, montado e identificado) se depositó en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) bajo el número de registro IMSSM 15814.

### **Acondicionamiento del material botánico**

El material vegetal se fragmentó y deshidrató bajo condiciones controladas de temperatura, alrededor de 40 °C, que permitieron conservar las propiedades de las hojas de *B. karatas*. El secado se llevó a cabo en la cámara de secado del Laboratorio de Ambientes Controlados de la Facultad de Ciencias, UNAM.

Una vez que las hojas se deshidrataron por completo, se molieron en un molino IKA<sup>®</sup> MF 10 basic, para aumentar la superficie de contacto con el solvente (agua) y así favorecer la extracción (Gaedcke F, 2003).



## Obtención del extracto acuoso

El extracto acuoso de hojas de *B.karatas* molidas y deshidratadas se realizó por la técnica de extracción discontinua con solvente (H<sub>2</sub>O), con la finalidad de solubilizar y concentrar los principios activos contenidos en la planta (Osorio, 2009). Para ello se pesaron 20 g de hoja seca de *B. karatas*, posteriormente se agregaron a 500 ml de agua destilada a una temperatura cercana y por debajo al punto de ebullición en el agitador magnético con calefacción (IKA<sup>®</sup>C-MAG HS7), se mantuvo en agitación durante quince minutos más, para que la difusión de los principios activos se produjera en todas las direcciones del solvente.

La infusión se filtró con ayuda de vacío, montando un dispositivo conformado por un matraz Kitasato y un filtro Buchner en el cual se colocó papel filtro (Whatman<sup>®</sup>) y tierra diatomacea (J.T. Baker<sup>®</sup>) humedecida con agua destilada. Una vez montado el dispositivo se vertió la infusión mientras se ejerció succión por el orificio del matraz con ayuda de una bomba de vacío.

El filtrado resultante (fracción líquida) se congeló a -40 °C en un ultracongelador (REVCO); una vez que el filtrado se congeló por completo, se colocó en el liofilizador (LABCONCO<sup>®</sup>) para eliminar el solvente mediante una sublimación.



## Cálculo del DER (*Drug extract ratio*)

Una vez que se obtuvo el extracto acuoso de hoja de *B. karatas* se pesó y se llevó a cabo el cálculo del DER, para la caracterización de la preparación herbal, lo que permite que la calidad de los diferentes extractos secos de una planta se pueda comparar en cuanto al enriquecimiento de los ingredientes.

El DER o DEV (Droge Extrakt Verhältnis) por sus siglas en alemán, determina la relación entre la cantidad de material inicial utilizado para la preparación del extracto (droga herbal o sustancia herbal) y la cantidad de la preparación obtenida a base de hierbas (preparación herbal o extracto) (EMEA, 2009). La cantidad y composición tanto del extracto como del DER están influenciados principalmente por los siguientes parámetros: sustancia herbal inicial, solvente, procedimiento y aparatos utilizados durante la extracción (Vlietinck A, 2009).

$$\text{DER} = \frac{\text{Sustancia herbal (g)}}{\text{Extracto (g)}} = x:1$$

Donde, **sustancia herbal** es el total en gramos del material seco que se empleará en la preparación del extracto y donde **extracto** es el total en gramos del material que se obtendrá.





## **Cálculo de la dosis de extracto acuoso de *B. karatas***

El cálculo de la Dosis Diaria tradicional de Extracto Acuoso de hojas secas de *Bromelia karatas* L. por cada kilogramo de peso (DDEA) se realizó con base en la porción promedio aproximada (20g) que se ocuparía para la preparación de una infusión tradicional diaria, aproximadamente para una persona de 70 kilogramos de peso.

$$\text{DDEA} = \frac{\text{extracto (g)}}{70 \text{ (kg)}}$$

Andrade-Cetto y Medina-Hernández, en 2013, reportaron que el tratamiento con extracto acuoso de *B. karatas* que produjo el mayor efecto hipoglucemiante, fue el de la dosis diaria tradicional multiplicado por diez, por lo que se decidió emplear esta dosis en el presente trabajo.

## **Animales experimentales**

Se emplearon ratas de la cepa Wistar (*Rattus norvegicus*) de dos meses de edad, con un peso aproximado entre 200 g a 250 g de peso. Se incluyeron hembras y machos en la misma proporción.

Las ratas fueron adquiridas en el Bioterio del Instituto de Fisiología Celular, U.N.A.M., y aclimatadas durante un periodo de una semana antes del ensayo. Fueron mantenidas en el Bioterio de la Facultad de Ciencias, U.N.A.M., bajo condiciones controladas de temperatura (25 °C), con una humedad relativa del 50%, bajo un fotoperiodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad (12:12), alimentadas acorde a sus requerimientos nutricionales, con acceso *ad libitum* al agua potable y al alimento (pellets de alimento comercial Harlan Laboratories Inc. 18% de proteína). Los animales se mantuvieron bajo las especificaciones técnicas de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 para el cuidado y uso de los animales de laboratorio.



## Inducción química de hiperglucemia moderada (Modelo experimental STZ-NA)

La hiperglucemia moderada inducida se obtuvo mediante el siguiente procedimiento: a las ratas Wistar de dos semanas de edad con un peso de entre 200 g y 250 g se les procuró un ayuno de doce horas; posteriormente, se administró NA (SIGMA N3376), a una dosis ajustada de **150 mg/kg**, disuelta en 2 mL/kg de solución fisiológica al 0.9% vía intraperitoneal (**i.p.**); quince minutos después se administró vía intravenosa (**i.v.**; en vena caudal), una dosis de **65 mg/kg** de STZ (SIGMA S0130) disuelta en 1 mL/kg de solución buffer de acetatos a un pH de 4.5. Setenta y dos horas posteriores a la inducción, se midieron los niveles séricos de glucosa con el fin de seleccionar a las ratas cuyos niveles resultaron  $\geq 170$  mg/dL.

### Diseño experimental

Se efectuó un estudio crónico de 42 días de duración. A lo largo de ese periodo, se realizó la administración del tratamiento correspondiente a cada grupo dos veces al día (8 a.m. y 4 p.m.). La ingesta de las dosis exactas se aseguró pesando cada dosis y con la utilización de una cánula esofágica en cada administración.

Se emplearon tanto animales normoglucémicos como hiperglucémicos, los cuales se incluyeron en cuatro grupos con los siguientes tratamientos (Tabla 13).

**Tabla 13.**  
**Descripción de los grupos.**

<i>Grupos</i>		<i>Tratamiento</i>
1	(CNg) n=5	Control Normoglucémico 1.5 mL de solución fisiológica
2	(CHg) n=5	Control Hiperglucémico 1.5 mL de solución fisiológica
3	(CHg+G) n=5	Control Hipergluémico + Glibenclamida 5 mg/kg de glibenclamida en 1.5 mL de solución fisiológica
4	(EHg+Bk) n=5	Experimental Hiperglucémico + extracto acuoso de <i>Bromelia karatas</i> L. 218 mg/kg de extracto acuoso de <i>B. karatas</i> en 1.5 mL de solución fisiológica



## Dosis

### Glibenclamida

La determinación de la dosis de GLI se estableció bajo el criterio de los siguientes antecedentes. En un ensayo reportado en 2007, realizado por Amaya y colaboradores, se determinó que la dosis efectiva de GLI que produce el efecto hipoglucemiante en el modelo STZ-NA en el ensayo agudo, es de 2.5 y 20 mg/kg y que la dosis empleada para el ensayo subagudo, es de 20 mg/kg (Amaya A., 2007). Por otra parte, las dosis empleadas de GLI en estudios crónicos que se han reportado en la literatura científica son: 1, 3, 5, 10 y 50 mg/kg (Nain, Saini, Sharma, & Nain, 2012; Adeneye, 2012; Andrade-Cetto *et al.*, 2008). Asimismo, en el estudio agudo, para probar el efecto hipoglucemiante de *Bromelia karatas*, se utilizó la dosis de 5 mg/kg (Andrade-Cetto & Medina-Hernández, 2013). Finalmente, con base en los resultados obtenidos en ensayos previos realizados en el Laboratorio de Etnofarmacología de la Facultad de Ciencias, por el Dr. Adolfo Andrade-Cetto y colaboradores, se confirmó que la dosis de 5 mg/kg de glibenclamida era la adecuada para el presente estudio crónico.

### Extracto acuoso de *Bromelia karatas* L.

La Dosis Diaria tradicional de Extracto Acuoso de hojas secas de *B. karatas*. por cada kilogramo de peso (DDEA), se calculó mediante la siguiente ecuación:

$$\text{DDEA} = \frac{1.526 \text{ g}}{70} (10) = \mathbf{0.218 \text{ g/Kg}}$$

Donde, **extracto** (g) es el total de material obtenido a partir de la sustancia herbal (20 g) después de pasar por el proceso de extracción acuosa (1.526 g) y **70 Kg**, es el peso promedio de una persona que ingeriría la infusión diariamente.

### Obtención de muestras y determinación de parámetros sanguíneos

#### Determinación cuantitativa de la glucemia en sangre de la vena caudal



La obtención de las muestras sanguíneas necesarias para la determinación de los niveles séricos de glucosa, se realizó vía vena caudal, a través del siguiente procedimiento: se realizó un corte transversal de aproximadamente 1 milímetro en la punta de la cola de la rata con una tijera quirúrgica previamente desinfectada. La toma de muestra se realizó cada 15 días. En la tira reactiva para la determinación de la concentración de glucosa (Acutrend® Glucose), se colocó la segunda gota, la cual se extrajo para asegurar el buen estado de la muestra y con ello una lectura correcta. Posteriormente, se limpió la punta de la cola con antiséptico para evitar infecciones en esta.

El principio de la prueba consiste en la conversión de la medición del cambio cromático a un valor de concentración en mg/dL, que se da por la reacción glucosa-oxidasa/mediador, el método Trinder. Esta reacción se basa en la reacción indicadora de peróxido de hidrógeno que une 4-aminoantipirina a un compuesto fenólico, lo que da lugar a un tinte de quinonimina rojo. La intensidad del color es proporcional a la concentración de la glucosa y se puede medir fotométricamente entre 460 y 560 nm.

### **Determinación para el porcentaje de concentración de HbA<sub>1c</sub>**

El procedimiento para la obtención de las muestras sanguíneas para esta prueba también se realizó vía vena caudal, con la particularidad de la utilización de un soporte capilar que porta un capilar de vidrio donde se colocó 1µl de sangre completa. Una vez colocada la muestra en el capilar, el soporte capilar se introdujo al cartucho de test de reactivo y este se insertó en el analizador DCA™.

El principio químico de la prueba, consiste en la medición de la concentración de A<sub>1c</sub> de forma específica y la concentración de hemoglobina total. La proporción se indica de la siguiente manera:

$$\% \text{ de HbA}_{1c} = \frac{[\text{HbA}_{1c}]}{[\text{Hemoglobina total}]} \times 100$$



## **Determinación cuantitativa de los triglicéridos, colesterol total y colesterol HDL**

Las muestras sanguíneas se obtuvieron vía vena caudal, con el procedimiento descrito previamente. Para la obtención de la lectura de la concentración de cada parámetro, se colocaron 15µl de sangre en una tira reactiva (PTS PANELS™ Triglicéridos, PTS PANELS™ Colesterol o PTS PANELS™ HDL Colesterol), para usar con los sistemas de análisis de la marca CardioChek®.

El principio del análisis, está basado en el método Trinder para la determinación de cada parámetro y la lectura se realiza midiendo la absorbancia del cambio de color en la zona reactiva de la tira y lo convierte en un valor de concentración.

## **Análisis estadístico**

Los datos obtenidos se ordenaron, analizaron y caracterizaron a través de estadística descriptiva. Asimismo, se realizaron pruebas de normalidad (Smirnov-Kolmogorov) y pruebas de homocedasticidad de varianzas (Levene). Se llevaron a cabo pruebas de ANOVA y posteriormente, para contrastar y determinar las diferencias significativas entre los grupos, se aplicó la prueba *post hoc* Dunnett; y para analizar, contrastar y determinar las diferencias significativas entre los tiempos de cada grupo con respecto a su tiempo cero, se utilizó la prueba *post hoc* Bonferroni. Para los análisis, el valor de significancia se estableció en  $p \leq 0.05$ .

La caracterización de los datos y las pruebas subsecuentes se realizaron en el programa IBM SPS Statistics 22. Por último, se realizaron las gráficas en GraphPad Prism 5.



## Resultados

### Obtención del rendimiento del extracto acuoso de *B. karatas*

El cálculo del DER para el extracto acuoso de hojas secas y molidas de *B. karatas* que se determinó al obtener 1.526 gramos de extracto a partir de 20 gramos de sustancia herbal es el siguiente:

$$\text{DER} = \frac{\text{Sustancia herbal (g)}}{\text{Extracto (g)}} = \frac{20 \text{ g}}{1.526 \text{ g}} = \mathbf{13.106 : 1}$$

El resultado del rendimiento (DER), indica que se requieren aproximadamente trece partes de hoja seca y molida de *B. karatas* para la obtención de una parte de extracto acuoso. Dicha proporción demuestra un rendimiento semejante al reportado por Andrade-Cetto y Medina-Hernández en 2013, para el mismo extracto.

### Obtención del porcentaje de rendimiento del extracto acuoso de *B. karatas*

El porcentaje de rendimiento del extracto de la sustancia inicial con respecto al producto final (extracto), fue del 7.8 % obtenido, mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de rendimiento} = \frac{\text{Extracto (g)}}{\text{Sustancia herbal (g)}} \times 100 = \frac{1.526 \text{ g}}{20 \text{ g}} \times 100 = \mathbf{7.8\%}$$



### **Determinación de dosis de glibenclamida y extracto acuoso de *B. karatas***

Se estableció la dosis del fármaco control en 5 mg por kilogramo de peso para el grupo control hiper-glucémico con glibenclamida (CHg+G).

La dosis de extracto acuoso de hoja seca de *B. karatas* se estableció en 218 miligramos por kilogramo de peso para el grupo experimental hiper-glucémico con extracto de *Bromelia karatas* L. (EHg+Bk).

### **Obtención de ratas con hiperglucemia moderada para el estudio crónico**

Se obtuvieron organismos con hiperglucemia moderada, se consideró obtenida después de que a las 72 horas de realizada la inyección. Los niveles de glucosa plasmática se encontraron a una concentración mayor o igual a 170 mg/dL.

Al comparar los niveles de glucosa plasmática inicial ( $T_{inicial}$ ) contra sus niveles séricos de glucosa a las 72 horas post inyección ( $T_0$ ), presentaron diferencia significativa. Asimismo, se observaron diferencias significativas al comparar la media del tiempo cero del control normoglucémico contra las medias de los grupos hiperglucémicos.



## Concentración de glucosa en plasma sanguíneo (mg/dL)

El comportamiento de las medias semanales de los niveles séricos de glucosa en los grupos experimental y controles, a lo largo de 42 días, se muestra en la tabla 14 y en la Gráfica 1. Cada cifra representa el valor medio de cinco muestras ( $n=5$ ),  $\pm$  error estándar de cada valor medio (Media  $\pm$  E.E.).

Se efectuó la comparación de cada grupo con respecto a su tiempo cero (T0), para determinar los cambios significativos de glucemia a lo largo del ensayo crónico. La comparación de las medias de cada grupo contra las medias del grupo CNg, se efectuó para conocer el efecto que la aplicación del modelo experimental STZ-NA tuvo sobre estas, así como para conocer el comportamiento que cada tratamiento tuvo sobre las mismas. Adicionalmente, se realizó la comparación del grupo CHg+G contra el grupo CHg para conocer el efecto que la glibenclamida ejerció sobre los nivel de glucosa en sangre. Igualmente, se realizó la comparación del grupo EHg+Bk contra el CHg, para determinar el efecto que la administración del extracto acuoso de *B. karatas* tuvo sobre los niveles séricos de glucosa. Por último, se llevó a cabo la comparación de las medias del grupo CHg+G contra las glucemias medias el grupo EHg+Bk para determinar si hubo diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos.

Al comparar los valores de glucemia de cada tiempo del grupo CNg contra su tiempo cero (T0), se determinó que no presentan diferencias estadísticamente significativas a lo largo de los 42 días de experimento crónico. También se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon los valores de este grupo con los valores de los grupos CHg, CHg+G y EHg+Bk en el T0, lo que confirma la obtención óptima de hiperglucemia al inicio del ensayo.

Se realizó la comparación de los valores de glucosa en sangre, entre todos los tiempos del grupo CHg y el valor de su tiempo cero, donde se observó que no presentan diferencias significativas durante el ensayo crónico. No se observaron cambios de los valores del grupo CNg ni en los valores del grupo CHg a lo largo del tiempo. Posteriormente, como resultado





de la comparación entre dichos grupos (CNg contra CHg) los valores de glucosa plasmática presentaron diferencias estadísticamente significativas durante los 42 días del experimento.

Por otro lado, los niveles de glucosa en sangre del grupo **CHg+G** que al ser comparados con su tiempo cero (T0) mostraron una diferencia estadísticamente significativa fueron los del T7, T21 y T35. Se observa que los niveles de glucosa de este grupo no permanecen estables. Posteriormente, se compararon los valores de glucemia del grupo CHg+G contra los valores del grupo CHg, donde se observa que las significancias de las diferencias mantienen un comportamiento irregular, manifiestas en los T7, T21 y T35.

Por su parte, se observaron y analizaron los valores del grupo **EHg+Bk**, donde se distingue el descenso de los niveles séricos de glucosa en todos los tiempos de este grupo, los cuales posteriormente se corroboran con la comparación estadística entre el T0 y todos los tiempos del mismo grupo, resultando con diferencias estadísticamente significativas en todos ellos. Por otro lado, se observa un decremento gradual en los niveles de glucosa plasmática, el cual se corroboró al comparar los valores de glucemia del grupo EHg+Bk contra los valores del grupo CHg, dicha comparación presenta diferencias estadísticamente significativas en los tres últimos tiempos (T28, T35 y T42). Por último, no hubo diferencia estadísticamente significativa al hacer la comparación entre el grupo EHg+Bk y el grupo CHg+G.

En resumen, los valores se muestran en la Gráfica 1, en la cual se observa que los valores del grupo CNg y del grupo CHg se mantienen estables durante el experimento. En particular, el comportamiento estable de los valores del grupo CHg, confirma una hiperglucemia moderada durante el desarrollo del experimento crónico. Por otro lado, se observa que el efecto de la administración de los tratamientos, provoca un descenso notable a los siete días de en las medias de los niveles de glucosa del grupo CHg+G y del grupo EHg+Bk. Finalmente, se observa que la administración del extracto acuoso mantuvo los niveles séricos de glucosa en un rango, estable así como un mayor decremento de los niveles en el último tiempo con respecto al CHg+G.

**Tabla 14.** Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *B. karatas* sobre los niveles de glucosa plasmática (mg/dL) el ratas STZ-NA.

<i>Grupos</i>	<i>Niveles plasmáticos de glucosa (mg/dL)</i>						
	<b>T0</b>	<b>T7</b>	<b>T14</b>	<b>T21</b>	<b>T28</b>	<b>T35</b>	<b>T42</b>
<b>CNg</b>	124 ± 3	129 ± 2	124 ± 2	127 ± 1	125 ± 4	118 ± 6	131 ± 3
<b>CHg</b>	175 ± 11*	171 ± 1*	171 ± 10*	154 ± 4*	168 ± 7*	162 ± 4*	168 ± 9*
<b>CHg+G</b>	180 ± 2*	129 ± 5~#	148 ± 9	132 ± 6~#	150 ± 9	134 ± 11~#	153 ± 11
<b>EHg+Bk</b>	186 ± 3*	138 ± 3~	147 ± 3~	138 ± 3~	141 ± 5~#	133 ± 4~#	140 ± 8~#

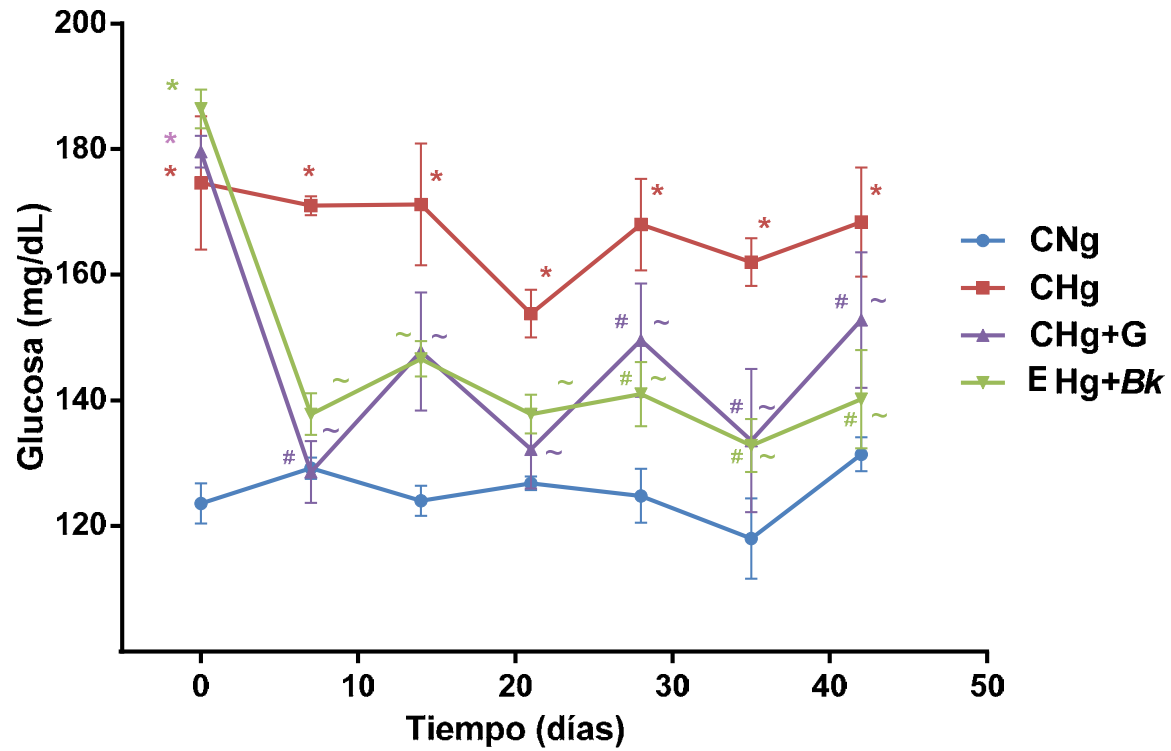
Tabla 14. Promedios de los niveles de glucosa plasmática (mg/dL) de cuatro grupos. Cada dato representa el valor medio de cinco determinaciones (n=5). Media ± E.E.

~ (p≤0.05) cada grupo contra su tiempo cero (T0).

\* (p≤0.05) cada grupo contra CNg.

# (p≤0.05) cada grupo contra CHg.

° (p≤0.05) CHg+G contra EHg+Bk.



Gráfica 1. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *B. karatas* sobre los niveles promedio (n=5) de glucosa plasmática (mg/dL) en ratas STZ-NA de cuatro grupos. Media  $\pm$  E.E.

~ ( $p \leq 0.05$ ) cada grupo contra su tiempo cero T0). \* ( $p \leq 0.05$ ) cada grupo contra CNg. # ( $p \leq 0.05$ ), cada grupo contra CHg.

## Porcentaje de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>)

El comportamiento de los valores porcentuales de hemoglobina glicada (% HbA<sub>1c</sub>) se muestran en la Tabla 15. Los valores son el resultado de la media de cinco determinaciones (N=5). Las diferencias significativas se muestran con un nivel de significancia de  $p \leq 0.05$ . La importancia de la determinación de este parámetro radica en que la muestra es proporcional al nivel de glucosa en sangre durante un periodo largo de tiempo.

Al realizarse la comparación estadística de los valores de HbA<sub>1c</sub> de los tres tiempos de cada grupo con respecto a su tiempo cero, sólo se presentan diferencias significativas en el grupo CHg partir del día 28 y hasta el día 42. De la misma forma, al comparar los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> del grupo CHg con respecto a los valores porcentuales del grupo CNg, se encuentran diferencias estadísticamente significativas a partir del día veintiocho (T28) y hasta el día cuarenta y dos (T42), lo que muestra un incremento progresivo del parámetro en el grupo control hiperglucémico.

Por otro lado, se muestra una diferencia significativa el día catorce (T14), después de la administración de glibenclamida en el grupo CHg+G, al contrastarlo con el grupo CHg del mismo tiempo; sin embargo, a partir del día veintiocho (T28), no se presentan diferencias significativas. Se muestra una disminución sostenida de los niveles posteriores al día catorce, por lo que se infiere un efecto del fármaco sobre los resultados.

Al llevar a cabo las comparaciones estadísticas del grupo EHg+Bk, no se observan diferencias significativas; sin embargo, se observa una disminución en el día veintiocho (T28). Los valores no muestran un incremento mayor que el que se presenta en el primer incremento de HbA<sub>1c</sub> en el día catorce (T14).

En la Gráfica 2 se muestran los valores de HbA<sub>1c</sub>, a modo de visualizar de mejor forma el comportamiento del efecto que la administración del extracto y del fármaco sobre los mismos.

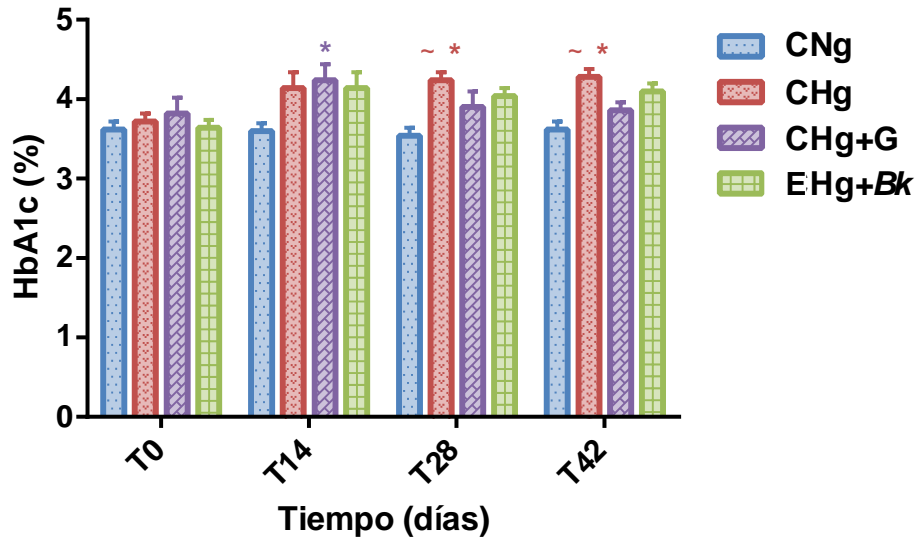


**Tabla 15.**

**Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *B. karatas* sobre los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> en plasma sanguíneo en ratas STZ-NA.**

Grupos	Porcentajes de hemoglobina glicada en sangre (% HbA <sub>1c</sub> )			
	T0	T14	T28	T42
CNg	3.6 ± 0.1	3.6 ± 0.1	3.5 ± 0.1	3.6 ± 0.1
CHg	3.7 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.2 ± 0.1~*	4.3 ± 0.1~*
CHg+G	3.8 ± 0.2	4.2 ± 0.1*	3.9 ± 0.2	3.9 ± 0.1
EHg+Bk	3.6 ± 0.1	4.1 ± 0.2	4.0 ± 0.1	4.1 ± 0.1

Tabla 15. Promedios de los porcentajes de hemoglobina glicada en sangre (%HbA<sub>1c</sub>), de cuatro grupos. Cada dato representa el valor medio de cinco muestras (n=5). Media ± E.E. ~ (p<0.05) cada grupo contra su tiempo cero (T0). \* (p<0.05) cada grupo contra CNg.



Gráfica 2. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *Bromelia karatas* sobre porcentajes promedio de hemoglobina glicada (HbA<sub>1c</sub>) en ratas STZ-NA de cuatro grupos. Media ± E.E. ~ (p<0.05) cada grupo contra su tiempo cero (T0). \* (p<0.05) cada grupo contra CNg.



## **Concentración de triglicéridos en plasma sanguíneo (mg/dL)**

El comportamiento de los niveles medios (n=5) de triglicéridos en sangre determinados quincenalmente durante el ensayo crónico de los cuatro grupos, se muestra en la tabla 16.

Se observó un incremento progresivo en los niveles de triglicéridos en el grupo CHg; para corroborarlo, se llevó a cabo la comparación de los niveles medios de triglicéridos plasmáticos de todos los tiempos, con respecto a su tiempo cero en cada uno de los cuatro grupos. Las diferencias estadísticamente significativas, se presentaron en el grupo CHg en el día 28 (T28) y en el día 42 (T42).

Un comportamiento importante que se puede apreciar mejor en la Gráfica 3, es que los niveles de Tg en el grupo CNg presentan un decremento progresivo a lo largo del tiempo. Sin embargo, al comparar los valores del grupo CNg contra los valores de Tg del grupo CHg, se presenta una diferencia estadísticamente significativa en el día veinte ocho (T28), ésto debido que la media del tiempo cero se encuentra elevada con respecto al tiempo cero del CHg.

Por otro lado, al comparar los niveles de Tg del grupo CHg+G contra el grupo CHg, no se presentan diferencias significativas, debido a que se observa un incremento progresivo en los niveles medios de triglicéridos plasmáticos en los dos grupos. En la Gráfica 3, se observa claramente que la administración del fármaco no tiene efecto en la regulación de los niveles séricos de triglicéridos.

En el caso del grupo EHg+Bk, se observa un considerable decremento a los veintiocho días (T28) de la administración del extracto; sin embargo, al día 42 se incrementa el valor.

**Tabla 16.**

**Efecto la administración oral del extracto acuoso de *B. karatas* sobre los niveles séricos de triglicéridos (mg/dL) en ratas STZ-NA.**

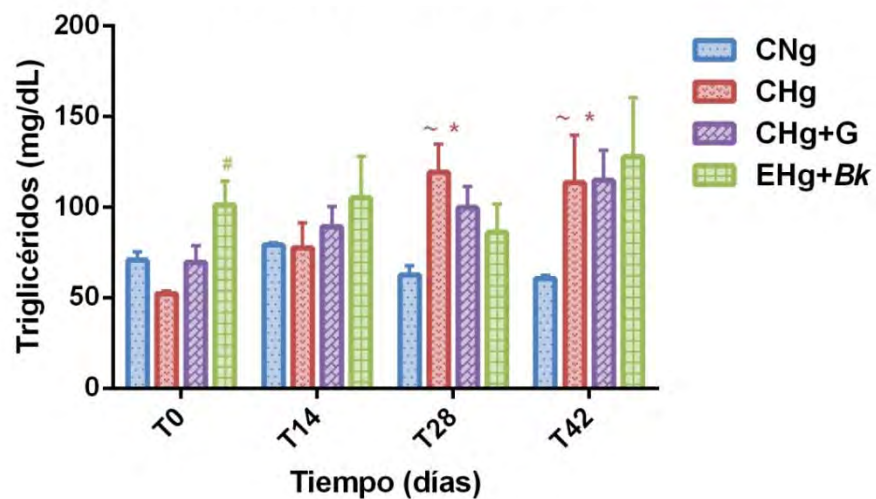
Grupos	Niveles de triglicéridos en sangre (mg/dL)			
	T0	T14	T28	T42
CNg	71 ± 4	79 ± 16	63 ± 4	61 ± 10
CHg	52 ± 1	78 ± 14	119 ± 15 <sup>~*</sup>	113 ± 26 <sup>~</sup>
CHg+G	69 ± 9	89 ± 11	100 ± 12	115 ± 16
EHg+Bk	101 ± 13 <sup>#</sup>	105 ± 23	86 ± 15	128 ± 33

Tabla 16. Promedios de los niveles plasmáticos de triglicéridos (mg/dL) de cuatro grupos. Cada dato representa el valor medio de cinco determinaciones (n=5). Media ± E.E.

~ (p≤0.05) cada grupo contra su tiempo cero (T0).

\* (p≤0.05) cada grupo contra CNg.

# (p≤0.05) cada grupo contra CHg.



Gráfica 3. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *Bromelia karatas* sobre los niveles promedios (n=5) de triglicéridos (mg/dL) en ratas STZ-NA de cuatro grupos. Media ± E.E.

~ (p≤0.05) cada grupo contra su tiempo cero (T0).

\* (p≤0.05) cada grupo contra CNg.



## Concentración de colesterol HDL en plasma sanguíneo

No presentaron diferencias significativas al finalizar la comparación estadística de los grupos con su tiempo cero; de los grupos contra el grupo CNg; de los grupos con el grupo CHg y del grupo CHg+G contra el grupo EHg+Bk. Al observar la Gráfica 4, se aprecia que los niveles se mantienen en un rango reducido en cada uno de los grupos. También se observa que los cambios entre los tiempos no conservan ninguna tendencia determinante.

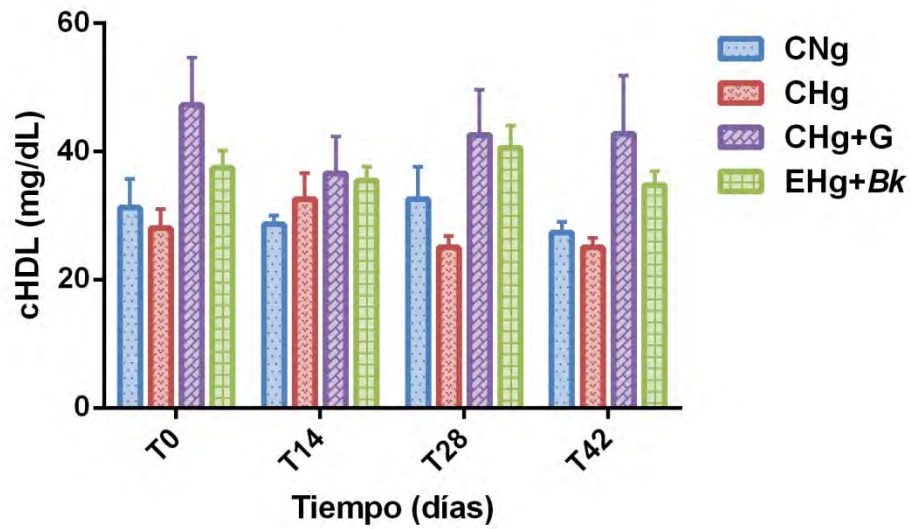
**Tabla 17.**

**Efecto de la administración del extracto acuoso de *Bromelia karatas* en los niveles séricos de colesterol HDL (mg/dL) en ratas STZ-NA.**

<i>Grupos</i>	<i>Niveles de colesterol HDL en sangre (mg/dL)</i>			
	<b>T0</b>	<b>T14</b>	<b>T28</b>	<b>T42</b>
<b>CNg</b>	31 ± 4	29 ± 1	33 ± 5	27 ± 2
<b>CHg</b>	28 ± 3	33 ± 4	25 ± 2	25 ± 1
<b>CHg+G</b>	47 ± 7	37 ± 6	43 ± 7	43 ± 9
<b>EHg+Bk</b>	37 ± 3	35 ± 2	41 ± 3	35 ± 2

Tabla 17. Promedios de los niveles plasmáticos de colesterol HDL (mg/dL) de cuatro grupos. Cada dato representa el valor medio de cinco mediciones (n=5). Media ± E.E.





Gráfica 4. Efecto de la administración oral del extracto acuoso de *B. karatas* sobre los niveles promedios (n=5) de cHDL (mg/dL) en ratas STZ-NA de cuatro grupos. Media  $\pm$  E.E.

### Concentración de colesterol total en plasma sanguíneo

Se consideró importante la medición de los niveles séricos de colesterol total, debido a que es un parámetro útil para la determinación de desórdenes metabólicos en lípidos y en lipoproteínas; sin embargo, los valores no se pudieron tomar durante el estudio. Los valores obtenidos fueron  $<100$  mg/dL en todos los tiempos y en todos los grupos.



## Discusión

Una de las estrategias metodológicas fundamentales planteadas en este estudio para la determinación del efecto hipoglucemiante de *B. karatas* en ratas Wistar a largo plazo, fue la de elegir, establecer, ajustar y corroborar un modelo animal experimental adecuado a las condiciones particulares del Laboratorio de Etnofarmacología y del Bioterio de la Facultad de Ciencias que cumpliera con las características adecuadas para el presente ensayo crónico.

El interés por el conocimiento general de la DM, se ve reflejado en el gran número de modelos experimentales empleados en estudios preclínicos de la enfermedad. Ya que permiten observar y entender algunos aspectos importantes de la fisiopatología de esta, tales como sus consecuencias y desarrollo; adicionalmente, su utilización provee de una herramienta clave para el desarrollo de tratamientos o la mejora de los mismos. Si bien, se procura que el modelo sea lo más semejante al padecimiento, reproduciendo sus características, se aspira únicamente a una extrapolación de lo observado con respecto a la enfermedad. Esta gran variedad permitió elegir el modelo más adecuado para cumplir con los objetivos de este trabajo.

El análisis de los resultados de la presente investigación, permitió determinar que el modelo ajustado sí cumplió con las características adecuadas para el buen desarrollo del presente estudio crónico. Para ello, se tomó como referencia a Masiello y colaboradores (1998), que lograron obtener un grupo de ratas con hiperglucemia moderada a las cuatro semanas de la inducción, empleando una dosis de 230 mg/kg de peso de NA y una dosis de 65 mg/kg de peso de STZ (15 min después de la NA). Mientras que para la obtención de ratas Wistar con hiperglucemia moderada (en esta investigación) la dosis de NA empleada fue de 150 mg/kg, y la dosis de STZ fue la misma (65 mg/kg).

Los autores del modelo STZ-NA establecieron como parámetro para determinar si se logró establecer la hiperglucemia moderada, a la concentración de glucosa sérica; es por esta razón que este trabajo se basó principalmente en los valores de glucemia, para determinar el logro del modelo. De esta forma, el primer análisis permitió corroborar que las medias de los



niveles de glucosa plasmática de los grupos CHg, CHg+G y EHg+Bk del día cero (T0), fueron significativamente diferentes a las medias del grupo CNg del mismo día. Los niveles de los tres grupos hiperglucémicos al inicio del experimento, fueron  $\geq 170$  mg/dL.

La obtención de hiperglucemia moderada crónica, primera característica importante del modelo STZ-NA, se determinó al corroborar que los niveles séricos de glucosa del grupo CHg se mantuvieron significativamente altos con respecto a los niveles de glucosa del grupo CNg durante el experimento crónico de 42 días. Adicionalmente, en el grupo CHg se mostró un aumento significativo de los valores de glucosa en plasma en todos los tiempos que duró el ensayo, en comparación con el valor medio de glucosa plasmática que tuvo el día cero (T0); se observa también (en el mismo grupo) que los niveles de glucosa a través del tiempo, presentan fluctuaciones en los valores de significancia. Estas últimas, dadas por sus altos errores estándar.

El logro de este trabajo, al obtener ratas Wistar con hiperglucemia moderada a lo largo de seis semanas, coincide con los resultados publicados por Masiello y colaboradores (1998), que reportan la obtención de ratas STZ-NA (Wistar), con niveles promedios de glucosa en sangre de  $155 \pm 3$  mg/dL, comparados con los de su grupo control de  $121 \pm 3$  mg/dL, durante cuatro semanas después de la inducción. En este ensayo los resultados obtenidos fueron de  $168 \pm 7$  y de  $168 \pm 8$  mg/dL, a las cuatro semanas y a las seis semanas después de la inducción en el grupo CHg, comparados con los del grupo CNg que fueron de  $125 \pm 4$  y de  $131 \pm 2$  mg/dL, respectivamente. Los niveles de glucosa plasmática de las ratas del grupo CNg se encuentran dentro de los parámetros biológicos bioquímicos normales las ratas de la cepa Wistar (Harlan Laboratories, Inc., 2008).

El comportamiento de las medias de niveles de glucosa plasmática en las ratas de la cepa Wistar, manifiesta el efecto  $\beta$ -citotóxico que la STZ ejerció sobre estas células, tras la inducción del modelo ajustado STZ-NA. Por otro lado, la obtención de un grupo con el comportamiento que presentó el CHg, facilita establecer más adelante un punto de análisis confiable entre los grupos CHg+G y EHg+Bk, permitiendo comprobar que los



comportamientos de los valores están dados exclusivamente por la administración de los respectivos tratamientos.

Se considera importante para el ensayo crónico el comprobar la respuesta secretora ante las sulfonilureas (particularmente de la GLI), con el efecto que el fármaco control tenga sobre los parámetros a considerar, para la comparación del efecto que la administración del tratamiento experimental. Debido a que la glibenclamida ha demostrado ser una buena opción como prototipo de fármaco de prueba para estudios agudos y estudios subagudos, se consideró la misma para este estudio crónico. Este comportamiento se confirmó tras observar análisis de los resultados obtenidos del grupo CHg+G, al cual se le suministró GLI a dosis de 5 mg/kg de forma crónica, que muestran un comportamiento irregular a lo largo de los 42 días. En general, el grupo CHg presentó niveles séricos de glucosa por debajo del valor promedio de glucemia que al comenzar el experimento y niveles de glucosa plasmática más bajos que los niveles medios que tuvo durante el desarrollo del ensayo. Específicamente, el análisis estadístico mostró una disminución significativa de los niveles medios de glucemia en los días: siete, veintiuno y 35 al comparar el día cero contra los demás días del grupo CHg+G. Asimismo, el análisis realizado indicó que los valores de glucosa significativamente distintos entre el grupo CHg+G y el grupo CHg, se reflejaron en los días: siete, veintiuno y treinta y cinco. La fluctuación en las significancias, está dada por el alto rango de los valores de error estándar. El análisis general de los resultados de los niveles medios de glucosa en sangre del grupo CHg+G, confirma que la administración de glibenclamida (5mg/kg) tiene un efecto hipoglucemiante, al estimular la liberación de insulina y ejerciendo su acción sobre la cantidad adecuada de células  $\beta$  del páncreas, conservadas en buen estado por la protección de la NA, al promover la exocitosis de los gránulos de insulina. Lo anterior se refleja en la disminución de la glucosa en sangre de este grupo control (C. Ronald, 2005). Si bien la dosis empleada mostró ejercer un buen control sobre los niveles de glucosa plasmática en comparación al grupo CHg, aumentar el número de administraciones por día ajustando la dosis, podría potenciar este efecto. En este ámbito, se sabe que en el humano, la vida media de la GLI es de 10 horas y su concentración máxima es a las 4 horas (Leahy, 2007; Lebovitz, 1999). Estos comportamientos se desconocen para ratas de la cepa Wistar, lo que permitiría establecer de mejor forma los requerimientos del tratamiento para mantener los niveles de



glucemia más estables. De igual manera, los estudios orientados a evaluar el estado de los tejidos conforme avanza el estudio crónico a diferentes dosis, aportarían mayor conocimiento del modelo STZ-NA.

Tras analizar los resultados de los niveles de glucosa en sangre del grupo EHg+Bk, se encontró que la administración del extracto de *B. karatas* de forma crónica, mantuvo la glucemia significativamente menor lo largo de los días que duró el experimento, en comparación al nivel medio de glucemia que tuvo este mismo grupo al inicio del experimento. Asimismo, se determinó que el extracto acuoso tuvo efecto sobre la glucemia de las ratas STZ-NA, al presentar diferencias significativas a partir del día veintiocho y hasta el final del experimento, en comparación con los valores medios de glucemia del grupo CHg. Por otro lado, se observó que el comportamiento de la glucemia de las ratas, tanto la del grupo CHg+G como la del grupo EHg+Bk, se mantuvo por debajo de su valor inicial y por debajo de los valores de glucemia del grupo CHg. Al hacer la comparación entre los valores de glucosa de estos grupos, no se encontró la presencia de valores significativamente distintos. Con dichos resultados, se confirmó que la administración crónica del extracto acuoso de la planta, tiene un efecto hipoglucemiante sobre los niveles séricos de glucosa en ratas STZ-NA. Adicionalmente, se corroboró que con la dosis empleada del extracto de *B. karatas* (218 mg/kg), el efecto hipoglucemiante a largo plazo se mantiene. De este modo se contribuye al entendimiento etnofarmacológico del efecto que los compuestos presentes en el extracto de *B. karatas* tienen sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA, aportando información que valida el uso tradicional de las hojas de secas de la planta como agua de uso.

Por tratarse de un estudio crónico (además de la cuantificación de la glucosa sanguínea, que muestra la concentración de la misma en el momento de la toma de la muestra), un parámetro que se consideró adecuado para medir y analizar el efecto hipoglucemiante del extracto de *B. karatas*, fue el porcentaje de HbA<sub>1c</sub>.

En los resultados del análisis, los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> mostraron que en el grupo CHg hay un incremento progresivo, presentando valores significativamente elevados con respecto a



los valores del grupo CNg. Asimismo, presenta valores significativamente elevados en sus dos últimos tiempos en comparación a su tiempo inicial. Dicho incremento progresivo corresponde al comportamiento observado en los niveles de glucosa plasmática tomada semanalmente y refuerza la certeza en la obtención de un modelo con hiperglucemia moderada a largo plazo, lo que permite llevar a cabo la adecuada comparación entre los grupos con tratamiento. Asimismo, confirma la adecuada dosificación de STZ y NA para la obtención del modelo STZ-NA.

La administración de GLI, no permitió que los porcentajes de este parámetro se elevaran (grupo CHg+G) como sucedió con los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> del grupo CHg, disminuyendo la tasa de glicación de la hemoglobina al evitar grandes aumentos de la glucemia a lo largo del tiempo, mostrando un descenso a partir del T28 sostenido hasta el T42. Por otro lado, en el T14 mostró un incremento significativo en comparación con el mismo tiempo del grupo CNg; sin embargo, el descenso mostrado posteriormente refleja el control descrito. Este comportamiento sugiere que el daño a las células  $\beta$  pancreáticas fue parcial, debido a que la respuesta secretora ante la sulfunilurea administrada se mantiene constante durante el ensayo crónico. Adicionalmente, establecer los principales factores de la acción de la GLI sobre las ratas STZ-NA, como la velocidad de inicio de su acción y la duración de su acción, permitiría mejorar el control de la glucemia en las ratas y el mejor control de los niveles de HbA<sub>1c</sub>, y con ello, un mayor conocimiento del modelo experimental empleado.

Por su parte, el efecto que la administración del extracto acuoso de *B. karatas* tuvo sobre los porcentajes medios HbA<sub>1c</sub> (grupo EHg+Bk) se observa como el mantenimiento constante de los niveles de HbA<sub>1c</sub> y a través de una disminución en el día veintiocho, no significativa. No se muestra ningún incremento en los valores a partir del día catorce, por lo que se puede inferir que los compuestos presentes en el extracto acuoso de *B. karatas* impidieron una mayor glicación de la hemoglobina durante su administración. El uso tradicional de la infusión de las hojas de *B. karatas*, se realiza bebiéndolo a lo largo del día; por ello, el realizar una curva que describa el comportamiento del efecto sobre la glucemia, posterior a la administración del extracto, permitiría determinar el número requerido de administraciones



durante el día que potencialmente eviten aumentos en los niveles de glucosa plasmática y con ello disminuir la tasa de glicación de la hemoglobina.

En la literatura se reporta que la concentración de HbA<sub>1c</sub> es de 4.6% en ratas Wistar sanas (Figuroa G, Pérez H, & Mejía Z, 2013; George, Uwakwe, & Egoro, 2013); sin embargo, los valores reportados varían de acuerdo a las condiciones en las que cada investigación se ha desarrollado. La vida media de los eritrocitos de rata Wistar es de entre 60 y entre 65 días (Derelanko M. , 1987), lo que modifica los tiempos de recambio y por lo tanto los valores de las concentraciones de HbA<sub>1c</sub>. Otro factor determinante, es el tiempo de recambio que las poblaciones de eritrocitos tienen a lo largo del desarrollo de la rata Wistar. La penúltima población de eritrocitos desaparece en el día ochenta y cuatro de vida de la rata, por lo que, a partir de ese tiempo, el último tipo de eritrocito constituye la población definitiva. Tomando en cuenta este conjunto de factores, se explica por qué los valores medios de los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> del grupo control normoglucémico se encontraran un punto porcentual que estuviese por debajo de la normalidad reportada. El experimento se inicia durante los primeros sesenta días de vida de las ratas, tiempo en el cual la población V definitiva de eritrocitos no es aun la variante definitiva (Figuroa, 2013). Por la suma de los factores que intervienen en la diferencia del rango en el parámetro (%HbA<sub>1c</sub>), resulta indispensable establecer un grupo CNg que indica los valores séricos normales de las ratas Wistar que se encuentran bajo las condiciones en que se realiza el proyecto, por ello, la referencia que se tomó para éste parámetro se estableció con los valores obtenidos del grupo CNg.

El análisis de los resultados de triglicéridos caracteriza el comportamiento que la inducción del modelo produjo en este parámetro, pues al comparar el efecto que la inducción tuvo sobre los niveles de triglicéridos, a lo largo del experimento, en el grupo CHg con respecto a su tiempo cero, se muestra que hay un aumento significativo en sus dos últimos tiempos. Además, la comparación entre el grupo CHg contra el grupo CNg mostró un aumento significativo en los niveles séricos de triglicéridos del grupo CHg, no así en el siguiente tiempo; sin embargo, el valor se mantuvo elevado. La no presencia de significancia en el último tiempo se debió al incremento de su error estándar. Esta caracterización nos indica el grado de hiperglucemia en el grupo CHg, causada por los bajos niveles de insulina circulante



que afecta la regulación del metabolismo de lípidos impidiendo procesos del mismo como su utilización, almacenamiento, movilización y desecho.

Al continuar analizando los resultados del mismo parámetro en el grupo CHg+G, no se encontró efecto en la disminución de triglicéridos tras la administración crónica del medicamento, presentando un sostenido aumento. Este aumento de los niveles de triglicéridos puede estar relacionado con los efectos secundarios de la glibenclamida, como el incremento de peso y una falta relativa de especificidad por los diferentes canales de  $K_{ATP}$  (Asplund, Wiholm, & Lundman, 1983).

En el caso del grupo EHg+Bk sólo se observa un decremento de triglicéridos en el día 28 y un posterior aumento en los niveles, en el día 42. Este comportamiento fluctuante en los niveles de triglicéridos puede estar relacionado con cambios hormonales, por el crecimiento o por estrés. Además de que su mecanismo de acción está poco relacionado al metabolismo lipídico. La estandarización de los valores para la concentración de triglicéridos séricos en la literatura, no es homogénea, por lo cual se tomaron como referencia los datos generados en el propio estudio.

Para la presente investigación, se tomó en cuenta el colesterol total. Los valores normales de concentración de colesterol sérico en ratas STZ-NA, publicados en la literatura, se encuentran en un rango de entre 70 y 77 mg/dL (Figuroa G, Pérez H, & Mejía Z, 2013; Figuroa, 2013; Harlan Laboratories, Inc., 2008), datos que coinciden con lo observado en el presente estudio ya que los datos obtenidos se encontraron en un rango  $\leq 100$  mg/dL en todos los tiempos y en todos los grupos. Los valores de las concentraciones de cHDL de los diferentes grupos no presentaron diferencias significativas. Asimismo, con la observación de los datos se aprecia que los niveles se mantienen en un rango reducido; se observa también que los cambios entre los tiempos no conservan ninguna tendencia determinante. Si bien no se detectaron cambios significativos en este parámetro, el comportamiento general de la concentración de colesterol cHDL guarda una relación inversa con la concentración de triglicéridos.





## Conclusiones

- Mediante un estudio preclínico, a través de un modelo animal experimental inducido químicamente, se observó el efecto hipoglucemiante que el extracto acuoso de *B. karatas* ejerció de forma crónica sobre los parámetros bioquímicos en ratas STZ-NA.
- La administración de una dosis de NA de 150 mg/kg de peso i.p., quince minutos previos a la administración de STZ a una dosis de 65 mg/kg de peso v.p. indujo un modelo adecuado para estudios crónicos.
- Se determinó que el modelo experimental ajustado STZ-NA en ratas Wistar propuesto por Masiello en 1998, es adecuado para estudios preclínicos crónicos porque presentó las siguientes características:
  - Niveles de glucosa plasmática iniciales significativamente altos con respecto a grupo control normoglucémico.
  - Los signos característicos de la hiperglicemia (polidipsia, polifagia y poliuria).
  - Hiperglucemia moderada crónica.
  - Respuesta secretora de insulina ante las sulfonilureas de forma crónica.
  - La glicación de la hemoglobina aumentó en el grupo CHg.
  - Los niveles séricos de triglicérido presentaron una elevación posterior a la inducción en el grupo CHg



- La administración crónica de glibenclamida a una dosis de 5 mg/kg dividida en dos tomas al día, mantuvo una respuesta secretora de insulina, disminuyendo significativamente la glucemia en ratas STZ-NA de la cepa Wistar en sus tiempos: T7, T21 y T35.
- La administración crónica del extracto acuoso de las hojas de *B. karatas* a una dosis de 218 mg/kg de peso, presentó un efecto hipoglucemiante significativo sobre los niveles de glucosa plasmática en ratas STZ-NA en los tiempos 28, 35 y 42 con respecto al grupo control.
- El extracto acuoso de las hojas secas de *B. karatas* a una dosis de 218 mg/kg, administrado de forma crónica (a lo largo de 42 días) ejerció un efecto en los porcentajes de HbA<sub>1c</sub> plasmática en ratas STZ-NA, impidiendo la elevación de los mismos, aunque no de manera significativa.
- La administración de forma crónica del extracto acuoso de las hojas secas de *B. karatas* a una dosis de 218 mg/kg, impidió la elevación de %HbA<sub>1c</sub> plasmática en ratas STZ-NA, aunque no de manera significativa.
- El extracto acuoso de las hojas de *B. karatas*, administrado vía oral de forma crónica mantuvo estables los niveles séricos de cHDL en ratas STZ-NA con hiperglucemia moderada.
- Finalmente, con los resultados de la presente investigación etnofarmacológica, se corrobora la validación del uso tradicional de la infusión de hojas de *B. karatas*.



## Literatura consultada

- Adeneye, A. (2012). The leaf and seed aqueous extract of *Phyllanthus amarus* improves insulin resistance diabetes in experimental animal studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 705–711.
- Alarcón-Aguilar, F., Hernández Galicia, E., & Román-Ramos, R. (2008). Diabetes mellitus y plantas medicinales en México. En J. Rivas Vilchis, *ANUARIO DE INVESTIGACIÓN EN ETNOMEDICINA, MEDICINAS COMPLEMENTARIAS Y UTILIZACIÓN DE PLANTAS MEDICINALES 2008* (pág. 106). México, D.F.: © Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa 2008.
- Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., & Nadal, A. (2011). Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nature Reviews Endocrinology*, 7, 346-353.
- Amaya A., D. E. (2007). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglucemiante de la Glibenclamida. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(003), 5-11.
- Amaya-Chávez, A., Dolores-Ledezma, E., Álvarez-Sánchez, P., Ferreira-Rubio, G., Gómez-Oliván, L., & Galar-Martínez, M. (2007). Evaluación de un modelo de diabetes tipo 2 para estudiar la actividad hipoglucemiante de la glibenclamida. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 38(3), 1-8.
- American Association of Clinical Endocrinologists (AACE). (2011). AACE Task Force for Developing a Diabetes Comprehensive Care Plan. *Endocrine Practice*, 17(2), 1-53.
- American Association of Clinical Endocrinologists/American College of Endocrinology - Medical Guidelines (AACE/ACE). (2015). Diabetes Guidelines. *Endocrine Practice*, 21(Suppl 1), 1-87.
- American Association of Clinical Endocrinologists/Medical Guidelines for Clinical Practice (AACE). (2012). Lipid and Atherosclerosis Guidelines. *Endocri Pract.*, 18(Suppl 1), 1-78.
- American Diabetes Association (ADA). (JANUARY de 2013). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *DIABETES CARE*, 36(1), S67-S74.
- American Diabetes Association (ADA). (2014). Executive summary: Standards of medical care in diabetes--2014. *Diabetes Care*, 27 Suppl 1(January), 5–13.
- American Diabetes Association (ADA). (January de 2014a). Standards of Medical Care in Diabetes. (A. D. Association, Ed.) *Diabetes Care*, 37(1), S14-S79.
- American Diabetes Association (ADA). (JANUARY de 2014b). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *DIABETES CARE*, 36(1), S67-S74.
- Andrade-Cetto, A. (2009). Ethobotanical study of medicinal plants from Tlanchinol, Hidalgo, México. *Journal of Ethnopharmacology*, 122(1), 163-171.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(3), 325–348.
- Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 99, 325–348.



- Andrade-Cetto, A., & Medina-Hernández, A. E. (Abril de 2013). Hypoglycemic effect of *Bromelia plumieri* (E.Morren) L.B. Sm., leaves in STZ-NA-induced diabetic rats. *Frontiers in Pharmacology / Ethnopharmacology*, Vol. 4(Art. 36), 1-4.
- Andrade-Cetto, A., Martínez-Zurita, E., Soto-Constantino, A., Revilla-Monsalve, C., & Wiedenfeld, H. (2008). Chronic hypoglycemic effect of *Malmea depressa* root on n5-streptozotocin diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 358–362.
- Arias-Díaz, J., & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22(2), 160-68.
- Arnason, J. (1995). Phytochemistry of medicinal plants: [proceedings of the Thirty-fourth Annual Meeting of the Phytochemical Society of North America on Phytochemistry of Medicinal Plants. *Recent advances in phytochemistry*, 29, 15-19.
- Arumugam, G., Manjula, P., & Paari, N. (2013). A review: Anti diabetic medicinal plants used for diabetes mellitus. *Journal of Acute Disease*, 196-200.
- Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD). (2013). *Guías ALAD sobre el Diagnóstico, Control y Tratamiento de la Diabetes Mellitus Tipo 2 con Medicina Basada en Evidencia Edición 2013*. Latinoamérica: Revista de la Asociación Latinoamericana de Diabetes.
- Asplund, K., Wiholm, B., & Lundman, B. (1983). Glibenclamide associated hypoglycemic reported; a report on 57 cases. *Diabetologia*, 24, 412-417.
- Barnett, D. M., & Krell, L. P. (2007). Historia de la diabetes. En C. R. Kahn, & Y Colaboradores, *Joslin's Diabetes Mellitus 14.a. ed.* (págs. 1-17). Barcelona, España: Lippincott William & Wilkins.
- Baynes, K. (2006). Introduction to Diabetes Mellitus. En A. Soumyanath, & A. Soumyanath (Ed.), *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants* (Vol. 6, pág. 314). Boca Raton, Florida, U.S.A.: Taylor & Francis Group.
- Braverman, L. E. (2007). *Endocrine Practice*. Boston, MA: AACE Diabetes Mellitus Clinical Practice Guidelines Task Force.
- C. Ronald, K. (2005). *Joslin's Diabetes Mellitus*. Boston, MA 02215. EEUU: Lippincott Williams & Wilkins.
- Camou Guerrero, A., Reyes-García, V., Martínez-Ramos, M., & Casas, A. (2008). Knowledge and Use Value of Plant Species in a Rarámuri Community: A Gender Perspective for Conservation. *Hum Ecol*, 36, 259–272.
- Cavaghan, M. k., & Polonsky, K. (2007). Secreción de insulina in vivo. En C. R. Kahn, *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (pág. 1207). Barcelona, España: lippincott Williams & Wilkins.
- Cheng, A. Y., & Fantus, I. G. (2005). Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal*, 172(2), 113-226.
- CONABIO. (13 de octubre de 2015). *ENCICLOVIDA Aguama (Bromelia karatas)*. Recuperado el 19 de febrero de 2016, de <http://bios.conabio.gob.mx/especies/6026279>
- Cooppan, R. (2007). Orientación general del tratamiento de la diabetes mellitus. En C. R. Kahn, *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (pág. 1207). Barcelona, España: lippincott Williams & Wilkins.



- Correa, C. (2002). *Protección y promoción de la medicina tradicional: Consecuencias para la salud pública en los países en desarrollo*. Buenos Aires, Argentina: Universidad de Buenos Aires.
- Day, C., & Bailey, C. J. (2006). Preclinical and Clinical Methods for Evaluating Antidiabetic Activity of Plants. En R. Hardman, *Traditional Herbal Medicines for Modern Times* (pág. 331). Boca Raton, FL: Taylor & Francis Group.
- DeFronzo, R. A., & cols. (23 de July de 2015). Type 2 diabetes mellitus. (M. P. Limited, Ed.) *NATURE REVIEWS / DISEASE PRIMERS*, 1-25.
- Del Olmo González, E., Carrillo Pérez, M., & Aguilera Gumpert, S. (2008). Actualización del tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus tipo 2. *IT del Sistema Nacional de Salud*, 32(1), 3-11.
- Derelanko, M. (1987). Determination of erythrocyte life span in F-344, Wistar, and Sprague-Dawley rats using a modification of the [3H]diisopropylfluorophosphate ([3H]DFP) method. *Fundam Appl Toxicol*, 9(2), 271-6.
- Despres, J.-P., & cols. (1996). HYPERINSULINEMIA AS AN INDEPENDENT RISK FACTOR FOR ISCHEMIC HEART DISEASE. *The New England Journal of Medicine*, 952-957.
- Díaz, J. (1976). *Usos de las plantas medicinales de México*. México : Instituto Mexicano para el Estudio de las Plantas Medicinales A.C. (IMEPLAM A.C.).
- Dirección de Cultura y Recreación y Secretaría General Municipal de Tlanchinol. (2009). Monografía del Municipio de Tlanchinol, Estado de Hidalgo. Tlanchinol, Hidalgo.
- Duke, J. (2009). *Duke's handbook of medicinal plants of Latin America*. Boca Raton, U.S.: Taylor & Francis Group.
- Eddouks, M., Chattopadhyay, D., & Zeggwagh, N. A. (2012). Animal Models as Tools to Investigate Antidiabetic and Anti-Inflammatory Plants. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1-14.
- EMA, European Medicines Agency. (2009). *Guideline on Declaration of Herbal Substances and Herbal Preparations in Herbal Medicinal Products/Traditional Herbal Medicinal Products*. London: European Medicines Agency.
- Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA). (2000). *Vivienda, población y utilización de servicios de salud*. Cuernavaca, Morelos, México: Instituto Nacional de Salud.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006 (ENSANUT). (2006). *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006*. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud.
- Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012 (ENSANUT). (2012). *Resultados nacionales*. México: Instituto Nacional de Salud Pública .
- Escalante Pulido, J. M. (2001). Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Actualidades. *Investigación en Salud*, pp. 57-61.
- Espejo-Serna, A., & López-Ferrari, A. R. (2010). BROMELIACEAE. *Flora del bajo y de regiones adyacentes, Fascículo 136*, 1-82.



- Esquivel-Gutiérrez, E., Noriega-Cisneros, R., Saavedra-Molina, A., & Salgado-Garciglia, R. (2013). Plants used in Mexican folk medicine with antidiabetic and antihypertensive properties. *PharmacologyOnline*, Vol. 2 (<http://pharmacologyonline.silae.it>), 15 - 23.
- Etkin, N. (2001). Perspectives in ethnopharmacology: forging a closer link between bioscience and traditional empirical knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 76, 177–182.
- Fernández Saavedra, G., Jardón Delgado, A., & Figueroa-Hernández, J. (2005). Modelos experimentales utilizados para el estudio e investigación de la diabetes mellitus., (pág. 4). México D.F.
- Figueroa G, M., Pérez H, I., & Mejía Z, R. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Rev.MVZ Córdoba*, 18(Supl), 3699-3707.
- Flora of Kaxil Kiuic*. (5 de junio de 2010). Recuperado el 23 de febrero de 2016, de Flora of Kaxil Kiuic: <http://chalk.richmond.edu/flora-kaxil-kiuic/index-kiuic%20checklist.html>
- Flores Hernández, S., Reyes Morales, H., Reynoso Noverón, N., & Hernández Ávila, M. (2012). *Diabetes en adultos: urgente mejorar la atención y el control (ENSANUT,2012)*. México : Instituto Nacional de Salud Pública/Secretaría de Salud.
- Flores, J. S., Canto-Aviles, G., & Flores-Serrano, A. G. (2001). Plantas de la flora yucatanense que provocan alguna toxicidad en el humano. *Rev Biomed*, 12, 86-96.
- Fu, Z., Gilbert, E. R., & Liu, D. (1 de January de 2013). Regulation of Insulin Synthesis and Secretion and Pancreatic Beta-Cell Dysfunction in Diabetes. *Curr Diabetes Rev.*, 9(1), 25–53.
- Gaedcke F, S. B. (2003). *Herbal medicinal products*. Stuttgart, Germany: Medpharm Scientific Publishers.
- García Herrero, C. M. (2012). *Análisis de la regulación de la glucoquinasa humana a partir del estudio de mutaciones asociadas a hipoglucemia y diabetes monogénica*. Madrid, 2012: FACULTAD DE MEDICINA de la UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID (TESIS DOCTORAL).
- George, G., Uwakwe, A., & Egoro, E. (2013). Streptozotocin induced diabetes: Biochemical properties in herbs treated wistar albino rats. *International Journal of Current Research*, 5(8), 2252-2255.
- Gertsch, J. (2009). How scientific is the science in ethnopharmacology? Historical perspectives and epistemological problems. *Journal of Ethnopharmacology*, 122, 177–183.
- González-Salvatierra, C., Andrade, J. L., Escalante-Erosa, F., García-Sosa, K., & Peña-Rodríguez, L. M. (2010). Antioxidant content in two CAM bromeliad species as a response to seasonal light changes in atropical dry deciduous forest. *JournalofPlantPhysiology*, 167, 792–799.
- González-Salvatierra, C., Luis Andrade, J., Orellana, R., Peña-Rodriguez, L. M., & Reyes García, C. (2013). MICROAMBIENTE LUMÍNICO Y MORFOLOGÍA Y FISIOLOGÍA FOLIAR DE BROMELIA KARATAS (BROMELIACEAE) EN UNA SELVA BAJA CADUCIFOLIA DE YUCATÁN, MÉXICO. *Botanical Sciences*(91 (1)), 75-84.
- González-Sánchez, A., & Ortiz-Andrade, R. (2012). ¿Qué sabe usted acerca de...los antidiabéticos orales (ADO's)? *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéutica*, 43(1), 79-84.



- Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes tipo 2 (GGPC). (2008). *Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes tipo 2*. Madrid, España: Plan Nacional para el SNS del MSC. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco.
- Harlan Laboratories, Inc. (2008). Wistar Hannover Biological Parameters. *Harlan Laboratories*.
- Hawkins, M., & Rossetti, L. (2007). Resistencia a la insulina y su función en la patología de la diabetes tipo 2. En C. R. Kahn, & y cols., *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (pág. 1207). Barcelona, España: lippincott Williams & Wilkins.
- Heinrich, M., & Gibbons, S. (2001). Ethnopharmacology in drug discovery: an analysis of its role and potential contribution. *Journal of Ethnopharmacology in drug discovery*, 53, 425–432.
- Henquin. (2007). Biología celular de la secreción de insulina. En C. R. Kahn, *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (pág. 1207). Barcelona, España: lippincott Williams & Wilkins.
- Herbario CICY, Unidad de Recursos Naturales. (2010). *FLORA DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN*. Recuperado el 2016 de FEBRERO de 19, de [http://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha\\_virtual.php?especie=174](http://www.cicy.mx/sitios/flora%20digital/ficha_virtual.php?especie=174)
- Hernández Alonso, D., Martínez Cruz, O., Domínguez Domínguez, L., & Hernández Cubilla, M. (2007). Propuesta metodológica. Vinculación del programa farmacología I con la medicina natural tradicional. Perfil de servicios farmacéuticos. *Revista de Ciencias Médicas*, 11(3), 1561-3194.
- Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. *salud pública de méxico*, vol. 55(suplemento), S129-S136.
- Hernando, R. (2011). Etiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Mexicana de Cardiología*, 22(1), 39 - 43.
- Holmstedt, B., & Bruhn, J. (1983). ETHNOPHARMACOLOGY -A CHALLENGE. *Journal of Ethnopharmacology*, 8 , 251-256.
- Hornung-Leoni, C. T. (2011). Avances sobre Usos Etnobotánicos de las Bromeliaceae en Latinoamérica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10 (4), 297 - 314.
- Hornung-Leoni, C. T. (Agosto de 2011). BROMELIADS: TRADITIONAL PLANT FOOD IN LATIN AMERICA SINCE PREHISPANIC TIMES. *Publibotánica*(Núm. 32), 219-229.
- Huerta, C. (1997). La herbolaria: mito o realidad. *CONABIO. Biodiversitas*, 12, 1-7.
- Hypoglycemic effect of *Bromelia plumieri* (E.Morren) L.B.Sm., leaves in STZ-NA-induced diabetic rats. (April de 2013). *Frontiers in Pharmacology*, Vol. 4(Article 36), 1-4.
- IDF. (s.f.). *RISK FACTORS*. Recuperado el 19 de febrero de 2016, de <https://www.idf.org/about-diabetes/risk-factors>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2016). *INEGI*. Recuperado el 17 de febrero de 2016, de INEGI: <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/default.aspx>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, México). (2013). *Boletín de estadísticas vitales 2011*. México: INEGI.



- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI, México). (2014). *Mujeres y Hombres en México 2013*. México: INEGI.
- International Diabetes Federation (IDF). (2015). *IDF Diabetes Atlas* (Seventh edition, 2015 ed.). Karakas Print: International Diabetes Federation.
- Jannetta, P. J., & Hollihan, L. (2004). Type 2 Diabetes Mellitus, Etiology and Possible Treatment: Preliminary Report. *Surg Neurol/Autonomic Nervous System*, 422–428.
- Jiménez-Corona, A., Aguilar-Salinas, C., Rojas-Martínez, R., & Hernández-Ávila, M. (2013;55 ). Diabetes mellitus tipo 2 y frecuencia de acciones para su prevención y control. *Salud Publica Mex*, supl 2:S137-S143.
- Jyothi Kommoju, U., & Mohan Reddy, B. (2011). Genetic etiology of type 2 diabetes mellitus: a review. *Int J Diabetes Dev Ctries*, 31(2), 51–64.
- Kahn, S. E., Cooper, M. E., & Del Prato, S. (2014). Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 383, 1068–83.
- Kuri Morales, P., & cols. (Abril-Junio de 2007). Uso de insulinas en el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo 1 y 2. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, Vol. 15(No. 2), pp 75-103.
- Leahy, J. L. (2005). Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *Archives of Medical Research*, 36, 197–209.
- Leahy, J. L. (2007). Disfunción de las células beta en la diabetes mellitus tipo 2. En C. R. Kahn, *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (Vol. 36, pág. 1207). Barcelona, España: lippincott Williams & Wilkins.
- Lebovitz, H. (1999). Type 2 Diabetes: An Overview. *Clinical Chemistry*, 45(8 B), 1339–1345.
- Lebovitz, H. E. (2007). Tratamiento de la hiperglucemia con antidiabéticos orales en la diabetes tipo 2. En C. R. Kahn, *Joslin's Diabetes Mellitus 14a. ed.* (pág. 1207). Barcelona, España: Lippincott Williams & Wilkins.
- Lozoya, X. (1994). Two decades of Mexican ethnobotany and research on plant derived drugs. En C. F. 185, *In Ethnobotany and the Search for New Drugs*. New York: Wiley: 130-152.
- Masiello, P., Broca, C., Roye, M., Manteghetti, M., Hillaire-Buys, D., Novelli, M., y otros. (1998). Development of a New Model in Adult Rats Administered Streptozotocin and Nicotinamide. *DIABETES, VOL. 47*, 224-229.
- Mata, R., Cristians, S., Escandón-Rivera, S., Juárez-Reyes, K., & Rivero-Cruz, I. (2013). Mexican antidiabetic herbs: Valuable sources of inhibitors of  $\alpha$ -glucosidases. *Journal of Natural Products*, 76(3), 468–483.
- Mathews, C. K., Van Holde, K. E., Appling, D. R., & Anthony-Cahill, S. J. (2013). *Bioquímica* (4.a edición ed.). Madrid: PEARSON EDUCACIÓN, S.A.
- Méndez, J., & Ramos, H. (2010). *Modelos experimentales para el estudio de la Diabetes Mellitus*. Editorial Prado, S.A. de C.V.
- Montes, C., Terán, V. F., Zuñiga, R. A., & Caldón, Y. E. (Enero - Junio de 2014). DESCRIPCIÓN MORFOLÓGICA DE *Bromelia karatas* RECURSO GENÉTICO PROMISORIO PARA PATÍA, CAUCA, COLOMBIA. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, Vol 12(No. 1 ), 62-70.





- Moyano D., D., Osorio R., M., Murillo P., E., Murillo A., W., Solanilla D., J., Mendoza A., J., y otros. (2012). EVALUACION DE PARÁMETROS BROMATOLÓGICOS, FITOQUÍMICOS Y FUNCIONALIDAD ANTIOXIDANTE DE FRUTOS DE BROMELIA KARATAS (BROMELIACEAE). *Vitae, Supl. 1*(19), S439-S443.
- Nain, P., Saini, V., Sharma, S., & Nain, J. (2012). Antidiabetic and antioxidant potential of *Emblica officinalis* Gaertn. leaves extract in streptozotocin-induced type-2 diabetes mellitus (T2DM) rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 142, 65–71.
- Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la Insulina. *Revista de Educación Bioquímica*, 27(1), 9-18.
- Orellana, A., Guerra, R., & Dávila, J. (2012). *Sondeo agrosocioeconómico y recolección de cultivares de mata (Bromelia sp.) en el oriente de Guatemala*. University of Florida: Ed. Instituto de Ciencia y Tecnología Agrícolas.
- Osorio, E. J. (2009). *Aspectos Básicos de Farmacognosia*.
- Pan American Health Organization/World Health Organization (PAHO/WHO). (2010). *Proyecto de Prevención y Control de la Diabetes en la Frontera México-Estados Unidos: Estudio de prevalencia de la diabetes tipo 2 y sus factores de riesgo*. El Paso, TX.: (PAHO/WHO): Organización Panamericana de la Salud, 2010.
- Parada, F., & Duque, C. (1998). Studies on the Aroma of Pinñuela Fruit Pulp (*Bromelia plumieri*): Free and Bound Volatile Composition and Characterization of Some Glucoconjugates as Aroma Precursors. *J. High Resol. Chromatogr*, 21(10), 577–581.
- Parada, F., Krajewski, D., Duque, C., Jäger, E., Herdederich, M., & Schreier, P. (1996). 1-O-fl-D-GLUCOPYRANOSYL ANTHRANILATE FROM PINUELA (*BROMELIA PLUMIERI*) FRUIT. *Phytochemistry*, Vol. 42(No. 3), pp. 871-873.
- Pedro-Botet, J., Benaiges, D., & Pedrago, Á. (2012). Dislipidemia diabética, macro y microangiopatía. *Clinica e Investigación en Arteriosclerosis*, 24(6), 299---305.
- Phillipson, D. (2001). *Aksum: An African Civilisation in its World Contexts*. Cambridge Academy.
- Phillipson, J. (2001). Phytochemistry and medicinal plants. *Phytochemistry*, 56, 237-243.
- Phillipson, J. (2007). Phytochemistry and pharmacognosy. *Phytochemistry*, 68, 2960–2972.
- Pinhas-Hamiel, O., & Zeitler, P. (2007). Acute and chronic complications of type 2 diabetes mellitus. *Lancet*(369), 1823–31.
- Quintanilla-García, C., & Zúñiga-Guajardo, S. (2010). El efecto incretina y su participación en la diabetes mellitus tipo 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 48(5), 509-520.
- Rodríguez Bolaños, R. A., Reynales Shigematsu, L. M., Jiménez Ruíz, J. A., Juárez Márquez, S. A., & Hernández Ávila, M. (2010). Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo. *Revista Panamericana de Salud Pública* /, 28(6), 412-420.
- Saravanan, G., & Pari, L. (2008). Hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of *Syzygium cumini* bark in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(1), 1-10.



- Secretaría de Salud (SSA) México. (2010). NORMA Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus. *Diario Oficial de la Federación (DOF)*, 1-41.
- Secretaría de Salud (SSA, México). (2013). *Estrategia Nacional para la Prevención y el Control del Sobrepeso, la Obesidad y la Diabetes*. México, D.F.: IEPSA, Entidad paraestatal del Gobierno Federal.
- Secretaría de Salud/México (SSA). (2015). TRANSICIÓN EPIDEMIOLÓGICA. *Boletín Epidemiológico/Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica Sistema Único de Información*, 1-68.
- Shenfield, G. (2013). Metformin: myths, misunderstandings and lessons from history. *Australian Prescriber*, Vol. 36(2), 38–39.
- Soumyanath, A. (2006). *Traditional Medicines for Modern Times: Antidiabetic Plants* (Vol. 6). (A. Soumyanath, Ed.) Boca Raton, FL, Florida, U.S.A.: Taylor & Francis Group.
- Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & van H, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *Lancet*(365), 1333–46.
- Surya, S., Salam, A. D., & Vallika, D. (2014). Diabetes mellitus and medicinal plants-a review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4 (5), 337-347.
- Szkudelski, T. (2012). Streptozotocin–nicotinamide-induced diabetes in the rat. *Experimental Biology and Medicine*, 237, 481–490.
- The International Expert Committee. (July de 2009). International Expert Committee Report on the Role of the A1C Assay in the Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*, Vol. 32(no. 7 ), 1327-1334.
- The University of the West Indies. (2007). *Plants of the Eastern Caribbean Broome, R, Sabir, K, Carrington, S.* (2007). Recuperado el 23 de febrero de 2016, de Plants of the Eastern Caribbean Broome, R, Sabir, K, Carrington, S. (2007): <http://ecflora.cavehill.uwi.edu/plantdetails.php?pid=425&sn=Bromelia+karatas&cn=Karatas%2C+m onkey+banana%2C+pingouin%2C+pinguin%2C+pingwing%2C+plumier+pingwing%2C+wild+pine &gh=herb>
- Tomkin, G. H. (2008). Targets for Intervention in Dyslipidemia in Diabetes. *Diabetes Care*, 31 (Suppl. 2), S241–S248.
- Tusié Luna, M. T., Huerta Chagoya, A., Vázquez Cárdenas, P., & Cruz López, M. (2015). La genómica en la predicción de la diabetes tipo 2. En Aguilar-Salinas, *Acciones para enfrentar a la diabetes*.
- Valverde, I., Cancelas, J., & Villanueva-Peñacarrillo, M. L. (2006). El GLP-1: acción biológica y posibles efectos terapéuticos. *Endocrinol Nutr.*, 53(4), 256-62.
- Vlietinck A, P. L. (2009). Legal Requirements for the Quality of Herbal Substances and Herbal Preparations for the Manufacturing of Herbal Medicinal Products in the European Union. *Planta Med*(75), 683–688.
- Wadkar, K. A., Magdum, C. S., Patil, S. S., & Naikwade, N. S. (2008). Antidiabetic potential and Indian medicinal plant. *Journal of Herbal Medicine and Toxicology*, 2(1), 45-50.



- Warram, J. H., Martin, MD, B. C., Krolewski, A. S., Soeldner, J. S., & Kahn, R. (1990). Slow Glucose Removal Rate and Hyperinsulinemia Precede the Development of Type II Diabetes in the Offspring of Diabetic Parents. *Annals of Internal Medicine*, 113(12), 909-915.
- Wild, S., Roglic, G., Green, A., Sicree, R., & Kin, H. (2004). Global Prevalence of Diabetes: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care*, 27(5), 1047–1053.
- Williams, C. A. (1978). THE SYSTEMATIC IMPLICATIONS OF THE COMPLEXITY OF LEAF FLAVONOIDS IN THE BROMELIACEAE. *Phytochemistry*, Vol. 17, pp. 729-734.
- World Health Organization (WHO). (1999). *Definition, diagnosis and Classification of Diabetes mellitus and its Complications*. Geneva: World Health Organization 1999.
- World Health Organization (WHO). (22 de JUNIO de 2004). *Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales*. Recuperado el 2016 de febrero de 29, de Nuevas directrices de la OMS para fomentar el uso adecuado de las medicinas tradicionales: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr44/es/>
- World Health Organization (WHO). (2011). *Use of Glycated Haemoglobin (HbA1c) in the Diagnosis of Diabetes Mellitus*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization (WHO). (7 de abril de 2016). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el 2017 de febrero de 15, de Día Mundial de la Salud 2016: diabetes: <http://www.who.int/campaigns/world-health-day/2016/event/es/>
- World Health Organization. (1999). *Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Part 1: Definition, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus and its Complications. WHO/NCD/NCS/99.2 ed., Geneva*, 1-59.
- Zamudio-Villarreal, J. F. (2010). Diagnóstico de diabetes con hemoglobina glicosilada. *Revista d e Evidencia e Investigación Clínica*, 3(1), 58-60.
- Zúñiga Guajardo, S., & Rangel Rodríguez, I. (2003). Historia de la Diabetes Mellitus y el descubrimiento de la insulina. *Diabet Hoy Med Sal*, 984-986.