



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



**“EFECTO ANTIOXIDANTE DE *Buddleja cordata* SOBRE
EL DAÑO RENAL EN LA DIABETES MELLITUS”**

T E S I S

Que para obtener el título de

BIÓLOGO

P R E S E N T A

SINAÍ ERNESTO CARDOSO GARCÍA

DIRECTOR DE TESIS:

M. en C. David Segura Cobos

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México., 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIAS

Mamá, **Dulce María García Trejo**, este mérito también te pertenece. Te dedico con todo mi amor este proyecto. Gracias por ser mi guía y tu inmenso amor. Hoy comprendo que todos tus esfuerzos posibilitaron la conquista de esta meta. Eres uno de mis principales motivos que me han impulsado a seguir adelante. Admiro tu fortaleza y tu coraje para superar momentos difíciles. Nunca olvides que estoy muy orgulloso de ser tu hijo y cada átomo de amor que siento por ti se expande a la misma velocidad del universo. **¡Te amo!**

Abuelita **Ana Remedios Trejo**, siempre creíste en mí y te dedico este logro. Gracias por preocuparte y cuidar de mí. Eres una persona muy inteligente y sabia en varios ámbitos. Agradezco que me hayas transmitido tus conocimientos en plantas medicinales y recuerda que te quiero mucho.

Agradecimientos

A mi madre **Dulce María**, por brindarme tu amor, ánimos, apoyo, comprensión y creer en mí.

A mis abuelos, **Ana Remedios y Francisco García Infante** por ser mis segundos padres y apoyarme en todo momento.

A mi padre **José Manuel Cardoso Cabrera**, por tus enseñanzas en Biología y consejos.

A **Feliciano Dolores Estudillo**, por brindarme tus conocimientos y apoyo otorgado para la realización de este trabajo.

A mi maestro, **David Segura** por todo su tiempo, apoyo otorgado y amistad.

A mi amiga, **Adri Vélez** por tu valiosa compañía, por escucharme y por tus abrazos.

Al **Dr. Rubén Muñiz Arzate**, por su confianza y el apoyo aportado para mi desarrollo profesional.

A todo el equipo del laboratorio de Farmacología, el **M en C. David Segura Cobos**, la **Dra. Beatriz Vázquez Cruz** y el **Biol. Manuel López Mondragón**, por su apoyo y enseñanzas.

A mis sinodales la **Dra. Mara Eugenia Garín Aguilar**, la **M. en C. María Edith López Villafranco**, el **M. en C. David Segura Cobos** y el **Dr. José Guillermo Ávila Acevedo** por su tiempo dedicado para la revisión de este trabajo de investigación.

A todos mis maestros de la carrera de Biología, en especial a la **Biol. Angélica Mendoza Estrada**, la **Dra. Ana María García Bores** y la **M. en C. Dolores Hurtado Bocanegra** por enseñarme que la inteligencia sin disciplina y constancia no es verdadera inteligencia.

A mis colegas de la carrera, por los buenos momentos, risas y enseñanzas.

Recuerda mirar arriba, a las estrellas y no abajo, a tus pies.

Intenta encontrar el sentido a lo que ves y pregúntate ¿Qué es lo que hace que el universo exista? Sé curioso.

Por muy difícil que te parezca la vida, siempre hay algo que puedes hacer para llegar al éxito.

Lo importante es que nunca te des por vencido.

-Stephen Hawking.

ÍNDICE

	RESUMEN	ix
I.	INTRODUCCIÓN	1
II.	Diabetes mellitus (DM)	2
	Clasificación de la DM	3
	Diabetes mellitus tipo 1 (DM1)	3
	Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)	3
	Diabetes Mellitus Gestacional (DMG)	4
	Otros tipos de DM	5
	Criterios de diagnóstico de la DM	6
	Factores de riesgo para desarrollar DM	7
	Epidemiología	7
	Complicaciones de la DM a corto y largo plazo	7
III.	Nefropatía Diabética (ND)	9
	Historia natural de la ND	12
	Etapas de la ND	13
	Mecanismos implicados en la ND	14
	Productos finales de glicación avanzada	15
	Vía del poliol	15
	Vía de la hexosamina	16
	Vía de la proteína cinasa C (PKC)	17
	Vía del Estrés oxidativo (EOX)	17
IV.	Radicales libres (RL)	19
	Fuentes de RL	20
V.	Antioxidantes	20
	La defensa antioxidante del cuerpo	22
	Enzimas antioxidantes	22
	Antioxidantes rompe cadenas (ARC)	23
	Agentes antioxidantes en la ND	27
	Antioxidantes de origen vegetal en la ND	27
VI.	Género <i>Buddleja</i>	29
	Descripción de <i>Buddleja cordata</i> Kunth	29
	Distribución de <i>Buddleja cordata</i>	30
	Situación taxonómica de <i>Buddleja cordata</i>	31
	Usos medicinales de <i>Buddleja cordata</i>	32
	Fitoquímica de <i>Buddleja cordata</i>	33
VII.	Justificación	34
VIII.	Pregunta de investigación	34
IX.	Antecedentes	34
X.	Hipótesis	36
XI.	Objetivos	36
	General	36
	Particulares	36
XII.	Material y métodos	37
	Colecta de la especie	37
	Identificación de la especie	38
	Preparación y obtención del extracto	38

Análisis fitoquímico preliminar	40
Ensayos <i>in vitro</i> de la actividad antioxidante	41
DPPH	41
Cuantificación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu	42
Reproducción del modelo de DM	43
Obtención de los animales de experimentación	43
Determinación de la hipertrofia renal	45
Relación peso renal/peso corporal (PR/PC)	45
Determinación de la función renal	45
Cuantificación de proteínas en orina (proteinuria)	45
Estudio de la actividad de las enzimas antioxidantes	45
Homogenización de la corteza renal	45
Catalasa	46
Superóxido dismutasa (SOD)	46
Glutación peroxidasa (GPx)	46
Análisis estadístico	47
XIII. Resultados	47
Información de herbario de <i>Buddleja cordata</i>	48
Rendimiento	48
Caracterización fitoquímica del extracto	48
Ensayos <i>in vitro</i> de la actividad antioxidante	49
Porcentaje de decoloración de DPPH	49
Fenoles totales presentes en el EMHBC	51
Caracterización del modelo de DM	52
Hipertrofia renal	54
Proteinuria	55
Enzimas antioxidantes	56
XIV. Discusión	57
XV. Conclusión	64
XVI. Referencias	64

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Otros tipos de DM	5
Tabla 2. Etapas de la ND	14
Tabla 3. Lista de ERO y ERN producidas durante el metabolismo	19
Tabla 4. Generación de ERO de fuentes exógenas	20
Tabla 5. Clasificación de los principales antioxidantes	21
Tabla 6. Diferentes antioxidantes y sus efectos	25
Tabla 7. Efecto de algunas especies de plantas en la ND	28
Tabla 8. Situación taxonómica de <i>Buddleja cordata</i>	31
Tabla 9. Usos medicinales de <i>B. cordata</i>	32
Tabla 10. Metabolitos secundarios relacionados al efecto curativo de <i>Buddleja cordata</i> y sus posibles actividades	33
Tabla 11. Pruebas cualitativas para identificar metabolitos en el extracto metanólico	41
Tabla 12. Grupos experimentales y sus tratamientos	43
Tabla 13. Porcentaje de rendimiento del extracto	48

Tabla 14. Pruebas de detección de los principales grupos de metabolitos secundarios de <i>Buddleja cordata</i>	48
Tabla 15. Contenido de fenoles totales y capacidad reductora del DPPH en términos de CA50 del extracto de <i>Buddleja cordata</i> y control quercetina	51
Tabla 16. Resumen del efecto del EMHBC (100 y 200 mg/kg, vía oral) en los parámetros metabólicos y renales durante 6 semanas	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Criterios de diagnóstico de la DM	6
Figura 2. Historia natural de la ND en la DM1	12
Figura 3. Lugar específico de acción de cada antioxidante dentro de la célula	21
Figura 4. Tepozán	30
Figura 5. Distribución de <i>Buddleja cordata</i> en México y a nivel mundial	31
Figura 6. Ubicación de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, UNAM, CDMX, México	37
Figura 7. Zona de muestreo	38
Figura 8. Hojas de <i>Buddleja cordata</i> trituradas con una licuadora	39
Figura 9. Montaje del equipo Soxlet para la preparación del extracto metanólico de las hojas de <i>Buddleja cordata</i> con el método de extracción exhaustiva	40
Figura 10. Lector de microplacas ELISA Thermo Scientific EE. UU.	42
Figura 11. Rata Wistar macho	43
Figura 12. Cajas metabólicas	44
Figura 13. Ejemplar herborizado de <i>Buddleja cordata</i>	47
Figura 14. Gráfica del porcentaje de decoloración del radical DPPH contra el extracto metanólico de <i>Buddleja cordata</i>	49
Figura 15. Gráfica de la capacidad antioxidante 50 (CA50) del extracto de <i>Buddleja cordata</i>	50
Figura 16. Gráfica del porcentaje de decoloración del radical DPPH contra la quercetina	50
Figura 17. Gráfica de la curva patrón de ácido gálico	51
Figura 18. Gráficas de la glucosa, consumo de alimento y consumo de agua	52
Figura 19. Gráficas de la excreción urinaria, peso corporal y peso renal	53
Figura 20. Hipertrofia renal (Relación peso renal / Peso corporal)	54
Figura 21. Gráfica de proteinuria	55
Figura 22. Gráficas de las enzimas catalasa (CAT), superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx)	56

Abreviaturas

Ang II	Angiotensina II
AT1	Receptor de la angiotensina II, tipo 1
CAT	Catalasa
CAD	Cetoacidosis diabética
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus 1
DM2	Diabetes mellitus 2
DMG	Diabetes mellitus gestacional
EAP	Enfermedad arterial periférica
EC	Enfermedad coronaria
EHH	Estado hiperosmolar hiperglucémico
EMHBC	Extracto metanólico de las hojas de <i>Buddleja cordata</i>
EOX	Estrés oxidativo
ER	Especies reactivas
ERET	Enfermedad renal en etapa terminal
ERO	Especies reactivas de oxígeno
FCEV	Factor de crecimiento endotelial vascular
FCEV	Factor de crecimiento endotelial vascular
FCTβ	Factor de crecimiento transformante beta
GFAT	Glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa
GPx	Glutation peroxidasa
HC	Hipertrofia compensadora
FID	Federación internacional de diabetes
HR	Hipertrofia renal
IL-1β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
MBG	Membrana basal glomerular
MEC	Matriz extracelular
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato reducido
NOX	NADPH oxidasa
ND	Nefropatía diabética
OMS	Organización mundial de la salud
PARP	Poli ADP-ribosa polimerasa
PFGA	Productos finales de la glicación avanzada
PQAM	Proteínas cinasas activadas por mitógenos
PKC	Proteína cinasa C
RI	Resistencia a la insulina
RL	Radicales libres
SOD	Superóxido dismutasa
TFG	Tasa de filtración glomerular
TEUA	Tasa de excreción urinaria de albúmina

RESUMEN

La nefropatía diabética (ND) es la primera causa de enfermedad renal terminal. El estrés oxidativo generado por el metabolismo alterado de la persistente hiperglucemia, juega un papel clave en la fisiopatología de la ND. *Buddleja cordata* (Escropulariaceae) es un árbol con propiedades antioxidantes y por ello podría ayudar en el tratamiento de la ND. **Objetivo:** Investigar el efecto del extracto metanólico de las hojas de *B. cordata* (EMHBC) sobre el daño renal en la diabetes mellitus (DM) en rata. **Material y métodos:** Se indujo la DM en ratas Wistar machos (230-260 g) por administración de estreptozotocina (STZ) (65 mg/kg, ip). Al grupo control 1 (C1) se le administró vehículo citrato 10 mM, pH 4.5; grupo DM control 2 (DMC2), STZ; a grupo DM tratamiento 3 (DMT3) y grupo DM tratamiento 4 (DMT4), STZ + EMHBC a 100 y 200 mg/kg vía oral, diariamente durante 6 semanas. Se sacrificaron las ratas y se determinaron la relación peso renal/peso corporal (PR/PC), proteinuria, depuración de creatinina (DCreat) y actividad de catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa corticales renales. **Resultados:** El EMHBC mostró una capacidad antioxidante media de 22 µg/mL. En los organismos diabéticos se observó polidipsia, polifagia, poliuria, aumento del peso renal, proteinuria y disminución de la actividad de las enzimas antioxidantes. El tratamiento de *B. cordata* disminuyó la ingesta de agua y alimento y el volumen urinario, la proteinuria y restauraron la actividad de las enzimas antioxidantes. El tratamiento de *B. cordata* no disminuyó la hiperglucemia, ni la relación PR/PCT. **Conclusión:** El tratamiento con *B. cordata* disminuyó el daño renal causado por la DM.

I. INTRODUCCIÓN

En México más de 12 millones de personas padecen Diabetes Mellitus (DM) y se calcula que la cifra aumentará casi el doble en el año 2045 (Federación Internacional de Diabetes, 2017). La DM es una enfermedad crónica del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas caracterizada por una deficiente producción de insulina (DM1), resistencia a la misma (DM2) o ambas (Sefi y col., 2012). Los niveles de glucosa aumentan crónicamente, a esta condición se conoce como hiperglucemia (Radenković y col, 2016), y se manifiesta en la pérdida de peso, polifagia, polidipsia y poliuria (Montier y col., 2015). La hiperglucemia produce estrés oxidativo (EOx) en células renales y ocasiona la activación de diversas vías como el flujo de glucosa mediante la vía del poliol, la vía de las hexosaminas, la activación de la proteína cinasa C y acumulación de los productos finales de la glicación avanzada (PFGA). Los PFGA están relacionados en el desarrollo de la nefropatía diabética (ND) (Kishore y cols, 2016). La ND es la causa principal de enfermedad renal terminal, debido a que se desarrolla en un 30% en personas con DM1 y del 25-40% en la DM2 (Hall, 2006). Una gran parte de la población mexicana recurre a la terapia con plantas medicinales por su bajo costo, rápido acceso y fácil uso.

Las plantas medicinales son bancos de compuestos químicos que se han utilizado en el tratamiento del EOx (Krishnaiah y col., 2011; Jiménez y col.,2015) en modelos animales con ND (Katyál y col.,2009; Ayeleso y col.,2016) La información obtenida de dichos constituyentes debe investigarse exhaustivamente mediante pruebas fitoquímicas y biológicas con el fin de validar sus posibles usos en la medicina tradicional popular y producir nuevos fármacos a bajo costo. Sin embargo, estos procesos llevan tiempo en desarrollarse, mientras esto sucede, las plantas medicinales se consideran eficientes contra el EOx (Conforti y col., 2009; Krishnaiah y col., 2011; Jiménez y col.,2015). Los antioxidantes de origen vegetal son compuestos que favorecen la disminución y eliminación de radicales libres (RL) causantes de la degeneración celular (Adedapo y cols., 2009). Los tratamientos con antioxidantes son indispensables principalmente en zonas urbanas marginales que carecen de servicios de salud y la obtención de medicamentos (Farnsworth y col, 1985; Kishore y col., 2016).

Existen plantas medicinales que contienen sustancias que disminuyen los niveles de glucosa en sangre; entre los constituyentes están los fenoles, terpenoides, flavonoides y las cumarinas (Elgawish y col., 1996; Modak y col., 2007; El-Rafaei, 2014). Algunas de las especies más interesantes por sus registros de actividad antioxidante, abundancia y propiedades medicinales pertenecen al género *Buddleja* (Houghton, 1984; Avila y col., 1999). Varias de sus especies se han utilizado para aliviar úlceras, congestión conjuntival y desórdenes en la piel (Ahmad y col., 2008).

Buddleja cordata pertenece a las Escrofulariáceas, es un árbol o arbusto que mide de 2 a 15 m. de alto con un diámetro de 10 a 45 cm (Camacho y col., 2009). Abarca ampliamente el territorio mexicano y se desarrolla en bosques de encino, coníferas y vegetación secundaria donde las condiciones son extremas (Rzedowski J & Rzedowski, 1985; Avila y col., 2014). Es una especie dominante de la Ciudad de México y Ciudad Universitaria (González-Rebeles, 2012; García-García y col., 2015). *B. cordata* se utiliza para combatir la cirrosis, úlceras y zonas afectadas por tumores (Ortiz, 1996; Romero y col., 2003). También se ha empleado para el tratamiento de lesiones de la piel, DM y trastornos renales (Mendoza & Lugo, 2010). Estudios fitoquímicos de hojas, semillas, corteza y raíces han revelado propiedades bactericidas y amebicidas (Ordaz, 1996; Romero y col., 2003). Los compuestos reportados para la planta son: polifenoles, verbascósidos, linarina, y ácidos como el cafeico, ferúlico, p-cumárico y sinápico (Pérez-Barrón y col., 2015). Se considera que *B. cordata* al tener constituyentes antioxidantes (Ávila y col., 2014) podría mostrar efecto nefroprotector en un modelo de DM.

II. Diabetes mellitus (DM)

La diabetes mellitus (DM) es un desorden metabólico caracterizado por hiperglucemia crónica, resultado de defectos en la secreción y/o acción de la insulina. Tiene múltiples etiologías e incluye un grupo de enfermedades que presentan variados procesos patogénicos como trastornos genéticos, ambientales y autoinmunes que conducen a alteraciones en la función de las células pancreáticas beta, provocando deficiencia en la secreción de insulina y

distintos grados de resistencia a la insulina (RI); los mecanismos pueden asociarse (Sanzana y Durruty, 2016). La ausencia o deficiencia de insulina conduce a varios signos y síntomas como la hiperglucemia, polifagia, polidipsia, poliuria y pérdida de peso (Ayeleso y col., 2016).

Clasificación de la DM

Su clasificación sigue siendo un tema actual de investigación y de arduos debates debido a la complejidad de la enfermedad, hoy en día, la Federación Internacional de Diabetes (FID, 2017) acepta y clasifica 3 categorías principales: DM tipo 1, DM tipo 2 y DM gestacional (DMG). Se comentará las principales.

Diabetes mellitus 1 (DM1)

La DM1 es causada por una reacción autoinmune en la que el sistema inmune del organismo (células Th1/Th17) ataca las células beta, productoras de insulina, que se encuentran en los islotes pancreáticos. Como resultado, el organismo deja de fabricar suficiente cantidad de insulina, provocando una deficiencia relativa o absoluta de dicha hormona. Las causas de este proceso destructivo no se entienden plenamente, pero se sabe que es una interacción de susceptibilidad genética y unos desencadenantes medioambientales, como infecciones virales, toxinas o algunos factores dietéticos (You y Henneberg, 2016). Esta enfermedad puede iniciar a cualquier edad, pero generalmente es más frecuente en niños y adolescentes. Las personas con DM1 necesitan inyecciones diarias de insulina a fin de mantener el nivel de glucosa dentro de un intervalo adecuado y sin esta hormona no serían capaces de sobrevivir (FID, 2017).

Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

La DM2, también conocida como «diabetes no dependiente de insulina» o «diabetes del adulto», es una enfermedad crónico-degenerativa que se caracteriza por la presencia de resistencia a la insulina (RI), condición en la que

las células que habitualmente responden a la insulina dejan de hacerlo, y/o por una deficiencia relativa de esta hormona en el organismo (Gutiérrez-Rodelo y col., 2017).

En la DM2, la hiperglucemia es el resultado de una producción inadecuada de insulina y la incapacidad del organismo de responder plenamente a dicha hormona, que se define como RI. Durante un estado de RI, esta es ineficaz y, por lo tanto, en un principio, se dispara la producción de insulina a fin de reducir el aumento de los niveles de glucosa, pero, con el tiempo, puede desarrollarse un estado de producción relativamente inadecuada de insulina (IDF, 2017).

La DM2 es la forma más frecuente de DM que afecta a más del 90% de los adultos con diabetes, se desarrolla típicamente en la edad adulta (Rodríguez y col., 2012), pero aparece cada vez con más frecuencia en niños, adolescentes y jóvenes adultos debido al aumento de los niveles de obesidad, a la falta de actividad física y a las deficiencias de la dieta (FID, 2017). Las personas con DM2 son, en general, obesos y físicamente inactivos (Rydén y col., 2007). En esta categoría, durante un lapso prolongado y antes de que la DM sea detectada y aparezcan síntomas clínicos, puede haber un grado de hiperglucemia suficiente para causar alteraciones patológicas y funcionales en los diferentes tejidos diana (García-Bellón, 2013).

DM Gestacional

La DM gestacional (DMG) afecta a mujeres embarazadas, se diagnostica por hiperglucemia en el embarazo y existen altas posibilidades que se manifieste antes del embarazo. La DMG se desarrolla por resistencia a la insulina a causa de la producción de hormonas en la placenta (López, 2014) y el riesgo de padecerla aumenta por la edad avanzada, obesidad, antecedentes familiares con DM y antecedentes de bebés muertos o con alguna anomalía congénita. Generalmente, la DMG aparece en el transcurso del embarazo y una vez finalizada esta etapa desaparece, aunque cabe señalar que existe mayor riesgo de desarrollar DMG en los próximos embarazos y un 50% de mujeres con DMG pueden desarrollar DM2 alrededor de 5 a 10 años después del último parto (IDF, 2017).

Otros tipos de DM

Existen otros tipos específicos de diabetes. En la Tabla 1 se mencionan las diferentes variantes de esta enfermedad.

Tabla 1. Otros tipos de DM. (Asociación Americana de Diabetes, 2015; Sanzana y col., 2016)

a) Defectos genéticos de la función de células beta	
1. Cromosoma 12, HNF-1 α (MODY3)	5. Diabetes neonatal transitoria
2. Cromosoma 20, HNF-4 α (MODY1)	6. Diabetes neonatal permanente
3. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY2)	7. ADN mitocondrial
4. Otras formas muy raras de MODY	8. Otros
b) Defectos genéticos en la acción de la insulina,	
1. Resistencia a la insulina tipo A	4. Diabetes lipoatrófica
2. Leprechaunismo	5. Otros
3. Síndrome de Rabson-Mendenhall	
c) Enfermedades del páncreas exócrino,	
1. Pancreatitis	5. Hemocromatosis
2. Trauma/pancreatectomía	6. Pancreatopatía fibrocalculosa
3. Neoplasia	7. Otros
4. Fibrosis quística	
d) Endocrinopatías	
1. Acromegalia	5. Hipertiroidismo
2. Síndrome de Cushing	6. Somatostatina
3. Glucagonoma	7. Aldosteronoma
4. Feocromocitoma	8. Otros.
e) Inducida químicamente o por drogas	
1. Estreptozotocina	7. Agonistas β -adrenérgicos
2. Alloxan	8. Tiazidas
3. Ácido nicotínico	9. Dilantin
4. Glucocorticoides	10. Interferón-Y
5. Hormona tiroidea	11. Otros
6. Diazóxido	12. Vacor
	13. Pentamidina
f) Infecciones	

1. Rubéola congénita	3. Otros
2. Citomegalovirus	
g) Diabetes poco común mediada inmunitariamente	
1. Rubéola congénita	3. Otros
2. Citomegalovirus	
h) Otros síndromes genéticos, algunas veces asociados con diabetes	
1. Síndrome de Down	7. Síndrome de Laurence-Moon-Biedl
2. Síndrome de Klinefelter	8. Distrofia miotónica
3. Síndrome de Turner	9. Porfiria
4. Síndrome de Wolfram	10. Síndrome de Prader-Willi
5. Ataxia de Friedreich	11. Otros
6. Corea de Huntington	

Crterios de diagnóstico de la DM

Según los criterios actuales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se diagnostica diabetes mellitus mediante la cuantificación de niveles elevados de glucosa en sangre (Figura 1).

Se debe diagnosticar la DIABETES cuando se cumplan UNO O MÁS de los siguientes criterios	Se debe diagnosticar la ALTERACIÓN DE LA TOLERANCIA A LA GLUCOSA (ATG) cuando se cumplan AMBOS siguientes criterios:	Se debe diagnosticar ALTERACIÓN DE LA GLUCEMIA EN AYUNAS (AGA) cuando se cumplan AMBOS siguientes criterios:
Glucosa en plasma en ayunas \geq 7,0 mmol/L (126 mg/dl)	La glucosa en plasma en ayunas $<$ 7,0 mmol/L (126 mg/dl)	La glucosa en plasma en ayunas 6,1-6,9 mmol/L (110 to 125 mg/ dL)
o	y	y
Glucosa en plasma tras dos horas de haber ingerido por vía oral una carga de glucosa de 75g	La glucosa en plasma tras dos horas de haber ingerido por vía oral una carga de glucosa de 75g 7,8-11,1 mmol/L (140-200 mg/dl)	La glucosa en plasma tras dos horas de haber ingerido por vía oral una carga de glucosa de 75g $<$ 7,8mmol/L (140 mg/dL)
o		
El nivel de glucosa al azar $>$ 11,1 mmol/L (200 mg/ dL) o la HbA1c \geq 48 mmol/mol (equivalente a 6,5%)		

Figura 1. Criterios de diagnóstico de la DM (FID, 2017).

Factores de riesgo para desarrollar DM

La probabilidad de desarrollar DM depende de la interacción de factores como la obesidad ($IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$), sedentarismo, antecedentes familiares, miembros de grupos étnicos de alto riesgo (por ejemplo, afroamericano, latino, nativo americano, asiático americano, isleña del Pacífico), hipertensión ($\geq 140/90 \text{ mmHg}$) diabetes gestacional, mujeres con síndrome de ovario poliquístico, hipertensión arterial, alteración de los niveles de lípidos en la sangre (colesterol HDL $< 35 \text{ mg/dl}$ y/o triglicéridos $> 250 \text{ mg/dl}$), enfermedad cardiovascular y con historia previa de anomalías de la glucemia (ADA, 2018).

Epidemiología

La diabetes mellitus (DM) es un síndrome complejo de alta prevalencia que está aumentando rápidamente en incidencia en todo el mundo. Según los datos de la Federación Internacional de Diabetes (FID) se calcula que a nivel mundial más de 425 millones de adultos (20-79 años) padecen DM y se estima que más de 693 millones de personas tendrán DM en el año 2045 (FID, 2017).

Los países principales con mayor número de adultos que padecen DM son: China, India, Estados Unidos, Brasil y México (en ese orden). En México 12.5 millones de adultos padecen DM y se proyecta que en el año 2045 esta cifra incrementará a 21.8 millones, sin embargo, las cifras podrían ser mayores por el porcentaje de los diabéticos que no conocen su condición (FID, 2017). Cerca del 5 al 10% de las personas con DM tienen diabetes autoinmune tipo 1 dependiente de insulina, mientras que el 90 al 95 % tiene DM2 (independiente de la insulina), sin embargo, estas cifras siguen en aumento como consecuencia de los patrones de estilo de vida que contribuyen a la obesidad (Kizub, 2014).

Complicaciones de la DM a corto y largo plazo

La diabetes mellitus y sus complicaciones asociadas son una de las principales causas de morbilidad y mortalidad en todo el mundo (American Diabetes

Association, 2002; Laddha & Kulkarni, 2018). Las alteraciones en el metabolismo y la hiperglucemia son los componentes más graves de DM (Kizub, 2014). La hiperglucemia crónica conduce al desarrollo de complicaciones microvasculares y macrovasculares (Laddha & Kulkarni, 2018). Las complicaciones de la DM se pueden dividir en agudas y crónicas. Las complicaciones agudas se desarrollan a corto plazo y pueden ser hipoglucemia, cetoacidosis diabética (CAD), estado hiperosmolar hiperglucémico (EHH), coma diabético hiperglucémico, convulsiones o pérdida de conciencia e infecciones. Las complicaciones crónicas se desarrollan a largo plazo y se subdividen en microvasculares y macrovasculares.

Las complicaciones microvasculares son la retinopatía, la neuropatía y la nefropatía, mientras que las complicaciones macrovasculares son la enfermedad coronaria (EC) que conduce a la angina de pecho o el infarto de miocardio, la enfermedad arterial periférica (EAP) que contribuye al accidente cerebrovascular, la encefalopatía diabética y el pie diabético (FID, 2017). Algunos eventos que desempeñan un papel crucial en la progresión de las complicaciones diabéticas son el factor nuclear- κB (NF- κB), factor de crecimiento transformante β (FCT β), poli ADP-ribosa polimerasa (PARP), interleucina-6 (IL-6), interleucina-1 beta (IL-1 β), proteínas cinasas activadas por mitógenos (PQAM), factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), que desempeñan un papel crucial en la progresión de las complicaciones diabéticas (Garud y Kulkarni, 2014; Suryavanshi y Kulkarni, 2017; Usuelli y La Rocca, 2015; Laddha & Kulkarni, 2018).

Varios cambios histológicos en la nefropatía, retinopatía, neuropatía y cardiomiopatía se deben a factores de transcripción, citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento (Sharma y col., 2017; Garud y Kulkarni, 2018).

Los mecanismos implicados en la progresión de las complicaciones de la DM son el flujo de la ruta del poliol, la ruta de la hexosamina y la activación de la proteína cinasa C (PKC) y el aumento del estrés oxidativo son vías clave asociadas con la progresión de las complicaciones diabéticas (Sharma et al., 2017). Varias líneas de evidencia que indican que estos mecanismos son activados por un solo evento; la sobreproducción mitocondrial de especies

reactivas de oxígeno (ERO) (Brownlee, 2005; Giacco y Browlee, 2010). El desbalance entre la elevada producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y una baja actividad del sistema de defensa antioxidante conduce al desarrollo del estrés oxidativo en la DM (Marra y col., 2002). El estrés oxidativo ejerce una participación clave en el desarrollo de las complicaciones de la diabetes mellitus (Storino y col., 2014).

III. Nefropatía Diabética (ND)

La nefropatía diabética (ND) es una de las complicaciones microvasculares típicas de la DM tipo 1 y tipo 2 y se considera la principal causa de enfermedad renal en etapa terminal a nivel mundial (Ohga y col., 2007; López, 2009; Elmarakby y Sullivan, 2010). Se ha documentado que aproximadamente un 25% a 40% de pacientes con DM tipo 1 y tipo 2 están propensos a desarrollar ND alrededor de 20 a 25 años después del inicio de la DM (Yamagishi y Matsui, 2010). Múltiples factores de riesgo influyen en el desarrollo de la ND, tales como historia familiar, enfermedad renal, hipertensión arterial, mal control glucémico, DM1 antes de los 20 años y tabaquismo (Meza y col., 2017).

El conocimiento de la fisiopatología de la ND no se ha esclarecido en su totalidad, sin embargo, se han realizado estudios exhaustivos lo que ha mejorado su comprensión. La ND se desarrolla tanto por interacciones metabólicas como hemodinámicas (Benett y col., 2015).

Las vías metabólicas y hemodinámicas inducidas por la hiperglucemia han demostrado ser los mediadores de la enfermedad renal. La hiperglucemia se considera el evento iniciador que genera cambios estructurales y funcionales, como la hiperfiltración glomerular, la hipertrofia epitelial glomerular y tubular y la microalbuminuria, seguida del desarrollo de engrosamiento de la membrana del basamento glomerular, acumulación de matriz mesangial, proteinuria, glomeruloesclerosis y enfermedad renal en etapa terminal ERET (Vinod, 2012).

La hiperfiltración glomerular y la hipertrofia renal (HR) son manifestaciones tempranas de la ND (Malatiali y col., 2008). La HR se define como el aumento de tamaño celular debido a un incremento en el contenido de ARN y proteínas sin cambios concomitantes en la síntesis de ADN (Wolf, 2002). El riñón

experimenta un incremento de su masa que puede llegar hasta un 50%, logrado a expensas del aumento de tamaño de las nefronas restantes (Villagrán, 2013). Todos los componentes de la nefrona están agrandados en hipertrofia compensadora (HC) (Fine, 1986). La HC se define como el crecimiento del tejido renal residual en respuesta a la pérdida de masa renal o reducción de nefronas (Guerrero y Gamero, 1997). El diámetro y el volumen glomerular aumentan en la hipertrofia establecida, al igual que el túbulo contorneado proximal y el túbulo colector (Fine 1986). Los túbulos proximales aumentan en longitud, diámetro y volumen, estos últimos índices reflejan un aumento en el tamaño celular (Fine, 1986). Recientemente, se ha propuesto que el crecimiento renal completo precede y conduce a la hiperfiltración (Malatiali y col., 2008).

La hiperfiltración glomerular es una alteración hemodinámica que se define como una tasa de filtración glomerular (TFG) de más de dos desviaciones estándar por encima de la media de la TFG de individuos sanos (Helal y col., 2012). Generalmente, la función renal normal se caracteriza por una tasa de filtración glomerular (TFG) de ≥ 90 mL/min/1.73 m² sin albuminuria (Miranda-Díaz y col., 2016). Los umbrales informados para definir la hiperfiltración varían entre 130 y 140 mL/min/1.73 m² en sujetos con dos riñones en funcionamiento. Las prevalencias informadas de hiperfiltración a nivel de todo el riñón varían entre el 10% y el 67% en la DM1 con valores de TFG de hasta 162 mL/min/1.73 m² y entre el 6% y el 73% en la DM2 con valores de 166 mL/min/1.73 m² (Tonneijck, 2017).

Otra alteración que se manifiesta en la ND es un engrosamiento de la membrana basal glomerular (MBG) como resultado del depósito de matriz mesangial y la hipertrofia de las células mesangiales. Conforme la enfermedad progresa, se produce una deposición excesiva de la matriz extracelular, debido al aumento de la producción y degradación disminuida de sus componentes, colágeno tipo IV, laminina y fibronectina (Khoury, 2015). Además de engrosarse se hace más permeable al paso de otras macromoléculas y proteínas (Torres y Zacarias, 2002). La MBG evita el paso de macromoléculas en forma mecánica y eléctrica; esta última porque la presencia de carga es

negativa, debido a los proteoglicanos de heparán sulfato (Madrado, 2015). La glicosilación de proteoglicanos sulfatados reduce la electronegatividad de la MBG lo que resulta en microalbuminuria (Guzmán, 2015).

La ND se predice por la presencia de albuminuria persistente (tasa de excreción de albúmina > 300 mg/24 h), disminución de la TFG y una presión arterial elevada. La ND incipiente se refleja en un pequeño aumento en la excreción de albúmina urinaria conocida como microalbuminuria (tasa de excreción urinaria de albúmina (TEUA): 20-200 mg/24 h) mientras que la ND establecida se distingue por la presencia de macroalbuminuria o proteinuria persistente (TEUA > 200 mg/24 h) (Stephen y Gian Carlo V, 2003; Dodhi y col., 2014).

Las lesiones más características se encuentran a nivel glomerular y podrían dividirse en dos tipos: nodular y difusa. La glomeruloesclerosis difusa se caracteriza por un aumento del espesor de la membrana basal y la matriz del mesangio. La glomeruloesclerosis nodular es una forma de glomerulosclerosis que se acompaña de lesiones nodulares de los capilares glomerulares renales, lo que conduce a una disminución del flujo sanguíneo con pérdida progresiva de la función renal y, con el transcurso del tiempo, insuficiencia renal. Las alteraciones de la membrana basal en la glomerulosclerosis difusa y la glomeruloesclerosis nodular permiten la fuga de las proteínas plasmáticas hacia la orina, lo que provoca proteinuria, hipoproteinemia, edema y otros signos de disfunción renal (Lázaro-Carrasco, 2017). Los cambios que conducen a la glomeruloesclerosis son la presión intraglomerular elevada, el aumento de la producción de matriz de células mesangiales y el engrosamiento de la membrana basal glomerular (Vinod, 2012). Estos cambios avanzan aún más hacia la enfermedad renal crónica y enfermedad renal terminal (Garud y Kulkarni, 2018).

Cuando las personas con DM1 se ven afectadas con ND, es probable que alcance la insuficiencia renal terminal en más del 75% después de 20 años. Mientras que el riesgo para los pacientes diabéticos tipo 2 después del inicio de la nefropatía clínica es de aproximadamente el 20%. Sin embargo, dada la prevalencia mucho mayor de diabetes tipo 2 que tipo 1, a menudo los pacientes

con insuficiencia renal terminal tienen diabetes tipo 2 (Shahbazian y Rezaii, 2013).

Historia natural de la ND

La ND tiene una larga historia natural de la DM tipo 1 (Figura 2). Inicialmente, el paciente muestra hiperfiltración, representada por valores altos de tasa de filtración glomerular (TFG), aproximadamente duplica el valor normal y presencia ocasional de microalbuminuria. La duración de estos datos de laboratorio anormales es de aproximadamente 5 años. Más tarde, durante un recorrido de 20 años aproximadamente, el paciente muestra una disminución gradual de la TFG y la persistencia de la microalbuminuria que viene antes de proteinuria leve y moderada posteriormente.

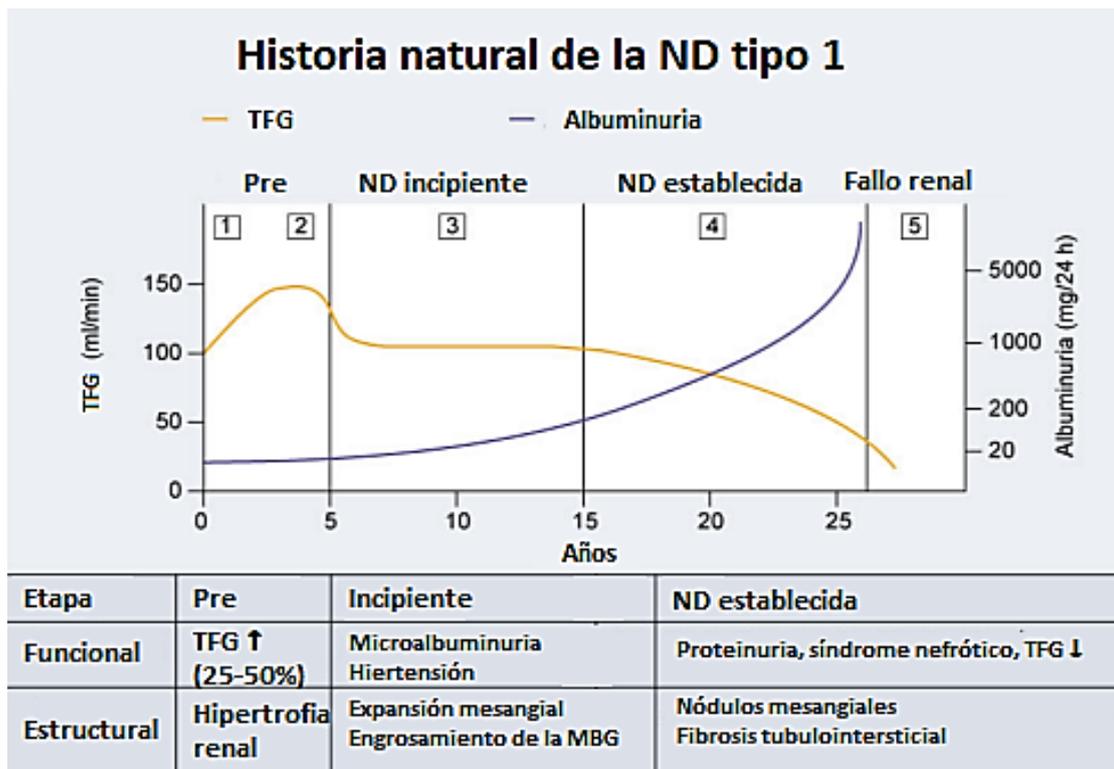


Figura 2. Historia natural de la ND en la DM1. Manifestaciones estructurales y funcionales de la ND. Números 1 al 5 indican las etapas de la ND definida por Mogensen (Feehally, Floege, Johnson, and Tonelli (2003). Comprehensive Clinical Nephrology. Elsevier, 2nd edition; Serna y col., 2009).

El paso final de la historia natural de la enfermedad se caracteriza por proteinuria severa con o sin síndrome nefrótico e insuficiencia renal crónica que termina en enfermedad renal terminal (ERT). El deterioro gradual de los hallazgos anteriores de laboratorio es causado por alteraciones estructurales a nivel renal, que al principio consisten en una acumulación gradual y progresiva de la matriz extracelular (MEC) en el mesangio y de la membrana basal glomerular. Más tarde, la formación de nódulos mesangiales representa las lesiones características de la nefropatía Kimmelsteil-Wilson con lesiones extensas tubulointersticiales adicionales (Schena y Gesualdo, 2005).

Etapas de la ND

El desarrollo de la ND ha sido descrito como un proceso de 5 etapas (Serna y col., 2009) que se describen a continuación (Tabla 2).

Etapa 1 – Hipertrofia renal e hiperfiltración

Se presenta un aumento del tamaño renal e hiperfiltración, pues se encuentra una TFG de un 140% de lo normal; no hay excreción urinaria de albúmina y la presión arterial es normal.

Etapa 2 - Lesiones glomerulares tempranas

Se presenta de 2 a 5 años después del diagnóstico y es similar al estadio uno, excepto en los hallazgos encontrados en la biopsia renal, en la que hay engrosamiento de la membrana basal y áreas de expansión mesangial; la tasa de filtración glomerular puede estar normal o aumentada.

Etapa 3 - Nefropatía diabética incipiente

Se caracteriza por el inicio de la microalbuminuria (definida como una excreción de albúmina en orina de 30-300 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ o 20-200 $\mu\text{g}/\text{min}$). Generalmente ocurre de 10 a 15 años después del diagnóstico de DM1; la tasa de filtración glomerular está conservada y la presión arterial es normal.

Etapa 4 - Nefropatía clínica

Aproximadamente un 30% a 40% de los pacientes llega a este estadio. Es caracterizado por proteinuria, severa hipertensión arterial y disminución acelerada de la tasa de filtración glomerular, la cual, sin intervención clínica, disminuye a 1 cm³/min/mes. La presión arterial incrementa a medida que declina la tasa de filtración glomerular.

Etapa 5 - Falla renal terminal

Se presenta en 35% de los diabéticos tipo 1; generalmente, luego de 20-30 años de evolución de su enfermedad. En este estadio hay necesidad de diálisis y trasplante renal.

Tabla 2. Etapas de la ND (Mogensen y Schmitz, 1988).

Etapa	Características	TFG	Excreción de albúmina	Presión arterial	Cronología
1	Hiperfiltración glomerular	Aumentada en DM1 y DM2	Puede estar incrementada	DM1 normal DM2 normal O hipertensión	Presente en el tiempo de la diagnosis
2	Engrosamiento de la membrana basal y expansión del mesangio	Normal	DM1 normal DM2 puede ser < 30-300 mg/dl	DM1 normal DM2 normal O hipertensión	Primeros 5 años
3	Microalbuminuria	TFG comienza a caer	30-300 mg/dl	DM1 aumentado DM2 normal o hipertensión	6-15 años
4	Macroalbuminuria	TFG bajo	> 300 mg/dl	Hipertensión	15-25 años
5	Insuficiencia renal en etapa terminal	0-10 ml/min	Decrecimiento	hipertensión	25-30 años

Mecanismos implicados en la ND

Varios estudios han postulado que la hiperglucemia conduce a la inducción de estrés oxidativo, una condición que consiste en el aumento de la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y disminución de los mecanismos de defensa antioxidante de la célula. Este desequilibrio da como resultado el inicio de 4 vías principales involucradas en la patogénesis de la ND: productos finales

de la glicación avanzada (PFGA), flujo de glucosa mejorado en las vías de poliol y hexosaminas, y activación de PKC (Dhodi y col., 2014).

Productos finales de la glicación avanzada (PFGA)

En la diabetes, el estado persistente de hiperglicemia genera glicosilación proteica no enzimática reversible. Estos productos glicosilados pueden reorganizarse en otros cada vez más estables, por ejemplo, la hemoglobina glicosilada, hasta que se vuelven irreversibles mediante una sucesión de reordenamientos en su estructura. Estos últimos productos irreversibles se denominan productos finales de glicosilación avanzada, los que se acumulan por una hiperglicemia mantenida en el tiempo. Además, han sido ligados a consecuencias renales (Mora-Fernández y col., 2008; Tervaet y col., 2010). Se han encontrado receptores para los productos avanzados de glicosilación en diferentes zonas del riñón. Estos se encuentran en células endoteliales, mesangiales, tubulares y musculares lisas (Mora-Fernández y col., 2008). Cuando se ligan estos productos finales con sus respectivos receptores se produce liberación de citocinas proinflamatorias, factores de transcripción, factores de crecimiento y se observa activación de vías de señalización. Todo esto permite la generación de especies reactivas de oxígeno, daño endotelial, activación de procesos inflamatorios y, por ende, daño microvascular en los riñones (Meza y col., 2017).

Vía del poliol

La vía de los polioles es aquella implicada en la formación de sorbitol. Inicia en la acción de la enzima aldosa reductasa, que convierte irreversiblemente glucosa en sorbitol, sobre el que luego actúa la deshidrogenasa del sorbitol para producir fructosa. Normalmente, la hexocinasa transforma glucosa en glucosa-6-fosfato, pero en condiciones de hiperglucemia esta enzima se satura, por lo que se produce mayor cantidad de sorbitol y hay también un mayor consumo de nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP⁺) por parte de la aldosa reductasa, sugiriendo como posibles mecanismos de daño la falta de poder reductor para reducir el estrés oxidativo y el edema producido por la

mayor concentración del sorbitol (Krishan y Chakkarwarb, 2011; Meza y col., 2017).

Existen estudios que demuestran mayor expresión de la aldosa reductasa en pacientes con nefropatía diabética, de modo que se ha encontrado una actividad significativamente mayor en diabéticos con nefropatía, respecto a diabéticos sin nefropatía (Krishan y Chakkarwarb, 2011; Meza y col., 2017).

Un estudio en ratas mostró que un inhibidor de la aldosa reductasa prevenía los efectos de la ND al reducir la sobreexpresión renal del factor de crecimiento endotelial vascular (Hodgkinson y col., 2011; Meza y col., 2017). Otro estudio en ratas reveló que la enzima RSOR/MIOX (*Renal-specific oxido-reductase/myoinositol oxygenase*), que cataboliza la producción de mioinositol y presenta ciertas similitudes con la aldosa reductasa, también estaría implicada en la producción del daño a nivel renal. Esto porque se encontró una relación directa entre niveles aumentados de ROSOR/MIOX y fibronectina tubulointersticial, factor de crecimiento transformante β y proteína cinasa C, entre otros. Además, fue posible observar que al inhibir la aldosa reductasa se revertían parcialmente estos cambios (Sung y col., 2010; Meza y col., 2010).

Vía de la hexosamina

El exceso de glucosa intracelular puede inducir la activación de la vía de las hexosaminas, en la que la fructosa-6-fosfato se desvía de la glucólisis a glucosamina-6-fosfato y otros sustratos para reacciones que requieren difosfato de uridina -N acetilglucosamina (UDP-GlcNAc). Sobre la base de la evidencia, la glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa (GFAT) es la enzima limitante de la velocidad de esta vía. Tanto la glucosa alta como la angiotensina II activan el promotor GFAT en las células mesangiales. El aumento del flujo del metabolismo de la glucosa a través de la vía de la hexosamina puede inducir la sobreexpresión del gen GFAT en las células mesangiales, lo que mejora la expresión tanto de TGF- β como de fibronectina. Aunque el mecanismo por el cual se induce la sobreexpresión es incierto, se ha supuesto que el mecanismo es por el aumento de N-acetilglucosamina que puede modificar covalentemente los factores de transcripción y las moléculas de señalización. Además, la N-

acetilglucosamina puede activar la PKC y todos los factores asociados con el desarrollo de ND (Oikari y col., 2016; Rainbar y col., 2016; Luo y col., 2016; Aghadavod y col., 2016).

Vía de la proteína cinasa C (PKC)

En diabéticos, se activan vías de señalización como proteína kinasa C, incrementando la producción de especies reactivas del oxígeno y, por consiguiente, desencadenando el estrés oxidativo que daña la macro y microcirculación en el organismo. Esta vía depende de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato oxidasa, sobre expresada en las células mesangiales del riñón en pacientes diabéticos, generando un daño localizado en este órgano (Xie y col., 2010). Por otro lado, la generación de isoformas de la proteína cinasa C y los altos niveles de diacilglicerol sanguíneo conducen a la disfunción microvascular y a la progresión de la enfermedad renal crónica. También, se le atribuyen otros efectos en su sobreexpresión, como la apoptosis y proliferación celular, contribuyendo de manera independiente al daño renal (Inogushi y col., 2003; Meza y col., 2017).

Entre los daños que genera esta vía de señalización se encuentran alteraciones en la permeabilidad renal (albuminuria), alteraciones en la tasa de filtrado glomerular, fibrosis del tejido intersticial, generación de especies reactivas del oxígeno y engrosamiento de la membrana basal. Todo esto altera la función renal pudiendo generar insuficiencia renal crónica a largo plazo (Li y Gobe, 2006; Meza y col., 2017).

Vía del estrés oxidativo (EOx)

El EOx se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ERO) y radicales libres (RL), que provocan daño oxidativo a las macromoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa (Ramos y col., 2006).

La DM está acompañada por el aumento de la generación de superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno y peroxinitrito. Las fuentes notables de

producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) en el riñón diabético son las mitocondrias (la fuente predominante) y la NADPH oxidasa (NOX) citosólica. Con la acumulación de glucosa intracelular y el aumento de la glucólisis, aumenta el flujo de electrones a través de la cadena de transporte de electrones mitocondrial, un alto gradiente de protones y una alta diferencia de potencial electroquímico que mejora la generación de superóxido. La NOX, en particular la NOX4, se expresa de manera difusa en las células renales y se ha demostrado que está regulado al alza en modelos animales de enfermedad renal diabética (Etoh y col., 2003; Khoury, 2015). Se ha demostrado que varios mediadores de la DM alteran la actividad o expresión de las proteínas NOX, incluida la hiperglucemia, Ang II, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), PFGA, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), endotelina y aldosterona (Gorin y block, 2013; Khoury, 2015). Sin embargo, la activación concomitante de la ruta del poliol requiere el cofactor NADPH (Khoury, 2015). Dado que el NADPH es el principal reductor para los mecanismos antioxidantes, su consumo en estados glucotóxicos compensa el equilibrio redox (Stanton, 2011; Khoury, 2015). Por consiguiente, las proteínas, los lípidos, los ácidos nucleicos y los carbohidratos se convierten en objetivos de la oxidación (Khoury, 2015). Esto conduce a una función e interacciones alteradas de las membranas celulares, los orgánulos intracelulares, la señalización intracelular, la regulación génica y la supervivencia celular (Khoury, 2015).

Los objetivos de las ERO son múltiples y variados y afectan a múltiples niveles y etapas de la ND. En particular, la generación de superóxido inicia la ruptura de la cadena de DNA, lo que lleva a la inhibición de la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH) (Du y col., 2003). Como resultado, el metabolismo de la glucosa se detiene a nivel de gliceraldehído-3-fosfato, lo que lleva a un aumento de la glucotoxicidad con un mayor flujo a través de las vías del poliol y la hexosamina, incremento en la formación de PFGA y la activación de PKC (Brownlee, 2001; Khoury, 2015). Las ERO se han implicado en todas las diferentes etapas de ND, contribuyen a la hipertrofia glomerular, causan lesiones al podocito y promueven la fibrogénesis en los glomérulos y los túbulos (Gorin y Block, 2013; Khoury, 2013).

IV. Radicales libres (RL)

Un RL es un átomo o molécula con uno o más electrones desapareados en el orbital antienlazante, por lo que le confiere mayor reactividad (Kehrer et al., 2010). Los radicales más comunes en sistemas biológicos son especies reactivas de oxígeno (ERO), aunque existen otros como los de nitrógeno (Tabla 3) (Cruz-Aguado, 2015). Las ERO y especies reactivas de nitrógeno (ERN) desempeñan una doble función como compuestos beneficiosos y tóxicos para el sistema vivo. En niveles moderados o bajos, las ERO y ERN tienen efectos beneficiosos y participan en diversas funciones fisiológicas, como en la función inmune, en varias vías de señalización celular, en la respuesta mitogénica y en la regulación redox (Nordberg y Arner, 2001; Valko y col., 2007; Phaniendra y col., 2014). Sin embargo, los RL a concentraciones mayores pueden causar daños en las biomoléculas (Phaniendra y col., 2014).

Tabla 3. Lista de ERO y ERN producidas durante el metabolismo (16, 17, 19; Phaniendra y col., 2014)

Radical libre (RL)	Símbolo
Especies reactivas de oxígeno	
<u>Radicales</u>	
Superóxido	O ₂ •-
Hidroxilo	OH•
Radical alcoxilo	RO•
Radical peroxilo	ROO•
<u>No radicales</u>	
Peróxido de hidrógeno	H ₂ O ₂
Oxígeno singulete	¹ [O ₂]
Ozono	O ₃
Peróxido orgánico	ROOH
Ácido hipocloroso	HOCl
Ácido hipobromoso	HOBr
Especies reactivas de nitrógeno (ERN)	
<u>Radicales</u>	
Óxido nítrico	NO•
Dióxido de nitrógeno	NO ₂ •
<u>No radicales</u>	
Peroxinitrito	ONOO-
Catión nitrosilo	NO ⁺
Anión nitrosilo	NO-
Trióxido de dinitrógeno	N ₂ O ₃
Tetraóxido de dinitrógeno	N ₂ O ₄
Ácido nitroso	HNO ₂
Ácido peroxinitroso	ONOOH
Cloruro de nitrilo	NO ₂ Cl

Fuentes de RL

Las fuentes de RL pueden ser endógenas y exógenas. Las fuentes endógenas de RL son generadas intracelularmente de la autooxidación o inactivación de moléculas pequeñas y se derivan de la mitocondria, peroxisomas, retículo endoplásmico, células fagocíticas, etc. (Phaniedra y col., 2014). Las fuentes exógenas de RL por citar algunos ejemplos son el humo del tabaco, ciertos contaminantes ambientales, solventes orgánicos, anestésicos y pesticidas (Tabla 4). Los sitios de generación de radicales libres abarcan todos los constituyentes celulares, incluidas las mitocondrias, los lisosomas, los peroxisomas, el retículo endoplásmico, la membrana plasmática y los sitios dentro del citosol (Machlin y Bendich, 1987; Rao y col., 2011). Aparte de esto, ciertos medicamentos metabolizados a los productos intermedios de RL también causan daño oxidativo dentro de los tejidos diana (Rao, y col., 2011).

Tabla 4. Generación de ERO de fuentes exógenas (Phaniedra y col., 2014).

Contaminación del agua y aire Bebidas alcohólicas Humo de tabaco Metales de transición Cd, Hg, Pb, As Metales pesados Fe, Cu, Co, Cr Solventes industriales Pesticidas	Luz ultravioleta Cocción (carne ahumada, aceite usado, grasa) Drogas como halotano, paracetamol Bleomicina, doxorubicina, metronidazol, etanol. Tetracloruro de carbono (CCl ₄)
--	---

V. Antioxidantes

Por definición química, un antioxidante es cualquier sustancia capaz de retardar una reacción en cadena de RL que propaga la oxidación (pérdida de uno o más electrones) a otras moléculas (Frankel, 2007). Desde la perspectiva biológica, los antioxidantes son sustancias que ayudan a proteger a las moléculas de la oxidación (Frankel, 2007) mediante la eliminación de RL, de tal forma que esto favorece a la disminución de los efectos nocivos causados por el estrés oxidativo (Sen & Chakraborty, 2011).

Los antioxidantes se clasifican en diferentes categorías, aunque se recomienda dividirlos en endógenos, los que son sintetizados por la célula y exógenos o antioxidantes que ingresan al organismo a través de fuentes externas como los

alimentos (Tabla 5) (Rodríguez y col., 2001; Sánchez-Rodríguez y col., 2004; Ramos, 2006).

Tabla 5. Clasificación de los principales antioxidantes

Antioxidantes		
Endógenos		Exógenos
Enzimáticos		No enzimáticos
Directos	Indirectos	- Vitaminas E y C - Betacarotenos - Polifenoles
-Superóxido dismutasa SOD -Catalasa (CAT) -Glutación peroxidasa (GPx) -Glutación reductasa (GR)	Conjugación -Glutación sulfidril transferasa (GST) UDP-Glucuronil Transferasa (UDPGT)	
	NADPH: quinona óxidorreductasa (NQO)	
		Metabólicos - Glutación reducido (GSH) - CoQ10 - Melatonina - L-arginina - Ácido úrico - Proteínas quelantes de metales (transferrina y ferritina)

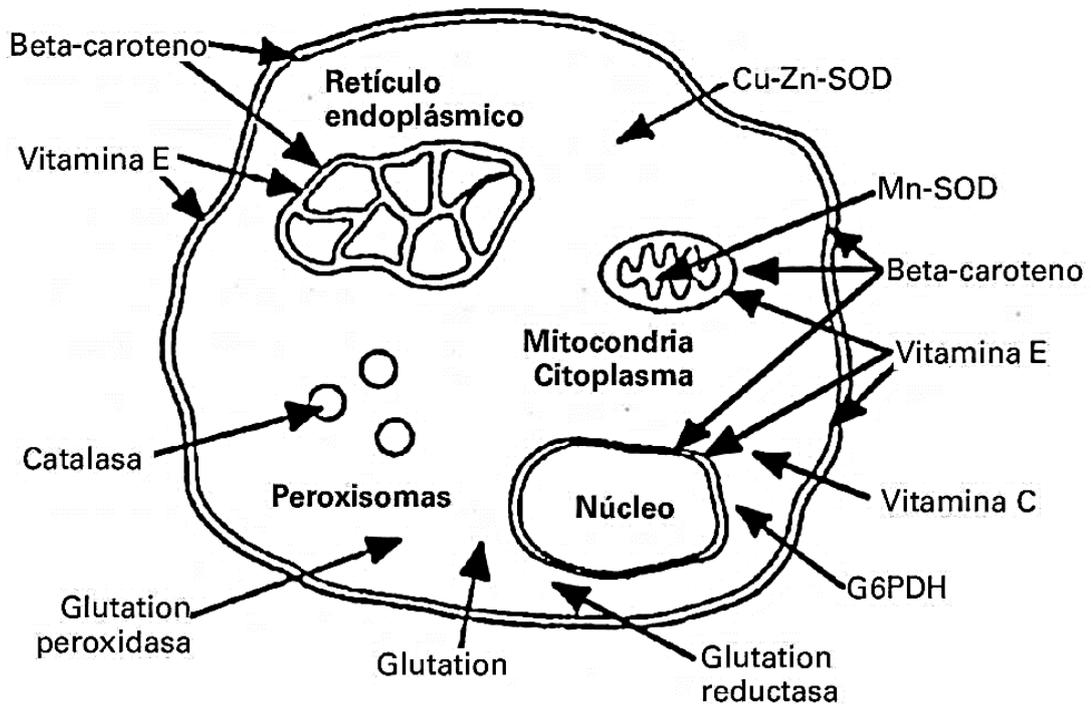


Figura 3. Lugar específico de acción de cada antioxidante dentro de la célula (Fardy y Silverman, 1995; Galván y col., 2008)

La defensa antioxidante del cuerpo

La defensa antioxidante del cuerpo consiste tanto de antioxidantes endógenos como de compuestos exógenos derivados de la dieta, que pueden ser clasificados en 3 amplias categorías: enzimas antioxidantes, enzimas que rompen cadenas y proteínas de unión a metales. Las principales enzimas antioxidantes de origen endógeno son la superóxido dismutasa (SOD), la catalasa (CAT) y la glutatión peroxidasa (GPx). Los antioxidantes que interfieren con las reacciones en cadena iniciadas por los RL se conocen como antioxidantes que rompen cadenas. Estos antioxidantes son pequeñas moléculas que pueden ser solubles en agua o solubles en lípidos. Algunos de estos antioxidantes se derivan de la dieta, como los carotenoides, los flavonoides y las vitaminas antioxidantes. Las proteínas endógenas como la ferritina, la transferrina y la ceruloplasmina también son proteínas antioxidantes importantes porque son capaces de unirse a iones metálicos, como el cobre y el hierro, por lo que los RL no se generan a través de la reacción de Fenton (Dasgupta y Kein, 2014).

Por lo general, las enzimas antioxidantes proporcionan la mejor defensa antioxidante, aunque todos los antioxidantes son importantes para la neutralización adecuada del estrés oxidativo (Dasgupta y Kein, 2014).

Enzimas antioxidantes

La enzima antioxidante superóxido dismutasa (SOD) neutraliza el radical aniónico superóxido dañino al convertirlo en peróxido de hidrógeno. Hay tres isoformas de superóxido dismutasa. SOD1 requiere tanto cobre como zinc para su función y se encuentra tanto en las mitocondrias como en el citosol. La superóxido dismutasa del manganeso (SOD2) se encuentra principalmente en la mitocondria. La tercera isoforma de superóxido dismutasa (SOD3) se encuentra fuera de las células. SOD3 también requiere cobre-zinc como cofactor. Las concentraciones de estas enzimas están reguladas por genes apropiados (Miao y Clair, 2009). SOD1 es un dímero, mientras que SOD2 y SOD3 son tetrámeros con un peso molecular más alto que SOD1 (Dasgupta y Klein 2014).

La catalasa (CAT), otra importante enzima antioxidante tetramérica, convierte el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, y por lo tanto neutraliza completamente el radical libre superóxido que fue dismutado por la superóxido dismutasa y convertido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (H₂O₂). La catalasa es un homotetrámero con un peso molecular de 240 kDa que se distribuye ampliamente dentro de las células. La catalasa requiere hierro como cofactor, que se adjunta al sitio activo (Kirkman y Gaetani, 2007; Dasgupta y Klein, 2014).

El glutatión peroxidasa (GPx) está presente en el citoplasma de las células y protege a la célula contra el daño oxidativo causado por el peróxido de hidrógeno y previene la formación de radicales hidroxilos a partir del H₂O₂. Se compone de cuatro subunidades de proteínas; cada uno de los cuales contiene un átomo del elemento selenio en su sitio activo. La GPx elimina el H₂O₂ acoplado su reducción a H₂O con la oxidación del glutatión (GSH) (Sen y Chakraborty, 2011).

Antioxidantes rompe-cadenas (ARC)

Los ARC son pequeñas moléculas capaces de neutralizar los radicales libres al romper la reacción en cadena iniciada por los radicales libres. Los ARC pueden ser de origen endógeno o exógeno. El ejemplo clásico de una reacción en cadena iniciada por los radicales libres es la peroxidación lipídica. Los ARC actúan ya sea donando un electrón o recibiendo un electrón de una especie de radicales libres, convirtiéndolo en una especie estable (Dasgupta y Klein, 2014).

Los ARC pueden clasificarse en dos categorías amplias: solubles en agua y solubles en grasa. El antioxidante que rompe cadena soluble en agua más importante es la vitamina C, que también se conoce como ácido ascórbico. La vitamina C es capaz de eliminar los radicales superóxidos, hidroxilo y peróxido acuoso, así como otros oxidantes, incluido el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso y el oxígeno singlete. En este proceso, la vitamina C se convierte en ácido deshidroascórbico, que eventualmente se descompone en ácido oxálico. El ácido úrico está presente en la sangre humana y actúa como un

antioxidante. El ácido úrico también forma complejos con el hierro, evitando así la reacción dañina de Fenton. Las moléculas de glutatión contienen tres aminoácidos. Esta molécula puede existir en estado reducido o en estado oxidado. En el estado reducido, el glutatión es un excelente antioxidante capaz de eliminar una variedad de radicales libres, y la reacción es catalizada por la glutatión peroxidasa. Dentro de la célula, la mayor parte del glutatión se encuentra en estado reducido porque también es útil para el buen funcionamiento de la glutatión peroxidasa. La bilirrubina, el producto final del catabolismo del hemo, es un excelente antioxidante que puede proteger a las células de los niveles tóxicos del peróxido de hidrógeno. La bilirrubina también puede neutralizar los radicales peroxilo (Stocker y col., 1987; Dasgupta y Klein, 2014).

El antioxidante que rompe cadenas solubles en grasa más importante es la vitamina E (tocoferoles y tocotrienoles), que existe en 8 estados diferentes. Sin embargo, el α -tocoferol, la forma común de la vitamina E, es muy eficaz para romper la reacción en cadena de la peroxidación lipídica. Los carotenoides también son importantes antioxidantes solubles en lípidos, y la forma más común es el β -caroteno. Estos antioxidantes también pueden neutralizar los radicales peroxilo, así como el oxígeno singulete. Además, el β -caroteno es un precursor de la vitamina A, que también tiene actividad antioxidante.

Los flavonoides son antioxidantes que se encuentran en las plantas y en los alimentos, como las frutas y los vegetales. Además, beber té o café puede proporcionar suficientes flavonoides para una adecuada defensa antioxidante del cuerpo humano. La forma reducida de la coenzima Q10 (también conocida como ubiquinol-10) es un eficaz antioxidante que rompe cadenas solubles en lípidos y es capaz de eliminar el radical peroxilo del lípido. Es un antioxidante eficaz que previene la oxidación dañina del colesterol de lipoproteínas de baja densidad (Hegde y col., 2013; Dasgupta y Klein, 2014).

Tabla 6. Diferentes antioxidantes y sus efectos (Sen y Chakraborty, 2011).

ANTIOXIDANTE	UBICACIÓN/FUENTE	OBSERVACIONES
SOD	Citosol, mitocondria, núcleo, plasma	Dismutación del H ₂ O ₂
CAT	Peroxisomas	Dismutación de H ₂ O ₂ al oxígeno molecular y agua
GPx	Citosol, mitocondria	Reducción de H ₂ O ₂ y otros hidroperóxidos, peróxidos lipídicos, productos de lipoxigenasa
GR	Citosol, mitocondria	Reducción de disulfuros de bajo peso molecular
GSH	Un tripéptido que está presente en altas concentraciones en la mayoría de las células eucarióticas. Está presente dentro del citosol y es el principal compuesto intracelular tiol no proteico	Sustrato en el ciclo redox de GSH, actúa como un reductante, reduce H ₂ O ₂ directamente a agua dentro de la formación de GSSG. También reacciona con los radicales anión superóxido, hidroxilo y alcoxilo directamente mediante un proceso de transferencia de radicales e inhibe el daño tisular. GSH es capaz de eliminar ERO directamente o enzimáticamente a través de GPx.
Ácido úrico	Amplia distribución	Antioxidante efectivo eliminador del oxígeno singulete y radicales como anión superóxido, hidroxilo y alcoxilo y se une con metales de transición
CoQ10	Sintetizada en células humanas y también se encuentra en el salvado de trigo	Inhibe la peroxidación lipídica, reduce el EOX mitocondrial y también es capaz de reciclar la vitamina E
Transferrina	Principal proteína transportadora de hierro en el cuerpo	Se une a sales de hierro libres, lo que puede conducir a la generación de ERO
Ceruloplasmina	Una proteína que une metales extracelularmente	Es una proteína que une cobre. Cataliza la oxidación de Fe ²⁺ a Fe ³ mientras el oxígeno es reducido a agua
Bilirrubina	Flujo sanguíneo en tejido, plasma y lugar extravascular. Es el componente principal de los glóbulos rojos	Es un producto final del catabolismo del hemo, generalmente visto como producto de desecho citotóxico, soluble en lípidos. Pero a concentraciones micromolares in vitro, elimina

		eficazmente los radicales peroxilo y protege el ácido linoleico unido a la albúmina de la oxidación inducida por el radical peroxilo.
Vitamina E	Presente relativamente en altas concentraciones tanto en células y membranas mitocondriales. Se encuentra en el limón, naranja, aceite de oliva y de palma, nueces, germinados, etc.	Eliminador directo de los radicales superóxido e hidroxilo, regulación positiva de las enzimas antioxidantes, rompe las reacciones de la cadena de peroxidación lipídica.
Vitamina C	Se encuentra en el limón, naranja, aceite de oliva y de palma y germinados.	Eliminador de los radicales superóxido, hidroxilo, neutraliza oxidantes estimulados de neutrófilos, regenera la vitamina E
Carotenoides: α-caroteno, β-caroteno, γ-caroteno, crocina, β-criptoxantina, licopeno, luteína, zeaxantina, bixina, astaxantina capsorubina cantaxantina	Manzanas, plátano bayas, uvas, kiwi, limón, mango, piña naranja, papaya, sandía dulce, patata, ciruela, zanahoria, espárragos, remolacha, berenjena, brócoli, col de Bruselas, tomates, espinacas, coliflor, maíz, cebollas, coles, frijoles, pepino, seta, chiles, aceite de palma roja, leche, yogur, huevos y plantas medicinales	La actividad antioxidante de los carotenoides se basa en su actividad de inactivación del oxígeno singulete. Los carotenoides se encuentran útiles en el cáncer, enfermedades cardiovasculares, cataratas, infección por VIH. Caroteína útil para disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y ciertos tipos de cáncer; luteína y zeaxantina efectiva en trastornos oculares; La α-y β-caroteína y la β-criptoxantina pueden convertirse en vitamina A y su papel relacionado en el desarrollo y la prevención de enfermedades; el licopeno es eficaz en el cáncer, enfermedades cardiovasculares, osteoporosis, enfisema.
Flavonoides		
Antocianidinas	Moras, arándanos, fresas, ciruela	Los flavonoides tienen capacidad para eliminar los radicales hidroxilo, los aniones superóxido y los radicales peroxilipídicos. Diferentes flavonoides se han encontrado efectivos en varios estudios clínicos y preclínicos. Algunos de los efectos importantes de los flavonoides
flavonoles (miricetina, quercetina y kaempferol)	Manzana, tomate, cereza, brócoli, cebolla	
Isoflavonoides (Anisol, cumestrol, daidzeína, genisteína)	La soya, los alimentos de soya, leguminosas Guisantes altramuces, habas de soya	

Flavonas (apigenina, luteolina)	Espicias de hojas verdes. (perejil)	incluyen: antiulceroso, antiviral, antiinflamatorio, antiartritis, antiosteoporótico, antidiarreico, antiaterosclerótico, agregación de plaquetas y efectos antitrombogénicos,
Flavanones (naringenina, hesperetin. Eridictyol)	Frutas cítricas (naranja, limón)	
Flavanol (epicatequina, catequina)	Té, uvas rojas, chocolate, cacao bebidas, vino tinto	
Otros polifenoles: ácido cinámico, cumarina taninos condensados, hidroxibenzoico ácido gálico, ácido vanílico, ácido hidroxicinámico ácido cafeico ácido caftárico ácido clorogénico ácido, cumárico ácido ferúlico, ácido sinápico, proantocianidinas	Verduras de hoja verde, ciruela, moras, arándanos, fresas, manzana, tomate, cereza, brócoli, cebolla	

Agentes antioxidantes en la ND

Los antioxidantes como la taurina, la acetil-L-carnitina, el ácido alfa lipóico, la vitamina E, el ácido ascórbico, la curcumina, etc. han mostrado una reducción significativa en la progresión de la ND. Como el EOX es uno de los principales culpables de la progresión de la ND, la inhibición del EOX por los compuestos antioxidantes puede proporcionar un nuevo enfoque en el tratamiento de la ND mediante el uso de agentes de origen vegetal (Negi y col., 2011; Dhodi y col., 2014).

Antioxidantes de origen vegetal en la ND

Las plantas se consideran fuentes naturales ricas en antioxidantes y algunos extractos herbales se probaron en un modelo de ND. Algunos de estos productos de origen vegetal con sus efectos benéficos sobre la ND y el posible mecanismo de acción se resumen a continuación (Al-Waili y col., 2017).

Tabla 7. Efecto de algunas especies vegetales en la ND (Al-Waili y col., 2017).

Nombre de la planta/compuesto activo	Efecto en la ND en un modelo de rata	Mecanismo de acción
<i>Cúrcuma sp. curcumina</i>	-Induce la expresión de SOD, CAT, GR, GPx, HO-1 y GST, disminuye proteinuria, niveles de urea en sangre, protege los riñones de ratas o ratones con DM, Inhibe la expresión génica inflamatoria y mejora la ND, -Previene la transición epitelial mesenquimal de los podocitos y proteinuria, -Disminuye la albuminuria y atenúa la esclerosis glomerular, - Reduce el área mesangial, proteinuria y creatinina sérica basal	-Antioxidante y -Antiinflamatorio -Inducción de Nrf2 -Suprime la fosforilación de caveolina-1. -Inhibe la fosforilación de STAT3 y la degradación de IκB (inhibidor de NF-κB)
<i>Camellia sinensis (L.) Kuntze</i> Epigallocatequina-3-galato, catequina	-Tiene propiedades renoprotectoras comparables con el inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina. -Reducción de la glucemia, hemoglobina glicosilada, creatinina sérica basal y niveles de urea en sangre -Atenúa la proteinuria, hiperfiltración, glomeruloesclerosis, y fibrosis túbulointersticial	-Antioxidante y Antiinflamatorio. Aumenta el ARNm de Nrf2 y NQO1 -Disminuye las vías de proteína cinasa b, cinasa de señalización extracelular, NFκB Activa la proteína Sirtuina-1 deacetilasa dependiente de NAD
<i>Gingko biloba L.</i>	-Reduce el EOX, y mejora la estructura del tejido renal y funciones renales -Protege contra la glomeruloesclerosis. -Disminuye la glucemia, creatinina sérica, niveles de urea en sangre y proteinuria. -Inhibe la producción de PFGA. -Mejora la estructura del tejido renal y las funciones renales. -Disminuye la excreción de albúmina urinaria.	Antioxidantes y antiinflamatorios. Inhibe la formación de productos finales de la glicación avanzada. Reduce el factor de crecimiento de tejido conectivo y TGF-β1 Aumenta Nrf2 y regula positivamente la hemo oxigenasa-1
<i>Rosmarinus officinalis L.</i> (Ácido rosmarínico) (Ácido carnósico)	Disminuye la necrosis glomerular focal, dilatación de la cápsula de Bowman, degeneración del epitelio tubular, necrosis en el epitelio tubular y dilatación tubular. Previene lesiones por isquemia / reperfusión en los riñones. controla la glomeruloesclerosis	Antioxidante y antiinflamatorio. Inhibe CTGF Reduce NFκB Aumenta la glutatión transferasa, la actividad de la proteína anti-apoptótica Bcl-2 y eliminador del peroxinitrito. Activa Nrf2

VI. Género *Buddleja*

Existen unas 100 especies arbóreas del género *Buddleja* extendidas en el Este de Asia, América, Sudáfrica y otras regiones del mundo (Ahmad y col., 2008). Este género se distribuye desde Chihuahua hasta el sur de Argentina (Norman, 1973; Carrillo, 2012). Aproximadamente existen unas 20 especies distribuidas en México y 5 en el valle de México (Vargas, 1985). Algunas especies de este género pueden ser destinadas para diferentes usos (Romero y col., 2003).

Descripción de *Buddleja cordata* Kunth

Buddleja cordata se conoce como Tepozán (Figura 4), se clasifica en la familia de las Escrofulariáceas (González-Rebeles, 2012; García-García y Cano-Santana, 2015). Planta con el envés de las hojas provisto de pelos estrellados aplicados y pelos estrellados laxos, grandes, candelabroiformes; corola amarillenta, generalmente con un toque anaranjado en la garganta. El Tepozán se encuentra ampliamente distribuido en el Valle de México a una altitud de 2250-3000 msnm. Crece en Matorrales, pastizales y bosques, pero preferentemente en la vegetación secundaria y en lugares intensamente perturbados, incluyendo zonas urbanas. En ocasiones nace espontáneamente cerca de lasa casa y se deja como árbol de ornato; sus hojas se utilizan en infusión para evitar el exceso de sudor y como diurético (Vargas, 1985).

Es un árbol o arbusto dioico de 2 a 15 m de alto, tronco de 10 a 45 cm de diámetro en la base, corteza rugosa de color café a negruzca; ramas jóvenes cuadrangulares; líneas estipulares o estípulas foliosas presentes, pecíolo de 1 a 5.5 cm de largo, lámina lanceolada, ovada u oblonga a elíptica, de 5 a 28 cm de largo por 2 a 13 cm de ancho, ápice de agudo a acuminado, base cordada, obtusa o truncada, margen entero, serrado o serrulado, venación prominente en el envés, textura un tanto coriácea, haz de las hojas jóvenes tomentoso, a menudo con pelos glandulares, sobre todo cerca de las venas, caducos con el tiempo, haz de las hojas maduras glabro a glabrescente, envés con tomento adpreso y en ocasiones con tomento espeso, flocoso;



Figura 4. *Buddleja cordata* (Tepozán).

inflorescencia paniculada, terminal, de 14 a 28 cm de largo por 15 a 27 cm. de ancho, ramificada de 2 a 4 veces, con brácteas en cada ramificación, flores en grupos de 5 a 10 por címula, ésta de 0.5 a 1 cm de diámetro, brácteas en la base de las flores, lineares, de 1.5 a 2.5 mm de largo, lóbulos de 0.8 a 1.2 mm de largo por 0.6 a 1.2 mm de ancho; corola campanulada, de color blanco, crema o amarillo, volviéndose anaranjada en la madurez, tubo de 1.5 a 2.5 mm de largo, lóbulos extendidos, imbricados en el botón, oblongos a ampliamente obovados, de 1 a 2 (2.1) mm de largo por 1 a 1.5 mm de ancho, ápice redondeado, tomentosos por fuera, con pelos filiformes por dentro; estambres subsésiles o con filamentos, insertos ligeramente debajo del seno de los lóbulos; cápsula ovoide a elipsoide, tomentulosa y glandular, de dehiscencia septicida; semillas elipsoides a ovoides, aladas, de 1 a 2 mm de largo por 0.2 a 0.6 mm de ancho (Rzedowski y Rzedowski, 1985; Camacho y col., 2009).

Distribución de *Buddleja cordata*

Se extiende del norte de México hasta Guatemala (Figura 5) en altitudes que van de los 1500-3000 msnm (Ávila y col., 2014). Se desarrolla en hábitats

perturbados con vegetación secundaria y sitios urbanos (Camacho et al., 2009).



Figura 5. Distribución de *Buddleja cordata* en México y a nivel mundial (Norman, 1973; Carrillo, 2012).

Situación taxonómica de *Buddleja cordata*

Tabla 8. Situación taxonómica de *B. cordata*

Reino	Plantae
Phylum	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Lamiales
Familia	Scrophulariaceae
Género	<i>Buddleja</i>
Especie	<i>Buddleja cordata</i> Kunth
Nombre común	Tepozán

Usos medicinales de *Buddleja cordata*

El Tepozán se considera benéfico para aliviar heridas, úlceras, abscesos y granos. Además, se ha reportado que se utiliza en el tratamiento del cáncer y la diabetes mellitus (Argueta y cols., 1994).

Los grupos étnicos tarahumaras la conocen como matowi o wasala y las partes de la planta que utilizan son las hojas y la corteza para curar heridas e inflamación (Bye, 1983; Cárdenas, 1993; Martínez, 1999). En la tabla 9 se muestran algunos usos medicinales de *Buddleja cordata*.

La gente ha utilizado sus hojas en forma de cataplasma para tratar tumores, abscesos, llagas y quemaduras. Las decocciones de las raíces, las hojas y la corteza de *B. cordata* tienen efectos diuréticos cuando se administran por vía oral, mientras que la aplicación tópica se utiliza para curar heridas y dolores reumáticos (Adedapo, 2009; Alonso-Castro y col., 2011; Espinoza-González y col., 2016).

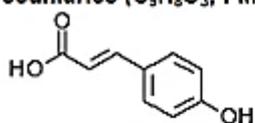
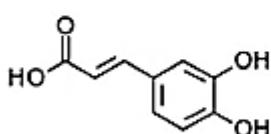
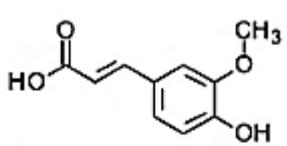
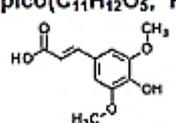
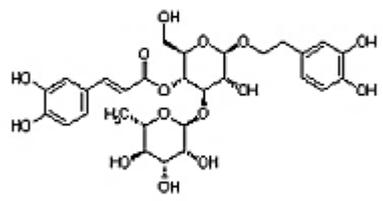
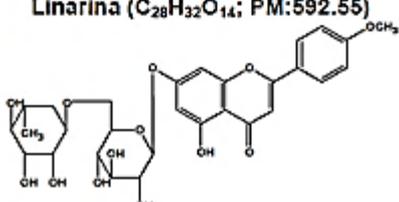
Las decocciones de las hojas, las raíces y la corteza se usan como un diurético que se administra por vía oral y se aplica tópicamente para curar heridas y dolores reumáticos (Martínez, 2010; Ávila y col., 2014).

Tabla 9. Usos medicinales de *B. cordata* (Martínez, 1999).

USO POPULAR	PORTE DE LA PLANTA	VIA DE ADMINISTRACION
Enfermedades hepáticas	Hojas	Oral
Afecciones cutáneas	Hojas	Tópica
Dolores de cabeza	Hojas	Oral
Antileproso	Hojas	Tópica
Antiasmático	Hojas	Oral
Antitusivo	Hojas	Oral
Tratamiento de la bronquitis	Hojas	Oral
Eupéptico	Hojas	Oral
Antiséptico	Hojas	Oral
Analgésico	Hojas	Oral
Anti-inflamatorio	Hojas	Oral
Antidiarreico	Hojas, corteza y raíz	Oral
Antipirético	Hojas, corteza y raíz	Oral
Antitumoral	Hojas, corteza y raíz	Oral
Antipalúdico	Raíz	Oral
Hipnótico	Raíz	Oral
Contracciones uterinas	Toda la planta	Oral
Diurético	Toda la planta	Oral
Antiespasmódico	Toda la planta	Oral
Tratamiento de la cirrosis	Toda la planta	Oral
Tratamiento de disfunciones biliares	Toda la planta	Oral

Fitoquímica de *Buddleja cordata*

Tabla 10. Metabolitos secundarios relacionados a las propiedades medicinales de *Buddleja cordata* (Estrada, 2010)

Fenilpropanoide	Actividades
<p>Ácido <i>p</i>-coumárico (C₉H₈O₃; PM: 164.16)</p> 	<p>Inhibidor de aldosa reductasa: 4 µg/ml (débil actividad) Antileucémico; IC50=25-56 µg/ml; Antioxidante; 1/3 BHA; IC24=30 ppm Otras: Alelopático, Antimicrobiano Antihepatotóxico, Antitumoral, Pesticida</p>
<p>Ácido cafeico (C₉H₈O₄; PM: 180.16)</p> 	<p>Inhibidor de aldosa reductasa: 4 µg/ml (débil actividad) AntiHIV: EC50=200 µg/ml Antioxidante: 1/2 BHA; 1/3 quercetina; 30 mM; 50 µM; IC57=30 ppm Antitumoral (piel): 200 ppm (dieta) Citotóxico: TC50=200 µg/ml Fungicida: MIC=0.4 mg/ml; Protector solar: IC50=2.5 mg/l; IC91=5 mg/l; IC98=25 mg/l Otras :Analgésico, Antibacterial, Quelante, Antihepatotóxico, Antiinflamatorio, Diurético</p>
<p>Ácido ferúlico (C₁₀H₁₀O₄; PM: 194.19)</p> 	<p>Antileucémico; IC50=25-56 µg/ml Antioxidante: 1/2 BHA; 1/3 quercetin; 3,000 µM; EC50=9-15 µg/ml; IC51=200 ppm Uterosedativo: 30-100 mg/kg en ratas Otras: Alelopático, Analgésico, Antimicrobiano, Anticancerígeno (colon, estómago, hígado, piel), Antiinflamatorio, Antiviral, Herbicida, Quelante, Pesticida, Protector solar</p>
<p>Ácido sinápico (C₁₁H₁₂O₅; PM: 224.21)</p> 	<p>Antioxidante: IC27=30 ppm Otras: Antibacterial, Antihepatotóxico, Preventivo de cáncer, Fungicida, Pesticida</p>
<p>Verbascósido (C₂₉H₃₆O₁₅; PM: 624.21)</p> 	<p>Inhibidor de aldosa reductasa: IC50=0.39-15.1 µM; Antileucémico: ED50=2.6 µg/ml Antioxidante: ED50=1 µM Citotóxico: ED50=2.6 µg/ml Fungicida: MIC=0.4 mg/ml Protector solar: SPF 24 (Ávila y col., 2005) Otras: Analgésico, Antibacterial, Antihepatotóxico, Antihipertensivo, Antiinflamatorio, Antiviral (Nezbedová y col., 1999), Protector del DNA (Zhao y col., 2005), Neuroprotector (Guo-Qing y col., 2002), Parasiticida (Díaz y col., 2000), Inhibidor de la Proteína Cinasasa C, Pesticida, Fitoalexina</p>
<p>Linarina (C₂₈H₃₂O₁₄; PM: 592.55)</p> 	<p>Inhibidor de aldosa reductasa: IC20=10 µM Protector solar: SPF 9 (Ávila y col., 2005) Otras: Analgésico (Martínez-Vázquez y col., 1996), Antipirético (Martínez-Vázquez y col., 1996), Antiinflamatorio (Martínez-Vázquez y col., 1998), Amebicida (Rodríguez-Zaragoza y col., 1999), Sedativo y potenciador de sueño (Fernandez y col., 2004)</p>

Las especies del género *Buddleja* producen constituyentes fenólicos como los flavonoides y los fenilpropanoides los cuales son ricos en linarina y verbascósido (Martínez-Vásquez y col., 1996; Ávila y col., 2005; Ávila y col., 2014).

VII. Justificación

A pesar de que se han desarrollado nuevos fármacos para controlar la progresión de la DM a la enfermedad renal, los tratamientos siguen siendo escasos, costosos y hasta ineficientes. Dado que el EOX es el principal mediador sobre el daño renal en modelos animales, la inhibición del EOX con antioxidantes de origen vegetal podría prevenir la progresión de la enfermedad a muy bajo costo. *B. cordata* es una especie con amplia distribución en México y ha mostrado capacidad antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo*. Por lo tanto, *B. cordata* podría ser una fuente potencial de antioxidantes para desarrollar nuevos tratamientos terapéuticos sobre el daño renal en la DM. Asimismo, esta investigación permite la continuación de nuevos estudios farmacológicos, toxicológicos, entre otros.

VIII. Pregunta de investigación

¿Qué efecto tienen los antioxidantes del extracto metanólico de *Buddleja cordata* sobre el daño renal en la DM?

IX. Antecedentes

Ávila y col. (2014) investigaron las propiedades fotoprotectoras del extracto metanólico de *Buddleja cordata* contra el daño cutáneo inducido por radiación ultravioleta (RUV) en ratones sin pelo SKH-1. El extracto metanólico de *B. cordata* mostró absorbancia en todo el espectro de RUV y presentó altas concentraciones de linarina y verbascósido. El extracto metanólico de *B. cordata* exhibió actividad antioxidante y eliminó los radicales hidroxilos. El extracto metanólico de *B. cordata* redujo el eritema, la producción de células de

quemaduras solares, la congestión de vasos y el engrosamiento epidérmico del ratón irradiado con RUV. La administración tópica del extracto metanólico de *B. cordata* puede prevenir el daño solar.

Ávila y col. (1998) evaluaron el modo de acción del verbascósido obtenido de *B. cordata* contra *Staphylococcus aureus* por cinética de eliminación. El efecto letal inducido por verbascósidos sobre *S. aureus*, elimina a esta cepa bacteriana al inhibir la captación de leucina para la síntesis de proteínas.

Backhouse y col. (2007) investigaron los efectos analgésicos, antiinflamatorios y antioxidantes de los extractos metanólico y hexánico de *Buddleja globosa* mediante pruebas *in vivo e in vitro*, con el fin de validar su uso medicinal. Los extractos mostraron actividad analgésica y antiinflamatoria. El verbascósido y luteolina fueron los principales componentes del extracto metanólico. La inhibición del anión superóxido, lipoperoxidación y DPPH fueron observados en los extractos.

Ahmad y col. (2008) investigaron los compuestos químicos del extracto metanólico de *B. crispa* responsables de la actividad antioxidante e inhibitoria contra la enzima lipoxigenasa. Identificaron siete iridioides, buddlejósido A, buddlejósido B, buddlejósido C, genipina, b-gardiol, buddlejósido A2 y buddlejósido A5.

Kim y col. (2011) estudiaron los efectos protectores de la linarina aislada de *B. officinalis* sobre la respuesta en cultivos de células osteoblásticas MC3T3-E1 al estrés oxidativo. Los resultados indican que la linarina protege los osteoblastos contra la disfunción osteoblástica inducida por peróxido de hidrógeno y redujo el daño oxidativo.

Pendota y col. (2014) evaluaron la actividad antiinflamatoria, antioxidante y los parámetros *in silico* de tres compuestos aislados de *B. salviifolia*: 4'-hidroxifenil etil vainillato, acteósido y quercetina. El acteósido fue el más efectivo en todos los ensayos, mostró una capacidad antioxidante (CA₅₀) de 63.30 µg/mL. La actividad demostrada de estos compuestos sugiere que podría ser satisfactorio en el manejo de condiciones antiinflamatorias.

X. Hipótesis

Buddleja cordata se utiliza en la medicina tradicional popular y ha mostrado efecto antioxidante tanto *in vitro* como *in vivo*. Si el extracto metanólico de *B. cordata* tiene actividad antioxidante, entonces podría tener efecto antioxidante en un modelo de DM sobre el daño renal.

XI. Objetivos

General

Evaluar el efecto del extracto metanólico de las hojas de *Buddleja cordata* sobre el daño renal en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina.

Particulares

Obtener el extracto metanólico de la parte aérea de *Buddleja cordata* por el método de extracción Soxhlet.

Conocer la composición fitoquímica general del extracto metanólico de *Buddleja cordata* mediante pruebas coloridas.

Evaluar la capacidad antioxidante de la parte aérea de las hojas de *Buddleja cordata* ante la prueba de DPPH.

Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto metanólico de *Buddleja cordata*.

Caracterizar el modelo de DM en ratas Wistar macho por inducción con STZ.

Evaluar el efecto del extracto metanólico de *Buddleja cordata* sobre la actividad de las enzimas antioxidantes de la corteza renal de ratas diabéticas.

XII. Material y métodos



Figura 6. Ubicación de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel de Ciudad Universitaria, UNAM, Distrito Federal, México. En color rojo pertenece a la zona núcleo de la REPSA. La zona de muestreo (color amarillo) pertenece a la zona de amortiguamiento de la REPSA (Recuperado de: <http://www.repsa.unam.mx/index.php/ubicacion>).

Colecta de la especie

Las hojas de *Buddleja cordata* se colectaron el 1 de marzo de 2016 en la zona de amortiguamiento de la Reserva Ecológica del Pedregal de San Ángel (REPSA) (Figura 6), Ciudad de México, entre las coordenadas 19° 19' 40.26"N 99° 10' 40.3"W (Figura 7). El material vegetal se trasladó al laboratorio de Farmacología de la UIICSE, FES-Iztacala, UNAM. Se obtuvo un total de 1 kg de material fresco de las hojas y posteriormente se secaron a temperatura ambiente.

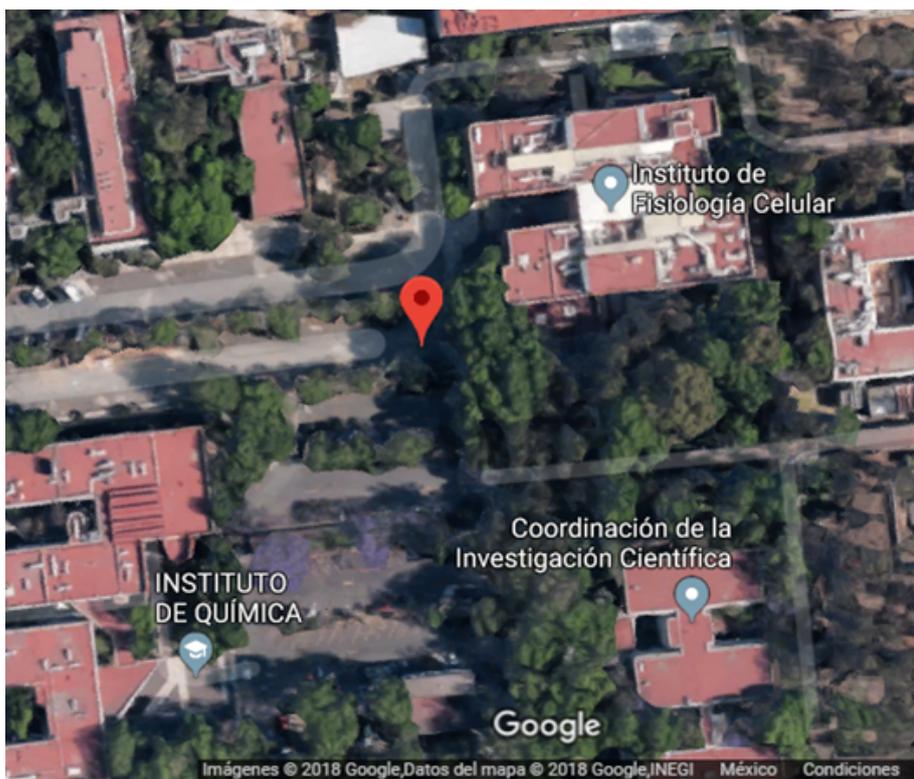


Figura 7. Zona de muestreo. Mapa para 19° 19' 40.26"N 99° 10' 40.3"W.

Identificación de la especie

Se herborizaron dos muestras de la parte aérea de *Buddleja cordata* y se depositaron en el Herbario de la FES Iztacala, UNAM. Posteriormente, fue identificada.

Preparación y obtención del extracto

Las hojas de *Buddleja cordata* se secaron, se trituraron (Figura 8), se pesaron y se extrajeron con metanol por el método Soxhlet (Caldas, 2012).

El sistema de extracción soxhlet se compone de un matraz de bola de fondo plano, una cámara de extracción y un condensador (Figura 9).

Se colocaron 30g de las hojas trituradas de *Buddleja cordata* en un cilindro de papel filtro (cartucho) y se introdujo el cartucho en la cámara de extracción. Posteriormente, se vertieron 300 mL de metanol en un matraz de bola de fondo plano, se montó el equipo y se calentó a 55 °C hasta ebullición. Después de

evaporarse, el solvente es condensado y cae en la cámara del equipo, en el cual se extrae el contenido de las hojas trituradas. Una vez que el tubo de extracción está lleno de solvente este es sifoneado hasta el matraz de bola que contiene el resto del solvente y el proceso es repetido de forma exhaustiva. El precipitado resultante se dejó secando a 55 °C y se almacenó a 4°C



Figura 8. Hojas de *Buddleja cordata* trituradas con una licuadora.

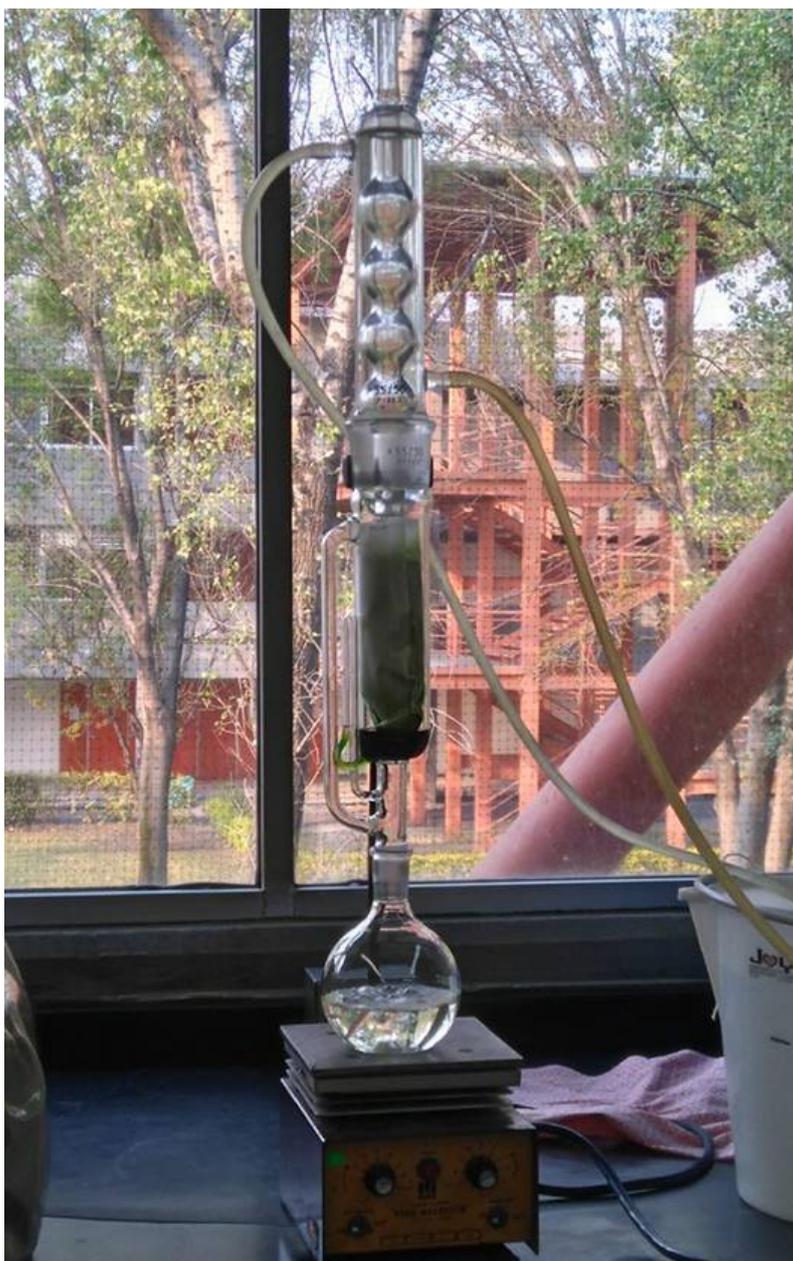


Figura 9. Montaje del equipo Soxhlet para la preparación del extracto metanólico de las hojas de *Buddleja cordata* con el método de extracción exhaustiva.

Análisis fitoquímico preliminar

Se detectaron los principales grupos de metabolitos del extracto metanólico de las hojas de *Buddleja cordata* (EMHBC) mediante pruebas cualitativas para alcaloides, terpenos, glicósidos (Miller, 2001), quinonas, coumarinas, esteroides, fenoles y saponinas (Dey y Harbone, 1989). A continuación, se presentan en la Tabla 11.

Tabla 11. Pruebas cualitativas para identificar metabolitos en el extracto metanólico (Dey y Harbone, 1989).

GRUPO	REACTIVO	COLORACIÓN
Alcaloides	Dragendorff	precipitado café
Fenoles	Cloruro férrico	Azul o verde
Glicósidos	Molish	Anillo morado
Monoterpenos	Vainillina en ácido	Azul o verde
Saponinas	Agua caliente	Prueba de espuma

Ensayos *in vitro* de la actividad antioxidante

DPPH

La capacidad antioxidante del EMHBC se determinó midiendo el porcentaje de decoloración del radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidracilo) en solución metanólica. El DPPH absorbe a un máximo de 517 nm cuando reacciona con un compuesto antioxidante, sufre una decoloración de morado a amarillo.

La actividad antioxidante se determinó utilizando el método de Villano y col. (2006). Se preparó un stock del extracto a 100 ppm. El extracto se evaluó a diferentes concentraciones y 50 µL de cada concentración (9, 18, 27, 36, 45, 54, 63, 72 y 90 µg/mL). Las placas se incubaron en oscuridad durante 30 min, posteriormente, se midió su absorbancia a 517 nm utilizando un lector de microplacas ELISA Thermo Scientific, EE. UU. (Figura 10). Los ensayos se hicieron por duplicado.

La actividad antioxidante se expresa como porcentaje de inhibición lo cual corresponde a la cantidad de radical DPPH neutralizado por el extracto a una determinada concentración, de acuerdo a la siguiente ecuación: $\% I = [(Abs_0 - Af) / Abs_0] \times 100$. Donde Abs_0 es la absorbancia de DPPH y Af es la absorbancia de la muestra. La disminución de la absorbancia de la mezcla de reacción indica una mayor actividad de eliminación de radicales DPPH.

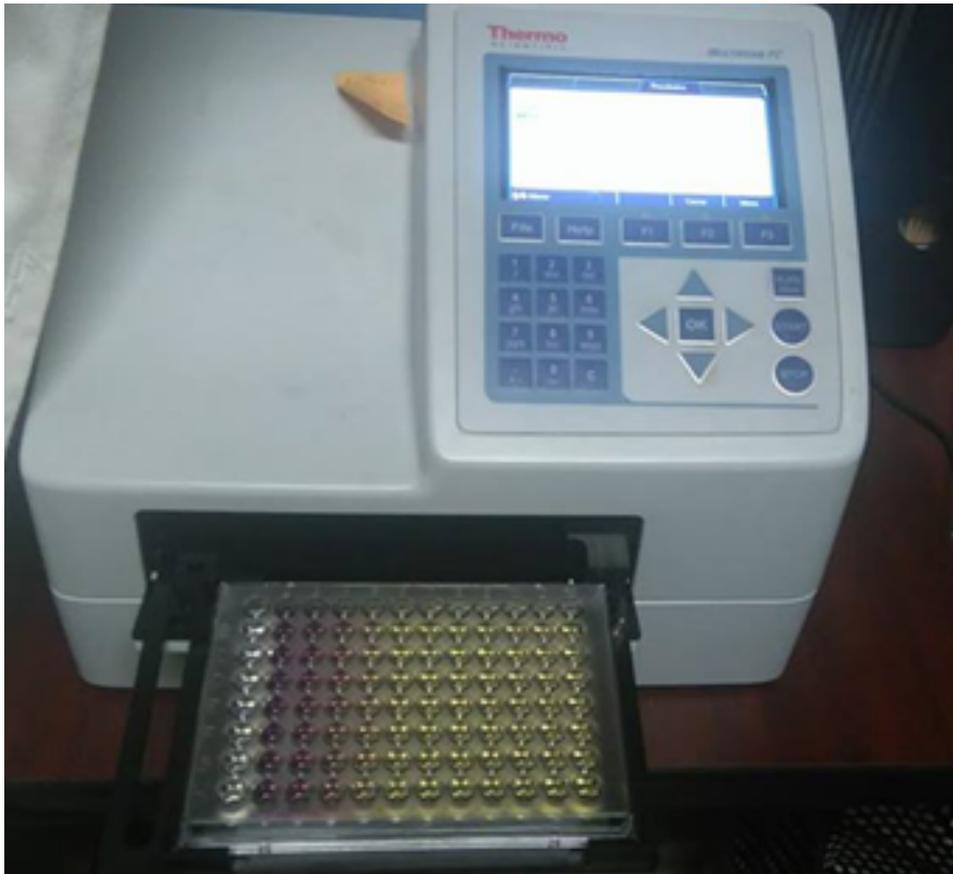


Figura 10. Lector de microplacas ELISA Thermo Scientific EE. UU.

Se utilizó la ecuación de línea de tendencia y se determinó la concentración de compuestos antioxidantes requeridos para reducir un 50% el radical (CA_{50}), mediante la transformación de esta ecuación. Valores bajos de CA_{50} indica una actividad antioxidante alta. La quercetina (control positivo) se utilizó como compuesto de referencia para la evaluación de la actividad de eliminación de radicales libres. Como blanco se utilizó metanol (MeOH) y control negativo MeOH + DPPH.

Cuantificación de fenoles totales por el método Folin Ciocalteu

El contenido total de polifenoles de EMHBC se determinó usando la técnica del reactivo de Folin-Ciocalteu (Singleton y col., 1999). Los ensayos se realizaron por triplicado. Los polifenoles totales se expresaron como μg equivalentes de ácido gálico por gramo de extracto (Avila y col., 2014).

Reproducción del modelo de DM

Obtención de los animales de experimentación

Se utilizaron ratas Wistar macho (Figura 11) con un peso entre 230 y 250g; las ratas se obtuvieron del Bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Posteriormente, se trasladaron al laboratorio de farmacología para su aclimatación durante 3 días.



Figura 11. Rata Wistar macho.

Se formaron cuatro grupos experimentales asignando aleatoriamente cinco ratas en cada grupo. Los grupos se dividieron de la siguiente manera: Grupo control sin inducción a DM (C1), grupo control inducido a DM, (DMC2) y grupos inducidos a DM tratados con el extracto de *Buddleja cordata* en dosis de 100 mg/kg (DMT3) y 200 mg/kg (DMT4) (Tabla 12).

Tabla 12. Grupos experimentales y sus tratamientos

Grupo	C1	DMC2	DMT3	DMT4
Tratamiento	Buffer de citratos	ninguno	EMHBC (100 mg/kg)	EMHBC (200 mg/kg)

Las ratas se mantuvieron en ayunas durante 8 h y después se les cuantificó la glucosa mediante punción de la vena caudal y se obtuvo una gota de sangre la cual fue analizada con un glucómetro ACCU-CHEK Active. Al grupo C1 se le

administró buffer de citratos y a los grupos restantes (DMC2, DMT3 y DMT4) se les administró STZ (65 mg/kg), por vía intraperitoneal. Transcurrido 48 h de la inducción, se midió nuevamente la glucosa en sangre para corroborar la hiperglucemia. El EMHBC se disolvió en propilenglicol (vehículo) y se administró por vía oral en dosis de 100 mg/kg en el grupo DMT3 y 200 mg/kg en el grupo DMT4. Los grupos C1 y DMC2 recibieron solamente el vehículo (Dogan y col., 2015).

Después de 6 semanas las ratas se colocaron en las cajas metabólicas (Figura 12) para cuantificar la ingesta de agua, el volumen urinario y la ingesta de alimento en 24 h. La ingesta de alimento se calculó restando el peso del alimento inicial (100 g) menos el peso del alimento sobrante. La ingesta de agua se calculó restando el volumen de agua inicial (200mL) menos el volumen del agua sobrante.



Figura 12. Cajas metabólicas.

Determinación de la hipertrofia renal

Relación peso renal/peso corporal (PR/PC)

La hipertrofia renal se calculó con el índice de hipertrofia renal para el cual, se obtiene del peso del riñón húmedo en miligramos y se divide con el peso corporal en gramos (mg/g). Para la extracción de los riñones, las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (45 mg/kg, vía ip). El riñón derecho se descapsuló y se separó la corteza renal y el otro riñón se colocó en p-formaldehído al 4% en solución salina amortiguada con fosfatos, pH 7.4. Después se obtuvo el índice del peso renal en miligramos y del peso corporal en gramos.

Determinación de la función renal

Cuantificación de proteínas en orina (proteinuria)

Se cuantificaron las proteínas contenidas en la orina con el método de Bradford (1976). Se realizó una curva de calibración de albúmina sérica bovina (0-100 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$) y para las muestras se agregaron 5 μL de orina, 155 μL de buffer PBS 1X, tanto a las muestras como a la curva se les agregaron 40 μL de reactivo de Bradford, se mezclaron y se leyó la absorbancia a 595 nm en un lector de microplacas ELISA (Multiskan Ascent Thermo Labsystems). La concentración de proteínas se determinó por interpolación de las muestras en la curva estándar.

Estudio de la actividad de las enzimas antioxidantes

Homogenización de la corteza renal

Se pesaron 100 mg de las cortezas renales, se colocaron en tubos Eppendorf, y se le añadió 1 mL de amortiguador de fosfatos 66.6 mM, pH 7 con una mezcla de inhibidores de proteasas (Complete Mini, Roche), posteriormente se homogeneizaron las muestras de tejido en frío con un homogeneizador IKA® T10 basic Ultra-Turrax, a 4° C a una velocidad de 10,000 a 12,000 rpm, en tres repeticiones de 10 segundos cada una. Posteriormente se centrifugaron en una

microcentrifuga Eppendorf 5418, a 4°C a 5,000 rpm durante 10 min. Se tomaron alícuotas de 200 µl, y se conservaron a -80°C para determinar la actividad de las siguientes enzimas antioxidantes:

Catalasa (CAT)

La enzima CAT se determinó mediante una técnica cinética. Se colocó 1 ml de amortiguador de fosfatos 66.6 mM en una cubeta de cuarzo, pH 7 y se ajustó la absorbancia a cero en un espectrofotómetro Jenway 6305. Para las muestras en una cubeta de cuarzo se agregó 1 mL de peróxido de hidrógeno (16 µl de H₂O₂ al 30% en 10 ml de amortiguador), más 10 µl de homogeneizado de corteza renal y se leyó a 240 nm registrando la absorbancia cada 15 s, a partir de la adición de la muestra. La actividad enzimática se calculó por la desaparición de peróxido de hidrógeno utilizando el coeficiente de extinción molar del peróxido de hidrógeno: $\epsilon = 40/M \cdot \text{cm}$ a 240 nm. Se corrigió por concentración de proteínas en la muestra y se reportó como UI/mg proteína (Aebi, 1984).

Superóxido Dismutasa (SOD)

La actividad de la SOD se determinó con un método colorimétrico, basado en la reacción de la xantina oxidasa (XOD) al reducir el nitroazul de tetrazolio, esta reducción se inhibe por acción de la SOD. De las muestras se agregaron 10 µL de homogeneizado renal, 1 ml de la mezcla de reacción y 20 µl de XOD, se agitó y se leyó su absorbancia a 560 nm en un espectrofotómetro Genesys 20, al inicio de la adición de la SOD y después de un minuto (Beauchamp y col., 1971).

Glutación Peroxidasa (GPx)

La GPx consume glutatión y como cofactor oxida NADPH. Esta reacción se acopla con la reacción de glutatión reductasa, que regenera al cofactor. La reacción se vuelve cíclica, y la diferencia en la absorbancia a 340 nm entre los 2 y 4 min de reacción es proporcional a la actividad de la GPx. Se calibró a

cero el espectrofotómetro Jenway 6305 con agua destilada, a 240 nm; para las muestras en una cubeta se colocaron 50 µl del homogeneizado renal, 50 µl de reactivo de Drabkin y se mezclaron, posteriormente se añadieron 2.58 ml de amortiguador de fosfato 50 mM, pH 7, 100 µl de NADPH, 10 µl de glutatión reductasa, 10 µl de azida de sodio y 100 µl de GSH, finalmente se agregaron 100 µl de peróxido de hidrógeno para iniciar la reacción y se registró la absorbancia al inicio, a los 2 y 4 min. Para determinar la actividad enzimática se obtiene la diferencia (ΔA_{340}) entre las lecturas a los 2 y los 4 min. Se define una UI como la desaparición de 1 µmol de NADPH por min (Paglia y Valentine, 1967) y se calcula la actividad enzimática en UI/mg de proteína.

Análisis estadístico

Los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media. Los datos se analizaron a través de un ANOVA con pruebas de comparación de medias de Tukey ($\alpha = 0.05$). Los datos se consideraron significativos con $p < 0.05$.

XIII. Resultados

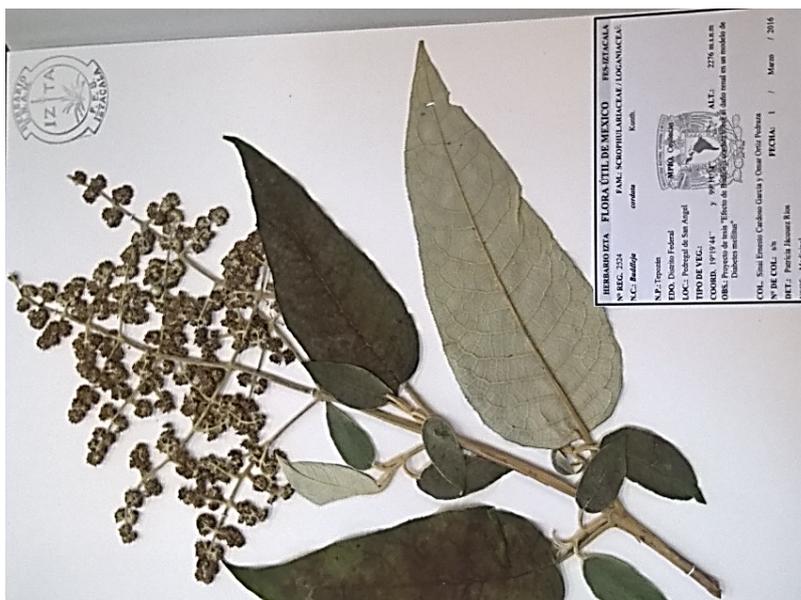


Figura 13. Ejemplar herborizado de *Buddleja cordata*.

Información de Herbario de *Buddleja cordata*

Los ejemplares fueron identificados por la M. en C. María Edith López Villafranco, responsable del Herbario. Se le asignó el número de registro 2524-IZTA en la colección científica del Herbario de la FES Iztacala (Figura.13).

Rendimiento

El extracto metanólico se obtuvo de 392 g de las hojas de *Buddleja cordata*. En la tabla 13 se muestra el rendimiento del extracto.

Tabla 13. Porcentaje de rendimiento del extracto.

Parte de la planta	peso seco (g)	Extracto (g)	Rendimiento (%)
Hojas	392	27	30.12

Caracterización fitoquímica del extracto

Las pruebas cualitativas se analizaron en presencia y ausencia de flavonoides, fenoles, glucosidos, monoterpenos, cumarinas y saponinas. A continuación, los resultados se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Pruebas de detección de los principales grupos de metabolitos secundarios del EMHBC.

GRUPO	REACTIVO	COLORACIÓN	REACCIÓN
Flavonoides	NaOH	Precipitación café	+
Fenoles	Cloruro Férrico	Azul o Verde	+
Glucósidos	Molish	Anillo Morado	-
Monoterpenos	Vainillina en ácido	Azul o verde	-
Cumarinas	Formación Hidroximato	Rojo	+
Saponinas	Agua	espuma	+

Presencia (+) o ausencia (-) de los metabolitos secundarios en el EMHBC

Ensayos *in vitro* de la actividad antioxidante

Porcentaje de decoloración de DPPH

En la figura 14 se observa que el porcentaje de decoloración del DPPH incrementó de manera proporcional al incremento de la concentración del extracto de *Buddleja cordata*.

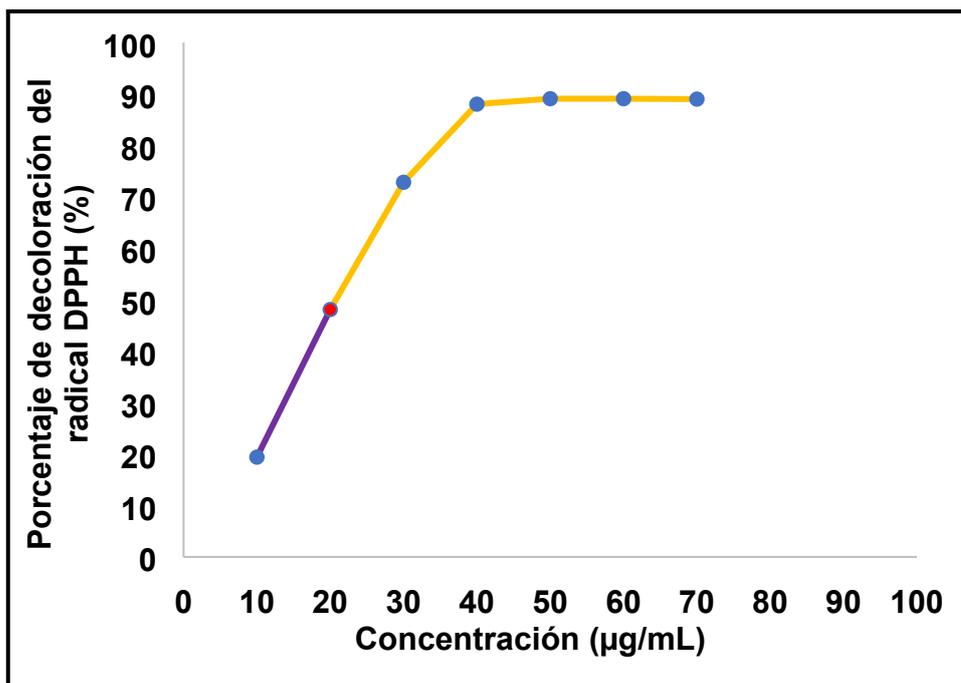


Figura 14. Gráfica del porcentaje de decoloración del radical DPPH contra el extracto metanólico de *Buddleja cordata*.

Los datos obtenidos en la parte lineal de la gráfica permitieron obtener la ecuación de la recta y con ella calcular la capacidad antioxidante media del extracto. El EMHBC mostró una CA_{50} de 21.92 ± 0.52 µg/mL (Figura 15). Se utilizó la quercetina como control positivo porque este compuesto se utiliza como estandar por su alta capacidad antioxidante. La quercetina tuvo una CA_{50} de 5.1 ± 0.69 (Figura 16).

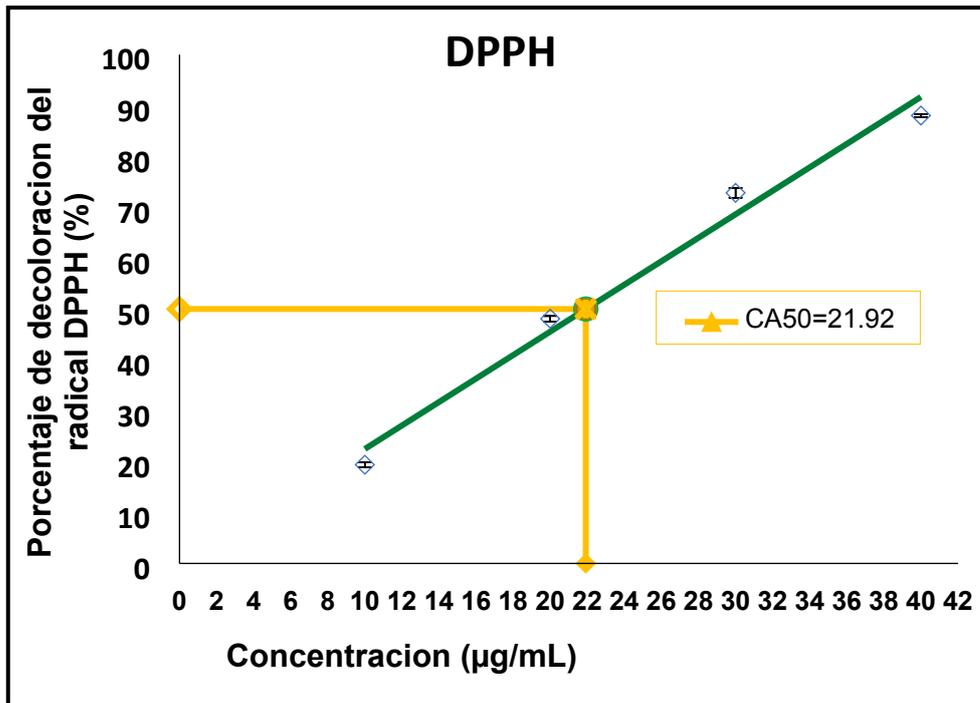


Figura 15. Gráfica de la capacidad antioxidante 50 (CA50). Capacidad media del extracto de *Buddleja cordata* para reducir el radical DPPH.

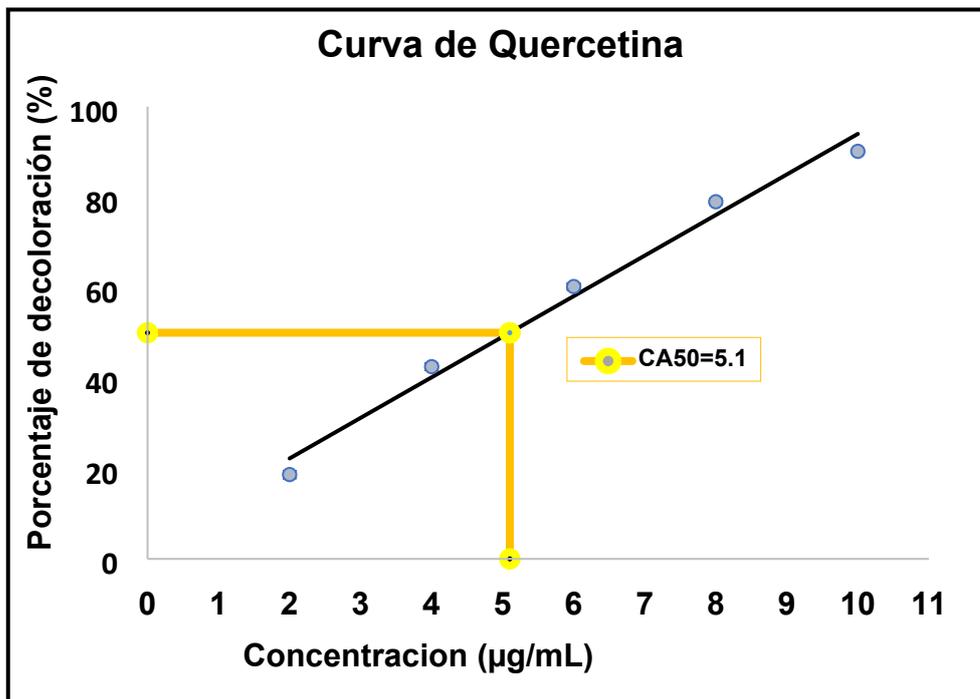


Figura 16. Gráfica del porcentaje de decoloración del radical DPPH contra la quercetina

Fenoles totales presentes en el EMHBC

A partir de la curva patrón de ácido gálico, se determinó la concentración de fenoles totales presentes en el EMHBC (Figura 17).

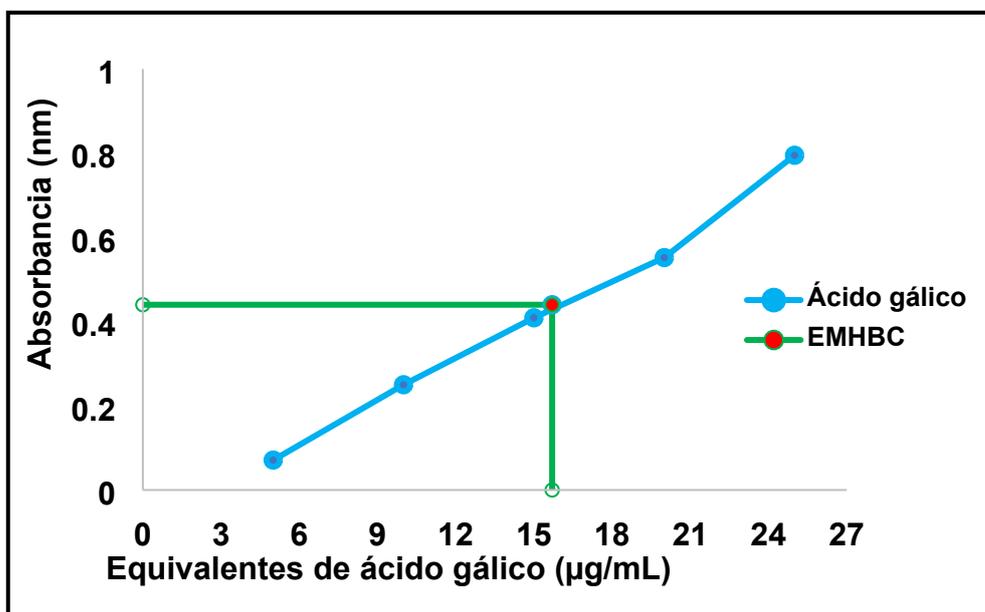


Figura 17. Gráfica de la curva patrón de ácido gálico (color azul).

El contenido fenólico total del EMhBC se obtuvo con la ecuación de la curva de calibración de ácido gálico ($y = 0.035X - 0.1096$) y se obtuvo 157 equivalentes de ácido gálico (EAG) / g de extracto (Tabla 15).

Los valores de la CA_{50} del extracto de *Buddleja cordata* y quercetina se registraron en la Tabla 15.

Tabla 15. Contenido de fenoles totales y capacidad reductora del DPPH en términos de CA_{50} del extracto de *Buddleja cordata* y control quercetina.

Compuestos	CA_{50} DPPH	Fenoles totales (EAG/g de extracto)
EMHBC	21.92 ± 0.52	157 ± 0.01
Quercetina	5.1 ± 0.69	---

Caracterización del modelo de DM

La figura 18 muestra el contenido de glucosa (a) contenido de alimento (b) y consumo de agua (c) de los sujetos a los que se les indujo DM. Se observa que hubo un aumento significativo en los niveles de glucosa, consumo de alimento y consumo de agua de las ratas con DM control (DMC2) comparadas con ratas sin DM control (C1). Esto indica que 65 mg/kg de STZ permitieron la inducción a DM.

En la Figura 18-a no hubo diferencias significativas en los niveles de glucosa de las ratas diabéticas tratadas con *Buddleja cordata* a dosis de 100 mg/kg (DMT3) y 200 mg/kg (DMT4) en comparación con el grupo DMC2. Esto significa que los animales de estos grupos permanecieron hiperglucémicos y no hubo disminución en los niveles de glucosa en los sujetos con tratamiento.

En la Figura 18-b y 18-c se muestra una disminución significativa en el consumo de alimento y consumo de agua del grupo DMT3 tratado con el EMHBC en dosis de 100 mg/kg comparadas con el grupo DMC2. El grupo DMT4 tratadas con *B. cordata* en dosis de 200 mg/kg aumentaron significativamente la ingesta de alimento y agua respecto al grupo C1. Esto indica que 100 mg/kg de extracto permitieron la disminución de ingesta de alimento y agua.

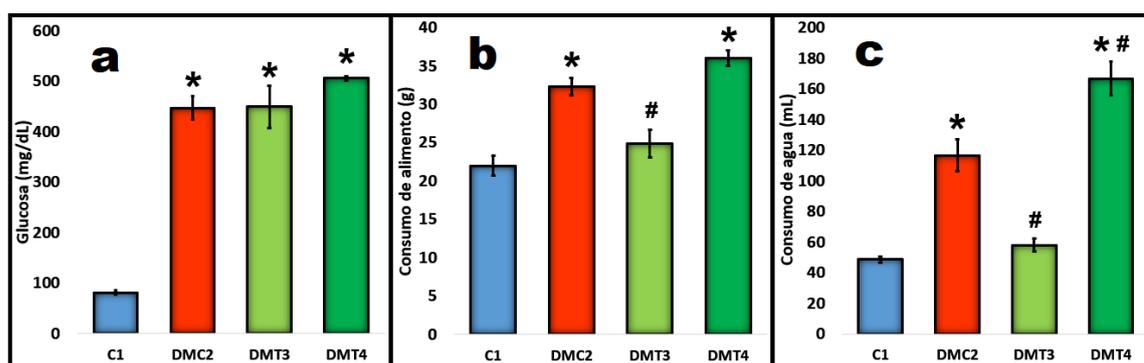


Figura 18. Media \pm ESM del contenido de glucosa (a), consumo de alimento (b) y consumo de agua (c) a los grupos a los que se les indujo DM (n=4). Grupo control sin DM. Grupo control sin DM (C1), Inducción de la Diabetes mellitus (DMC2), grupo tratado con *Buddleja cordata* 100 mg/kg (DMT3) y grupo tratado con EMHBC 200 mg/kg (DMT4) en el modelo de DM durante 6 semanas. Los datos fueron analizados con ANOVA seguido por una prueba de Tuckey con * $p < 0.05$ respecto al control y # con respecto al grupo DMC2.

En la Figura 19 se observa un aumento significativo en la excreción urinaria (a) y peso renal (c) y una disminución significativa del peso corporal (b) del grupo DMC2 comparado con el grupo C1. Esto indica que 65 mg/kg permitieron la inducción a DM y ocasionaron daños renales.

En la Figura 19-a hubo una disminución significativa de la excreción urinaria del grupo DMT3 tratado con dosis de 100 mg/kg de EMHBC en comparación con el grupo DMC2 y el grupo DMT4 tratado con dosis de 200 mg/kg de EMHBC aumentó significativamente la excreción urinaria en comparación con los grupos C1 y DMC2. Esto indica que 100 mg/kg de extracto permitieron una disminución de la excreción urinaria.

En la Figura 19-b hubo un aumento significativo del peso corporal en el grupo DMT3 tratado con dosis de 100 mg/kg en comparación con el grupo DMC2 y el grupo DMT4 tratado con dosis de 200 mg/kg de EMHBC disminuyó significativamente el peso corporal en comparación con el grupo C1. Esto indica que 100 mg/kg de extracto permitieron un aumento del peso corporal.

En la Figura 19-c hubo un aumento significativo del peso renal en los grupos DMT3 y DMT4 tratados con EMHBC a 100 mg/kg y 200 mg/kg comparados con el grupo C1. Sin embargo, estos grupos no presentaron una disminución significativa con el grupo DMC2.

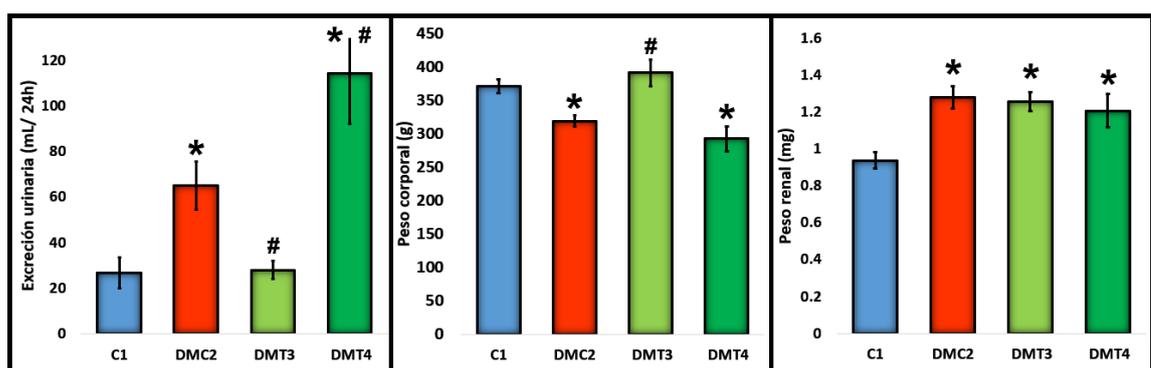


Figura 19. Media \pm ESM de la excreción urinaria (a), peso corporal (b) y peso renal (c) en los grupos a los que se les indujo DM (n=4). Grupo control sin DM. Grupo control sin DM (C1), Inducción de la Diabetes mellitus (DMC2), grupo tratado con *Buddleja cordata* a 100 mg/kg (DMT3) y grupo tratado con EMHBC a 200 mg/kg (DMT4) en el modelo de DM durante 6 semanas. Los datos fueron analizados con ANOVA seguido por una prueba de Tuckey con *p<0.05 respecto al control y # con respecto al grupo DMC2.

Hipertrofia renal

En la Figura 20 se observa un aumento significativo entre la relación peso renal/peso corporal (PR/PC) total en los grupos DMC2 y DMT4 en comparación con el grupo C1. El grupo DMT3 tratado con EMHBC 100 mg/kg tuvo una tendencia en disminuir la relación PR/PC, aunque éste no fue significativo con el grupo control DM (DMC2). Esto indica que 100 mg/kg de extracto permitieron una tendencia no significativa en la disminución del índice de la hipertrofia renal.

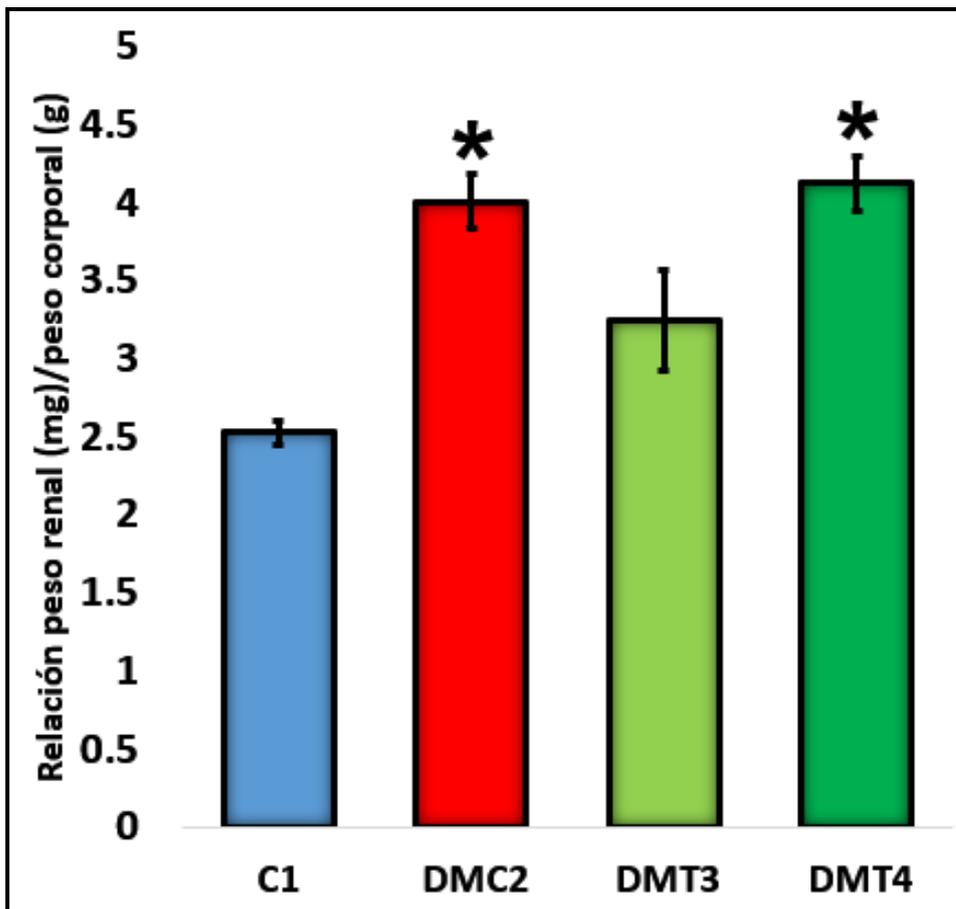


Figura 20. Media \pm ESM de la hipertrofia renal en los grupos a los que se les indujo DM (n=4). Grupo control sin DM. Grupo control sin DM (C1), grupo inducido a DM (DMC2), grupo inducido a DM + EMHBC a 100 mg/kg (DMT3) y grupo inducido a DM + EMHBC a 200 mg/kg (DMT4) en el modelo de DM durante 6 semanas. Los datos fueron analizados con ANOVA seguido por una prueba de Tuckey con * $p < 0.05$ respecto al control y # con respecto al grupo DMC2.

Proteinuria

En la Figura 21 hubo un aumento significativo de la proteinuria en el grupo DMC2 en comparación con el grupo C1. Esto indica que la DM inducida con 65 mg/kg de STZ provocó daños a nivel renal.

Los grupos tratados con EMHBC disminuyeron de manera significativa la proteinuria en comparación con el grupo DMC2. Esto indica que las dosis de 100 y 200 mg/kg disminuyeron la proteinuria satisfactoriamente.

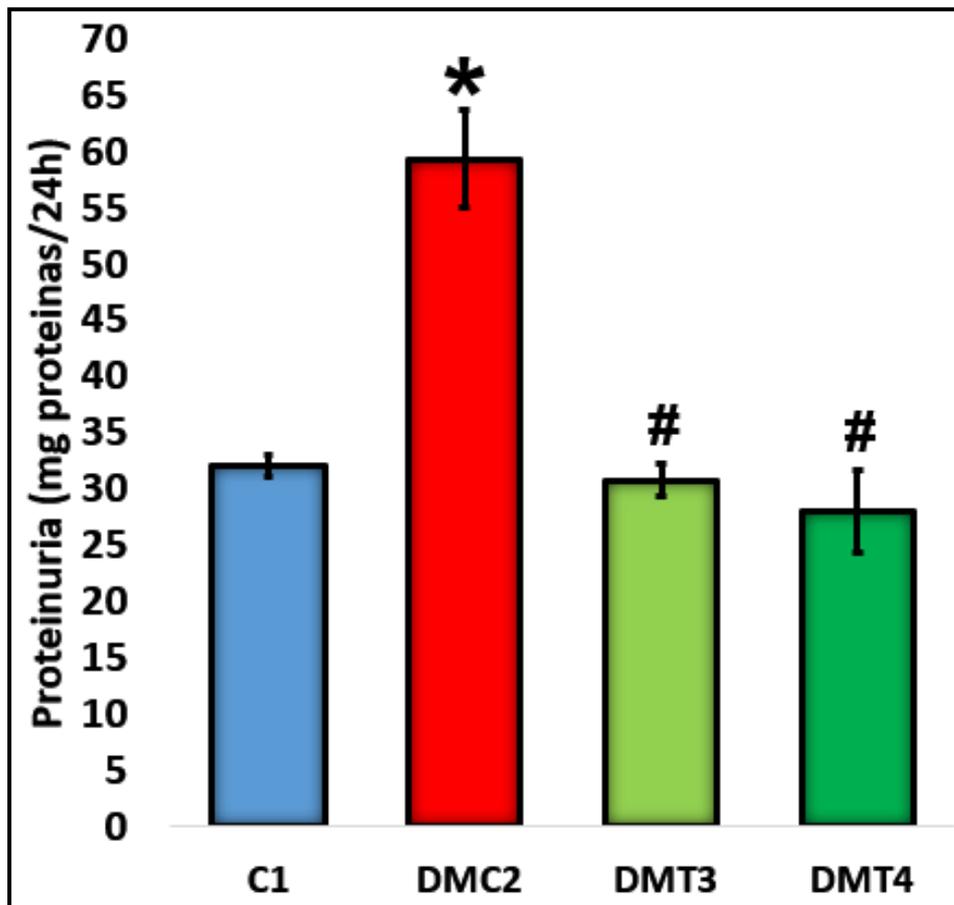


Figura 21. Media \pm ESM del contenido de proteinuria en los grupos a los que se les indujo DM (n=4). Grupo control sin DM. Grupo control sin DM (C1), grupo inducido a DM (DMC2), grupo inducido a DM + EMHBC a 100 mg/kg (DMT3) y grupo inducido a DM + EMHBC a 200 mg/kg (DMT4) en el modelo de DM durante 6 semanas. Los datos fueron analizados con ANOVA seguido por una prueba de Tuckey con * $p < 0.05$ respecto al control y # con respecto al grupo DMC2.

Enzimas antioxidantes

La Figura 22 muestra una disminución significativa de la actividad de las enzimas catalasa (a), superóxido dismutasa (b) y glutatión peroxidasa (c) del grupo DMC2 comparado con el grupo C1. Esto indica que la inducción de DM con STZ disminuyó la actividad de las enzimas antioxidantes.

en los riñones de ratas inducidas a DM control (DMC2) comparadas con los riñones de ratas sin DM control (C1). Las enzimas SOD y GPx aumentaron significativamente su actividad en ratas diabéticas tratadas con EMHBC 200 mg/kg (DMT4) comparadas con el grupo C1, mientras que el grupo de ratas diabéticas tratadas con EMHBC 100 mg/kg (DMT3) tuvieron una tendencia en aumentar la actividad de las enzimas SOD y GPx, sin embargo, no fueron significativas con el grupo DMC2.

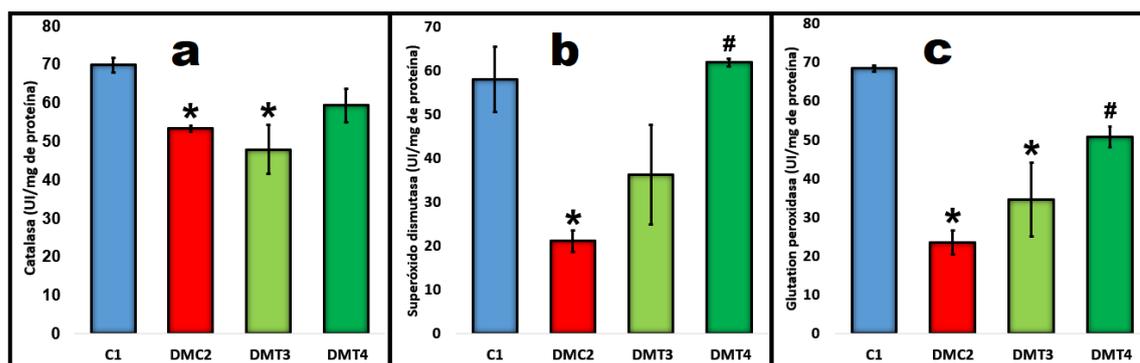


Figura 22. Media \pm ESM de la actividad de las enzimas catalasa (a), superóxido dismutasa (b) y glutatión peroxidasa (c) en los grupos a los que se les indujo DM (n=4). Grupo control sin DM. Grupo control sin DM (C1), Inducción de la Diabetes mellitus (DMC2), grupo tratado con *Buddleja cordata* a 100 mg/kg (DMT3) y grupo tratado con EMHBC a 200 mg/kg (DMT4) en el modelo de DM durante 6 semanas. Los datos fueron analizados con ANOVA seguido por una prueba de Tuckey con * $p < 0.05$ respecto al control y # con respecto al grupo DMC2.

La Tabla 16 resume los niveles de glucosa, consumo de alimento, consumo de agua, peso corporal, excreción urinaria, hipertrofia renal, relación peso renal sobre peso corporal total, proteinuria y enzimas antioxidantes de las ratas Wistar macho.

Tabla 16. Resumen del efecto del EMHBC (100 y 200 mg/kg, vía oral) en los parámetros metabólicos y renales durante 6 semanas.

	C 1	DMC2	DMT3	DMT4
glucemia	81.33±4.41	447.33±23.13	449.33±41.51	506.33±4.1
alimento	21.99±1.30	32.3±1.16	24.9±1.82	36±1
agua	48.66±1.76	116.66±10.35	58±4.16	166.66±10.97
peso	371.33±11.84	319.33±1.2	391.66±22.45	292.66±18.68
excreción	26.66±6.77	65±10.54	28±4.04	114.33±22.02
hipertrofia	0.93±0.04	1.28±0.06	1.25±0.05	1.2±0.09
PR/PC	2.52±0.08	4±0.17	3.24±0.33	4.12±0.17
proteinuria	31.99±0.98	59.31±4.32	30.76±1.47	28.035±3.7
CAT	69.92±1.90	52.05±0.74	47.98±6.37	59.43±4.4
SOD	58.17±7.44	21.16±2.42	36.36±11.31	61.95±0.87
GPx	68.45±0.74	23.58±3.15	34.60±9.49	50.82±2.57

Cada punto representa la media ± error estándar de la media (EEM) de 4 ratas por grupo (*p < 0.05). * Control vs DM, # DM vs tratamientos).

XIV. Discusión

En las últimas décadas, la utilización de hierbas medicinales ha despertado el interés público y también de los investigadores por su eficacia para el tratamiento de algunas enfermedades crónicas. El estudio de productos naturales de origen vegetal representa una fuente compleja de constituyentes para el desarrollo de fármacos contra la DM y sus complicaciones. *Buddleja cordata* se ha utilizado ampliamente en la medicina tradicional popular y ha mostrado capacidad antioxidante a través de la experimentación. En este trabajo, se investigó el efecto antioxidante de *B. cordata* sobre el daño renal en la DM

En primer lugar, se obtuvo el rendimiento del extracto metanólico de las hojas de *Buddleja cordata* el cual representa el 30.12% de los sólidos totales a partir de 392 g de peso seco de las hojas. Respecto a las pruebas cualitativas de los grupos de metabolitos presentes en el extracto fueron: fenoles, flavonoides y cumarinas. Rice-Evans y colaboradores (1996) han reportado que estos compuestos exhiben propiedades antioxidantes. Ruikar y colaboradores (2011) también han reportado que los flavonoides y fenoles son los principales fitocompuestos con mayor actividad antioxidante.

Con relación a las pruebas cuantitativas de actividad antioxidante, el EMHBC fue capaz de reducir el radical DPPH a un 50% con una concentración de $21.92 \pm 0.52 \mu\text{g/mL}$. El DPPH es un radical libre estable a diferencia de otros radicales y acepta un electrón para convertirse en una molécula diamagnética (Meir et al., 1995). El valor de la CA_{50} del EMHBC es más alto que el valor de la quercetina. Cuanto más bajo es el valor de la Ca_{50} , mayor es la actividad antioxidante de un compuesto (Villano y col., 2006). A pesar de que los resultados indican que la quercetina tuvo una actividad antioxidante cuatro veces mas alta que el EMHBC, *Buddleja cordata* podría competir con otros antioxidantes, considerando que se trata de un extracto en comparación con la quercetina que es un compuesto puro.

La cantidad de fenoles totales con el método de Folin-Ciocalteu fue de $157 \mu\text{g}$ de EAG/g lo cual significa que el 15.7% de compuestos fenólicos están presentes en el EMHBC. Ávila y col. (2014) obtuvieron $177.13 \mu\text{g}$ de EAG/g para la misma especie. Se ha reportado una fuerte relación entre el contenido de fenoles y la actividad antioxidante en determinados productos vegetales (Velioglu et al., 1998).

Las investigaciones de *Buddleja cordata* indican que los principales compuestos que están en mayor proporción en el extracto son la linarina y el verbascósido (Martínez-Vázquez y col., 1996; Ávila y col., 2005; Ávila y col., 2014). En otros estudios han informado que existe una relación directamente proporcional entre los fenoles totales y la actividad antioxidante; en varias especies de plantas se presenta la misma tendencia (Oktay y col., 2003; Adedapo, 2009).

En la segunda etapa de esta investigación se evaluó el efecto antioxidante del EMHBC sobre el daño renal en ratas Wistar inducidas a DM con STZ.

La STZ es un fármaco que se utiliza para la inducción de la DM tipo 1 en ratas (Lenzen, 2008). Este fármaco contiene una cadena de metilnitrosurea altamente reactiva unida a la posición C2 de la D-glucosa (Ramos, 2013) que ejerce efectos de citotoxicidad (Wu y Jan, 2015), mientras que el resto de glucosa dirige el químico a las células β pancreáticas (Johansson y Tjälve, 1978; Wu y Yan, 2015). La STZ reconoce el receptor GLUT2 que es abundante

en las membranas plasmáticas de células β . Por lo tanto, las células β pancreáticas son un objetivo específico de STZ (Wu y Yan, 2015). Una vez que ingresa la STZ a la célula ocasiona la muerte de las células β de la siguiente manera (Ramos, 2013):

1. Proceso de metilación. El efecto deletéreo de la STZ resulta de la fragmentación reactiva de los iones carbonio (CH_3^+) formados por la descomposición de las bases de ADN en varias posiciones (Baynes y Torpe, 1999; Ramos, 2013).

2. Formación de RL. El peróxido de hidrógeno (H_2O_2) puede ser producido por los islotes del páncreas después de la exposición a la STZ (Papaccio y col., 1986; Mcintosh y Pederson, 1999; Ramos, 2013). Estos radicales tienden a fragmentar una cantidad considerable de ADN. La STZ inhibe a la superóxido dismutasa que es un acarreador endógeno de RL por lo que se ha concluido que el EOX tiene una participación importante en la citotoxicidad de la STZ (Loredo, 2006).

Finalmente, la STZ inhibe la secreción de insulina y causa un estado de DM insulino dependiente. Estos efectos pueden ser atribuidos a las propiedades alquilantes de la STZ (Lenzen, 2008).

El desarrollo de la hiperglucemia fue confirmado en los grupos tratados con STZ (DMC2, DMT3 y DMT4) en comparación con el grupo C1 sin inducción. Okon y colaboradores (2012) sugieren que las células β son destruidas por la STZ y los daños causados por este citotóxico son irreversibles (Szkudelski, 2001; Alejandro y col., 2013).

El EMHBC no mostró una disminución de la hiperglucemia en los grupos DMT3 y DMT4. Al Ati y colaboradores (2015) reportaron un efecto antihiper glucémico del extracto de *Buddleja polystachya* a diferentes polaridades (acetato de etilo, diclorometano y n-butanol). A pesar de que el EMHBC no disminuyó la hiperglucemia, se sugiere seguir realizando investigaciones exhaustivas en extractos de *Buddleja cordata* con disolventes de polaridades diferentes a la del metanol, con el fin de esclarecer el efecto antihiper glucémico.

Una vez que se desencadena la hiperglucemia en la DM los síntomas principales son la polifagia, polidipsia, poliuria y pérdida de peso (Ayeleso y col., 2016). Las ratas tratadas con STZ en este experimento también mostraron los mismos signos clásicos de la DM (Ciobotaru, 2013; Álvarez y col., 2017). Es decir, las ratas mostraron un aumento en la ingesta de alimento y agua, un aumento de la excreción urinaria y una pérdida drástica de peso. Okon y col. (2012) reportaron datos parecidos en un modelo de DM durante 4 semanas.

El uso ineficaz de la glucosa por las células como material energético obliga al organismo a recurrir a otras sustancias y consumir las reservas de prótidos (aminoácidos y proteínas) y lípidos, lo que aumenta el apetito y resulta en polifagia (Álvarez y col., 2017).

La poliuria resulta debido a que la glucosa actúa como diurético y por ende aumenta la eliminación de agua en el organismo (Álvarez y col., 2017). El volumen urinario es conservado por la bomba Na^+K^+ ATPasa en la membrana basolateral que hidroliza ATP y por lo tanto resulta en transporte de Na^+ en los espacios intercelulares e intersticiales y aumenta el movimiento de K^+ en las células.

El aumento de la actividad de Na^+K^+ ATPasa en ratas diabéticas produce un aumento del flujo de orina (Ghule y col., 2012). En consecuencia, la pérdida excesiva de agua conduce a la deshidratación y aumento de la sed, lo que resulta en polidipsia (Okon y col., 2012; Alejandro y col., 2013).

La reducción del peso corporal se relaciona con la incapacidad de las células para producir energía a partir de la glucosa (Alejandro, 2013). Cuando se activa la gluconeogénesis, las proteínas musculares y las grasas se movilizan excesivamente para la producción de energía, lo que contribuye a la pérdida de peso, junto con la deshidratación causada por la poliuria (Okon y col., 2012; Alejandro y col., 2013).

De acuerdo con los síntomas de la DM tratados con *Buddleja cordata*, las ratas del grupo DMT3 mostraron una disminución de la polifagia, la polidipsia, la poliuria y aumentó de la ganancia de peso. Estos resultados indican que 100mg/kg del EMHBC resultó ser la dosis efectiva para tratar los síntomas característicos de la DM inducidos por STZ en comparación con la dosis de

200mg/kg. El mejoramiento de estos síntomas refuerza la idea de la actividad antidiabética de *Buddleja cordata* reportada en la medicina tradicional popular y probablemente los flavonoides son los responsables de dicha actividad. Varios autores han reportado en otras especies de plantas que los compuestos polifenólicos tienen actividad antidiabética Sabu y col., 2002; Hou y col., 2003; Panda y Kar, 2007; Jia y col., 2009; Alade et al., 2012). Cabe destacar que los estudios farmacológicos de *B. cordata* contra la DM son muy escasos y estos resultados mejoran nuestro conocimiento de la especie y de la enfermedad.

La hiperglucemia crónica conduce a una mayor producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y están involucradas en varias complicaciones diabéticas incluyendo la ND (Cheng y col., 2012; King y Loeken, 2004; Mestry y col., 2017). La ND produce hipertrofia renal, razón por la cual los riñones incrementan de peso (Loredo, 2006).

En los resultados, el peso renal del grupo control DM presentó hipertrofia a diferencia del grupo control sin DM (Figura 19-c). La inducción de la diabetes mellitus experimental en ratas por STZ conduce a un aumento en el peso renal que comienza unas pocas horas después de la aparición de hiperglucemia y glucosuria. El aumento de peso renal puede verse por lo regular en 72 h después de la inyección de STZ, es decir, aproximadamente 60 h después del inicio de la diabetes mellitus. El tiempo de demora puede reducirse un poco al tratar a las ratas con insulina durante los primeros días después de la STZ. En esta situación, no hay cambios medibles en el riñón inmediatamente después de la suspensión del tratamiento con insulina, pero 36 h más tarde hay un aumento significativo en el peso renal. La razón de esta aceleración del crecimiento renal es probablemente que la STZ conduce a la anorexia y la pérdida de peso de 2 a 3 días (Seyer-Hansen, 1973; Seyer-Hansen, 1983).

El aumento de peso renal continúa durante varias semanas, pero gradualmente disminuye. Generalmente, el riñón aumenta su peso de 15% a 20% 3 días después de la inducción con STZ y de 70 a 90% después de 6 semanas (Seyer-Hansen, 1983).

En este estudio, los grupos tratados con STZ presentaron hipertrofia renal (relación PR/PC), información consistente con lo reportado por Mestry y col.

(2017) quienes observaron un aumento en la relación PR/PC en ratas tratadas con STZ. Diversos estudios indican que la inducción de la DM por STZ produce un aumento en la relación PR/PC (Seyer-Hansen, 1976; Kang et al., 1982; Grover y col., 2001). Las ratas tratadas con EMHBC a 100 mg/kg mostraron una reducción no significativa en la relación PR/PC. Este resultado indica que la dosis de 100 mg/kg del EMHBC tiene un efecto terapéutico al reducir el daño renal provocado por la STZ.

La hipertrofia renal es proporcional al incremento en el contenido de proteínas del riñón (Loredo, 2006) y uno de los principales marcadores en el deterioro de la función renal y la progresión de la ND es la proteinuria (Umanatah y Lewis, 2018). En esta investigación, el grupo DM control presentó un incremento en los niveles de proteínas en orina respecto al grupo control sin DM. En otros estudios han observado proteinuria leve y temprana en la DM experimental (Pennell y col., 1981; Sefi y col., 2012). EL tratamiento con EMHBC en dosis de 100 y 200 mg/kg disminuyeron significativamente los niveles de proteinuria en los grupos diabéticos. La activación del sistema renina-angiotensina aldosterona (RAAS) es un factor importante en la progresión de la nefropatía diabética y el control de este sistema, a través de inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) o el bloqueo del receptor AT1, es determinante en la reducción de la proteinuria y en la progresión de la enfermedad renal (Egido y col., 2011). Chao-Hsiang y colaboradores (2012) reportaron que el verbascósido también conocido como acteósido exhibe actividad inhibitoria de la ECA. En otros estudios han demostrado que el verbascósido disminuye la proteinuria en un modelo de nefritis (Hayashi y col., 1994; Hattori, 1995; Hattori y col., 1996). Por lo tanto, los resultados de esta investigación indican que el verbascósido y posiblemente otros compuestos fenólicos del extracto tienen un papel importante en la reducción de la proteinuria en el modelo de DM. Por otra parte, en varios estudios se sugiere que el restablecimiento del control glucémico en ratas y perros después de la inducción de la DM1 previene la proteinuria, hipertrofia renal y el aumento del EOX (Ahmed y col., 2012; Kern & Engerman, 1990; Kowluru, 2003).

El aumento del EOX es considerado como uno de los principales causantes del daño renal (Garud y Kulkarni, 2018). El daño oxidativo sobre el daño renal en la

DM es causado por el aumento de ERO y por la disminución de los niveles de las defensas antioxidantes (Fernández y col., 2016). Las actividades de las enzimas antioxidantes, superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) disminuyen en la DM (Ceriello y col., 2000; Sudamrao y Anant, 2018) y son importantes eliminadores de ERO (Garud y Kulkarni, 2018). La disminución de la actividad de la enzima SOD durante la progresión de la DM se debe probablemente a la glicosilación enzimática y también a la acumulación de H₂O₂ en tejidos afectados (Karasu, 1999; Gupta y col., 2012). Cuando se analizaron los homogenizados de corteza renal para determinar las actividades de la SOD, CAT y GPx, los riñones de los animales con DM mostraron una reducción en las actividades de estas enzimas. En diversos estudios se han observado actividades reducidas de las enzimas antioxidantes durante la DM y, por ende, puede desencadenar efectos perjudiciales debido a la acumulación de RL (Sellamantu y col., 2013).

Los resultados mostraron que las ratas diabéticas tratadas con EMHBC 200 mg/kg aumentaron los niveles de las enzimas GPX, CAT y SOD. La SOD convierte al superóxido radical en una especie menos reactiva, el H₂O₂ es reducido en agua por la CAT, de este modo, la CAT ayuda a la SOD en la completa neutralización de las ERO (Niedowicz y Daleke, 2005; Mestry y col., 2017). Aunado a esto, el gen responsable en la regulación de la respuesta antioxidante celular es el factor nuclear 2 relacionado al factor eritroide 2 (Nrf2), el cual se expresa de manera constitutiva en las células (Pedraza y col., 2016). La activación y localización nuclear de Nrf2 induce la expresión de genes de respuesta antioxidante, entre ellos, los genes de las enzimas SOD, CAT y GPx, que se encargan de eliminar a las ERO (Pedraza y col., 2016).

En modelos diabéticos inducidos con STZ, se ha demostrado un papel protector del factor Nrf2 contra el daño renal mediante la regulación de radicales libres (Yoh y col., 2008; Jiang y col., 2010; Zheng, 2011). La actividad antioxidante del EMHBC posiblemente funciona como activador del factor Nrf2 y, por ende, mejora la respuesta antioxidante sobre el daño renal. En otros estudios han reportado que la linarina tiene actividad antioxidante asociada con el aumento de la actividad del factor nuclear eritroide 2 (Nrf2) (Han y col.,

2018). Ávila y col., (2014) han reportado la presencia de linarina en concentraciones altas al igual que el verbascósido en *Buddleja cordata*.

10. Conclusión

La DM es un conjunto de complicaciones que causa alteraciones en los riñones y finalmente estos daños desencadenan insuficiencia renal. Por lo tanto, es de suma importancia desarrollar nuevos tratamientos que reviertan el proceso de la enfermedad. En este estudio, el EMHBC mostró actividad antioxidante *in vitro* y también en el modelo de DM sobre el daño renal. *Buddleja cordata* incrementó la actividad de las enzimas antioxidantes de la corteza renal de las ratas con diabetes inducida con STZ y disminuyó la proteinuria, el consumo de alimento, la ingesta de agua y la excreción urinaria. Estos resultados probablemente revelan la importancia de la respuesta antioxidante dependiente del factor Nrf2 para neutralizar las ERO y aliviar el daño oxidativo en la ND.

1. Referencias

- Adedapo, A. A., Jimoh, F. O., Koduru, S., Masika, P. J., & Afolayan, A. J. (2009). Assessment of the medicinal potentials of the methanol extracts of the leaves and stems of *Buddleja saligna*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9(21): 1-9.
- Aebi H. (1984) Catalase in vitro. In: Packer L (ed.), *Methods in Enzymology*. Vol. 105: *Oxygen radicals in biological systems* (pp.121–126). San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Aghadavod, E., Khodadadi, S., Baradaran, A., Nasri, P., Bahmani, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2016). Role of oxidative stress and inflammatory factors in diabetic kidney disease. *Iranian Journal of Kidney Diseases*, 10(6): 337-343.
- Ahmad, I., Chen, S., Peng, Y., Chen, S., & Xu, L. (2008). Lipoxygenase inhibiting and antioxidant iridoids from *Buddleja crispa*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 23(1): 140-143.

- Al Ati, H. Y., Fawzy, G. A., El Gamal, A. A., Khalil, A. T., El Din El Tahir, K., Abdel-Kader, M. S. & Gilani, A. H. (2015). Phytochemical and biological evaluation of *Buddleja polystachya* growing in Saudi Arabia. *Pak J Pharm Sci*, 28(4 Suppl): 1533-1540.
- Alezandro, M. R., Granato, D. & Genovese, M. I. (2013). Jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg), a Brazilian grape-like fruit, improves plasma lipid profile in streptozotocin-mediated oxidative stress in diabetic rats. *Food Research International*, 54(1): 650-659.
- Alonso-Castro, A. J., Villarreal, M. L., Salazar-Olivo, L. A., Gomez-Sanchez, M., Dominguez, F. & García-Carranca, A. (2011). Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(3): 945-972.
- Al-Waili, N., Al-Waili, H., Al-Waili, T. & Salom, K. (2017). Natural antioxidants in the treatment and prevention of diabetic nephropathy; a potential approach that warrants clinical trials. *Redox Report*, 22(3): 99-118.
- Álvarez-Montano, A., Béquer-Mendoza, L., Gómez Hernández, T., Molina-Martínez, J. L., Lavastida-Pérez, M. & Clapés-Hernández, S. (2017). Daño renal por hiperglucemias moderadas en un modelo animal de diabetes. *Medicentro Electrónica*, 21(1): 46-56.
- American Diabetes Association, (2002). Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care*, 25, 85S–89.
- American Diabetes Association. (2015). 2. Classification and diagnosis of diabetes. *Diabetes Care*, 38 (Supplement 1): S8-S16.
- American Diabetes Association. (2018). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 41 (Supplement 1): S13-S27.
- Argueta V. A., Cano-Asselei, L. M & Rodarte M. E. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional en México. Instituto Nacional Indigenista. México, 1786 p.
- Avila, J. G., de Liverant, J. G., Martínez, A., Martínez, G., Muñoz, J. L., Arciniegas, A. & de Vivar, A. R. (1999). Mode of action of *Buddleja cordata* verbascoside against *Staphylococcus aureus*. *Journal of Ethnopharmacology*, 66(1): 75-78.
- Avila, J.G., Espinosa, A.M., De María, D. M., López, J.L.M., García, A. M., Benítez, J. D. C.; Delgado, T. H., Maya, S. F. & Contreras, J.C. (2014) Photoprotection of

Buddleja cordata extract against UVB-induced skin damage in SKH-1 hairless mice. *BMC Complementary. Alternative. Medicine*. 14(1): 1-9.

- Ayeleso, A., Brooks, N., Oguntibeju, O. & Mukwevho, E. (2016). Natural antioxidant vitamins: A review of their beneficial roles in management of diabetes mellitus and its complications. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 15(6): 1341-1348.
- Backhouse, N., Rosales, L., Apablaza, C., Goity, L., Erazo, S., Negrete, R. & Delporte, C. (2008). Analgesic, anti-inflammatory and antioxidant properties of *Buddleja globosa*, Buddlejaceae. *Journal of Ethnopharmacology*, 116(2): 263-269.
- Baynes, J. W. & Torpe, S. R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*, 48(1):1-9.
- Beauchamp, C. & Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bennett, K. & Aditya B. S. (2015) An overview of diabetic nephropathy: Epidemiology, pathophysiology and treatment. *Journal of Diabetes Nursing*, 19(2): 61-67.
- Bradford M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 72: 248-54.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865): 813-820.
- Brownlee, M. (2005). The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *diabetes*, 54(6): 1615-1625.
- Bye, R. (1983) Medicinal plants of the tarahumaras Indians of Chihuahua, México. En: Tyson, R. A. y Elerick D. V (Eds.) *Two mummies from Chihuahua: A Multidisciplinary Study*, San Diego, San Diego of museum Paper, pp 77-104.
- Caldas A. A. P. (2012). *Optimización escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción ácido-líquido*. Tesis de ingeniería Química. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Cuenca, Ecuador. 48 p.
- Camacho D., Hernández, S. & Morfín, L. (2009). Tepozán (*Buddleia cordata*), proyecto PAPIIME PE205907. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM. 44 p.
- Cárdenas, F. (1993) Remedios y Prácticas Curativas en la Sierra Tarahumara, Chihuahua, Chih. Ed. Camino 228 p.

- Carrillo, J. L. (2012). *Evaluación del extracto metanólico de la hoja de Tepozán (Buddleja cordata) in vivo determinando su factor de protección solar*. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México. 66 p.
- Ceriello, A., Morocutti, A., Mercuri, F., Quagliaro, L., Moro, M., Damante, G., & Viberti, G. C. (2000). Defective intracellular antioxidant enzyme production in type 1 diabetic patients with nephropathy. *Diabetes*, 49 (12), 2170-2177.
- Chao-Hsiang, CHEN., Yin-Shiou, LIN., Mei-Yin CHIEN., Wen-Chi, HOU. & Miao-Lin, HOU. (2012). Antioxidant and antihypertensive activities of acteoside and its analogs. *Botanical Studies*, 53(4), 421-429.
- Cheng, D., Liang, B., & Li, Y. (2012). Antihyperglycemic effect of Ginkgo biloba extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Biomed Research International*, 2013:162724, 1-7.
- Ciobotaru, E. (2013). 15. Spontaneous Diabetes Mellitus in Animals. En O. Oguntibeju (Ed.). *Diabetes Mellitus - Insights and Perspectives* (pp. 271-296). Croatia: InTech.
- Cruz-Aguado R. Free radicals. *Salem Press Encyclopedia of Health* [serial online]. January 2015; Available from: Research Starters, Ipswich, MA. Accessed December 2, 2015.
- Dasgupta, A. & Klein, K. (2014). 1. Introduction to Free Radicals and the Body's Antioxidant Defense. *Antioxidants in Food, Vitamins and Supplements, Prevention and Treatment of Disease* (1–18). San Diego (CA): Elsevier.
- Dey, P. M. and Harborne, J. B. (1989). *Methods in plant biochemistry. Volume 1. Plant Phenolics*. Academic Press Ltd. pp 552.
- Dhodi, J. B., Mestry, S. N., & Juvekar, A. R. (2014). Diabetic nephropathy-genesis, prevention, and treatment. *Int J Pharm Pharm Sci*, 6(9): 42-7.
- Dogan, A., Celik, I. & Kaya, M. S. (2015). Antidiabetic properties of lyophilized extract of acorn (*Quercus brantii* Lindl.) on experimentally STZ-induced diabetic rats. *Journal of ethnopharmacology*, 176: 243-251.
- Domínguez X. A. (1979). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Editorial Limusa. México, pp. 189-200.
- Du, X., Matsumura, T., Edelstein, D., Rossetti, L., Zsengellér, Z., Szabó, C. & Brownlee, M. (2003). Inhibition of GAPDH activity by poly (ADP-ribose) polymerase activates

three major pathways of hyperglycemic damage in endothelial cells. *The Journal of Clinical Investigation*, 112(7): 1049-1057.

Egido, J., Ruiz-Ortega, M., Gonzalez-Parra, E., Rico Zalba, L., Fernández-Fernández, B., Mallavia, B., Ortiz, A. & Gómez-Guerrero, C. (2011). Tratamiento de la nefropatía diabética: más allá del bloqueo del sistema renina-angiotensina. *Nefrología*, 2(5): 77-84.

Elgawish, A., Glomb, M., Friedlander, M. & Monnier, V. M. (1996). Involvement of hydrogen peroxide in collagen cross-linking by high glucose in vitro and in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 271(22): 12964-12971.

Elmarakby, A. A., & Sullivan, J. C. (2012). Relationship between oxidative stress and inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *Cardiovascular therapeutics*, 30(1): 49-59.

El-Refaei, M. F., Abduljawad, S. H., & Alghamdi, A. H. (2014). Alternative medicine in diabetes-role of angiogenesis, oxidative stress, and chronic inflammation. *The Review of Diabetic Studies: RDS*, 11(3): 231-244.

Espinosa-González, A. M., García-Bores, A. M., Benítez-Flores, J. D. C., Sandoval-Pérez, C. E., González-Valle, M. D. R., Céspedes, C. L. & Avila-Acevedo, J. G. (2016). Photoprotective effect of verbascoside from *Buddleja cordata* in SKH-1 mice exposed to acute and chronic UV-B radiation. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 15(5): 288-300.

Estrada, M.E. (2010). Producción de fenilpropanoides en cultivos celulares y rizogénicos de *Buddleja cordata*, planta empleada en la Medicina Tradicional Mexicana. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de México.

Etoh, T., Inoguchi, T., Kakimoto, M., Sonoda, N., Kobayashi, K., Kuroda, & Nawata, H. (2003). Increased expression of NAD (P) H oxidase subunits, NOX4 and p22phox, in the kidney of streptozotocin-induced diabetic rats and its reversibility by interventive insulin treatment. *Diabetologia*, 46 (10): 1428-1437.

Evans, J.L., Goldfine, I.D., Maddux, B.A. & Grodsky, G.M. (2002). Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* 23: 599–622.

Fardy, H. & Silverman, F. (1995). Localización celular y lugar específico de acción de cada antioxidante. *Arch Dis Child*. 73: F112-117.

- Farnsworth, N. R., Akerele, O., Bingel, A. S., Soejarto, D. D. & Guo, Z. (1985). Medicinal plants in therapy. *Bulletin of the World Health Organization*, 63(6): 965-981.
- Federación Internacional de Diabetes. Atlas de la DIABETES de la FID. 8 ed. Bruselas. Federación Internacional de Diabetes; 2017 [Internet] [Citado 6 junio 2018]. Disponible en: http://diabetesatlas.org/IDF_Diabetes_Atlas_8e_interactive_ES/
- Fernandes, S. M., Cordeiro, P. M., Watanabe, M., Fonseca, C. D. & Vattimo, M. F. (2016). The role of oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats. *Archives of Endocrinology and Metabolism*, 60(5): 443-449.
- Fine, L. (1986). The biology of renal hypertrophy. *Kidney international*, 29(3), 619-634.
- Frankel, E. N. (2007). Antioxidants in Food and Biology. Facts and Fiction; The Oily Press: Bridgwater, England, 260 p.
- Galván, C., Guisado-Barrilao, R., García, M. C., Ochoa, J. & Ocaña-Wilhelmi, J. (2008). Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. *Revista Andaluza de Medicina del Deporte*, 1(2): 61-72.
- García-Bellón, A. M. (2013). Prevalencia de aterosclerosis en pacientes diabéticos tipo 2 asintomáticos diagnosticados por TAC coronario multicorte. Relación con el grado control. Tesis de doctorado. Universidad de Málaga, Málaga, 262 p.
- García-García, P. L. & Cano-Santana, Z. (2015). Nutritional ecology, growth and density of *Acronyctodes mexicanaria* (Lepidoptera: Geometridae) on a dioecious plant *Buddleja cordata* (Scrophulariaceae). *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 86(1): 172-177.
- Garud, M. S. & Kulkarni, Y. A. (2018). Gallic acid attenuates type I diabetic nephropathy in rats. *Chemico-Biological Interactions*, 282: 69-76.
- Garud, M.S. & Kulkarni, Y.A. (2014). Hyperglycemia to Nephropathy via Transforming Growth Factor Beta. *Current Diabetes Reviews*, 10(3): 182-189.
- Giacco, F. & Brownlee, M. (2010). Oxidative stress and diabetic complications. *Circulation research*, 107(9): 1058-1070.
- González-Rebeles, G. G. (2012). Efecto de cinco años de acciones de restauración sobre la comunidad vegetal y dos poblaciones de artrópodos en el área A11 de la Reserva del Pedregal de San Ángel. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, México. D.F, 81 p.

- Gorin, Y. & Block, K. (2013). Nox4 and diabetic nephropathy: With a friend like this, who needs enemies? *Free Radic Biol Med*, 61C: 130–42.
- Grover, J. K., Vats, V., Rathi, S. S. & Dawar, R. (2001). Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 76(3): 233-238.
- Gupta, R., Mathur, M., Bajaj, V. K., Katariya, P., Yadav, S., Kamal, R. & Gupta, R. S. (2012). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. *Journal of Diabetes*, 4(2): 164-171.
- Gutiérrez-Rodelo, C., Roura-Guiberna, A. & Olivares-Reyes, J. A. (2017). Mecanismos Moleculares de la Resistencia a la Insulina: Una Actualización. *Gaceta Médica de México*, 153(2): 214-228.
- Guzmán-Hernández, E. A. & Segura-Cobos, D. (2015). Mecanismos de inducción de la matriz extracelular en la nefropatía diabética. *Revista Cubana de Endocrinología*, 26(3): 278-291.
- Hakim, Z. S., Patel, B. K. & Goyal, R. K. (1997). Effects of chronic ramipril treatment in streptozotocin-induced diabetic rats. *Indian journal of physiology and pharmacology*, 41(4): 353-360.
- Han, X., Wu, Y. C., Meng, M., Sun, Q. S., Gao, S. M. & Sun, H. (2018). Linarin prevents LPS-induced acute lung injury by suppressing oxidative stress and inflammation via inhibition of TXNIP/NLRP3 and NF-κB pathways. *International Journal of Molecular Medicine*, 42(3): 1460-1472.
- Hattori, T. (1995). Effect of acteoside (TJC-160) on expression of adhesion molecules in rat anti-GBM nephritis. *Enshou (Inflammation)*, 5: 101-105.
- Hattori, T., Fujitsuka, N. & Shindo, S. (1996). Effect of acteoside on mesangial proliferation in rat anti-Thy 1 nephritis. *The Japanese Journal of Nephrology*, 38(5): 202-212.
- Hayashi, K., Nagamatsu, T., Ito, M., Hattori, T. & Suzuki, Y. (1994). Acteoside, a component of *Stachys sieboldii* MIQ, may be a promising antinephritic agent (2): Effect of acteoside on leukocyte accumulation in the glomeruli of nephritic rats. *The Japanese Journal of Pharmacology*, 66(1): 47-52.
- Hegde, S. V., Adhikari, P., Nandini, M. & D'Souza, V. (2013). Effect of daily supplementation of fruits on oxidative stress indices and glycaemic status in type 2 diabetes mellitus. *Complementary Therapies in Clinical Practice*, 19(2): 97-100.

- Helal, I., Fick-Brosnahan, G. M., Reed-Gitomer, B. & Schrier, R. W. (2012). *Glomerular hyperfiltration: definitions, mechanisms and clinical implications. Nature Reviews Nephrology*, 8(5): 293–300.
- Hodgkinson, A. D., Søndergaard, K. L., Yang, B., Cross, D. F., Millward, B. A. & Demaine, A. G. (2001). Aldose reductase expression is induced by hyperglycemia in diabetic nephropathy. *Kidney International*, 60(1): 211-218.
- Houghton, P. J. (1984). Ethnopharmacology of some *Buddleja* species. *Journal of Ethnopharmacology* 11 (3): 293–308.
- Inoguchi, T., Sonta, T., Tsubouchi, H., Etoh, T., Kakimoto, M., Sonoda, N., Sato, N., Sekiguchi, N., Kobayashi, K., Sumimoto, H., Utsumi, H. & Nawata, H. (2003). Protein kinase C-dependent increase in reactive oxygen species (ROS) production in vascular tissues of diabetes: role of vascular NAD (P) H oxidase. *Journal of the American Society of Nephrology*, 14 (suppl 3): S227-S232.
- Jiang, T., Huang, Z., Lin, Y., Zhang, Z., Fang, D. & Zhang, D. D. (2010). The Protective Role of Nrf2 in Streptozotocin-Induced Diabetic Nephropathy. *Diabetes*, 59(4): 850–860.
- Johansson, E. B. & Tjälve, H. (1978). Studies on the tissue-disposition and fate of [14C] streptozotocin with special reference to the pancreatic islets. *Acta Endocrinologica*, 89(2): 339-351.
- Kang, S. S., Fears, R., Noiro, S., Mbanya, J.N. & Yudkin, J. (1982). Changes in metabolism of rat kidney and liver caused by experimental diabetes by dietary sucrose. *J. Diabetol.* 22: 285–288.
- Karasu, Ç. (1999). Increased activity of H₂O₂ in aorta isolated from chronically streptozotocin-diabetic rats: effects of antioxidant enzymes and enzyme inhibitors. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(1-2): 16-27.
- Katyal, T., Sharma M, Sidhu K, Behera D, Ramji Das Budhiraja R. D. (2009). Beneficial effects of antioxidants on oxidative stress and diabetes-induced experimental nephropathy. *Pharmacologyonline*, 1: 252-263.
- Kehrer, J.P., Tipple, T. E., Robertson, J. D. & Smith, C. V. (2010). Free Radicals and Reactive Oxygen Species. *Comprehensive Toxicology (Second Edition)*, 1: 277-307.
- Kern, T. S., & Engerman, R. L. (1990). Arrest of glomerulopathy in diabetic dogs by improved glycaemic control. *Diabetologia*, 33(9): 522-525.

- Khoury, C. C., Chen, S. & Ziyadeh, F. N. (2015). Pathophysiology of Diabetic Nephropathy. *Chronic Renal Disease*, pp. 151–162. Elsevier Inc.
- Kim, Y. H., Lee, Y. S. & Choi, E. M. (2011). Linarin isolated from *Buddleja officinalis* prevents hydrogen peroxide-induced dysfunction in osteoblastic MC3T3-E1 cells. *Cellular Immunology*, 268(2): 112-116.
- King, G. L., & Loeken, M. R. (2004). Hyperglycemia-induced oxidative stress in diabetic complications. *Histochemistry and cell biology*, 122(4), 333-338.
- Kirkman HN, y Gaetani GF (2007). Mammalian catalase: a venerable enzyme with new mysteries. *Trends Biochem Sci*, 32(1): 44-50.
- Kishore, L., Kaur, N., & Singh, R. (2016). Nephroprotective effect of *Paeonia emodi* via inhibition of advanced glycation end products and oxidative stress in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic nephropathy. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(3): 576-588.
- Kitada, M., Ogura, Y., & Koya, D. (2016). Rodent models of diabetic nephropathy: their utility and limitations. *International Journal of Nephrology and Renovascular Disease*, 9: 279-290.
- Kizub IV (2014). Protein Kinase C and Rho-Associated Coiled-Coil Kinase in Mechanisms of Ca²⁺ Sensitization in Diabetes-Induced Vascular Smooth Muscle Hypercontractility. *Austin J Vasc Med*, 1(1): 8.
- Kowluru, R. A. (2003). Effect of reinstatement of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrate stress in diabetic rats. *Diabetes*, 52(3), 818-823.
- Krishan, P. Chakkarwarb, V. A (2011). Diabetic nephropathy: Aggressive involvement of oxidative stress. *J Pharm Educ Res*, 2(1): 35–41.
- Krishnaiah, D., Sarbatly, R. & Nithyanandam, R. (2011). A review of the antioxidant potential of medicinal plant species. *Food Bioprod. Process.* 89: 217–233.
- Laddha, A. P. & Kulkarni, Y. A. (2018). Tannins and Vascular Complications of Diabetes: An update. *Phytomedicine* 56: 229-245.
- Lázaro-carrasco, I. (2017). Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo 2. Trabajo fin de grado. Universidad complutense de Madrid. Madrid, España, 20 p.
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan-and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2): 216-226.

- Li, J. & Gobe, G. (2006). Protein kinase C activation and its role in kidney disease. *Nephrology*, 11(5): 428-434.
- Lopes, A. A. (2009). End-stage renal disease due to diabetes in racial/ethnic minorities and disadvantaged populations. *Ethn Dis*, 19: S1(47–51). Review.
- López Stewart, G. (2014). Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy: A world health organization guideline, 103: 341-363.
- Loredo Núñez, E. (2006). Estudio de la nefropatía diabética en ratas. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 138 p.
- Luo, X., Wu, J., Jing, S., & Yan, L. J. (2016). Hyperglycemic stress and carbon stress in diabetic glucotoxicity. *Aging and disease*, 7(1): 90-110.
- Machlin, L. J., & Bendich, A. (1987). Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *The FASEB Journal*, 1(6), 441-445.
- Madrazo Rojas, A. (2015). Evaluación farmacológica de *Malva parviflora* en un modelo de insuficiencia renal. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec de Zaragoza, Morelos, 85 p.
- Málaga-Guerrero, S. & Antón-Gamero, M. (1997). La problemática del riñón único durante la infancia. *Boletín De La Sociedad De Pediatría De Asturias, Cantabria, Castilla Y León*. 37; 67-72.
- Malatiali, S., Francis, I., & Barac-Nieto, M. (2008). Phlorizin Prevents Glomerular Hyperfiltration but not Hypertrophy in Diabetic Rats. *Experimental Diabetes Research*, 2008: 1-7.
- Marra, G., Cotroneo, P., Pitocco, D., Manto, A., Di Leo, M. A., Ruotolo, V., Caputo, S., Giardina, B., Ghirlanda, G. & Santini, S. A. (2002). Early increase of oxidative stress and reduced antioxidant defenses in patients with uncomplicated type 1 diabetes: a case for gender difference. *Diabetes care*, 25(2): 370-375.
- Martinez, E. (1999). Estudio de *Buddleja cordata* H.B.K. (*Loganiaceae*), Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 113 p.
- Martínez, M. (2010) Las Plantas Medicinales de México. Tomo I. 7th edition. México, D.F: Editorial Botas.
- Martínez-Vásquez, M., Apan, T.O.R., Lastra, A.L. & Bye, R. (1996). Analgesic and antipyretic activities of an aqueous extract and of the flavone linarin of *Buddleja cordata*. *Planta Medica* 64: 134– 137.

- Mcintosh, CHS, y Pederson, RA. (1999). Non-insulin-dependent animal models of diabetes mellitus. En McNeill, J.H. *Experimental Models of Diabetes*. CRC Press LLC, 337-398.
- Meir, S., Kanner J, Akiri B. & Hadas S. P. (1995). Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative defense systems of various senescing leaves. *J Agric Food Chem*, 43: 1813–1819.
- Mendoza, G., & Lugo, R. (2010). Farmacia Viviente, conceptos, reflexiones y aplicaciones. *Universidad Autónoma de Chapingo, México*, p. 216.
- Mestry, S. N., Dhodi, J. B., Kumbhar, S. B., & Juvekar, A. R. (2017). Attenuation of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats by *Punica granatum* Linn. leaves extract. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 7(3): 273-280.
- Meza, C.E., San Martín, A. S., Ruiz, J. J. & Frugone, C. J. (2017). Fisiopatología de la nefropatía diabética: una revisión de la literatura. *Medwave*, 16(1): 6839.
- Miao L, St. Clair DK (2009). Regulation of superoxide dismutase genes: implications in disease. *Free Rad Biol Med*, 47: 344-56.
- Miranda-Díaz, A. G., Pazarín-Villaseñor, L., Yanowsky-Escatell, F. G., & Andrade-Sierra, J. (2016). Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy with Early Chronic Kidney Disease. *Journal of Diabetes Research*, 2016: 7047238, 1-7.
- Modak M, Dixit P, Londhe J, Ghaskadbi S, Devasagayam TP. (2007). Indian herbs and herbal drugs used for the treatment of diabetes. *J Clin Biochem Nutr*, 40(3):163-173.
- Mogensen, C.E, y Schmitz, O. (1988). The diabetic kidney: from hyperfiltration and microalbuminuria to end-stage renal failure. *Med. Clin. North Am.*, 72(6):1465-1492.
- Montier Iglesias, A., Arencibia, R., Luís, A., Gómez García, M. L., Pérez Cardoso, J. J. & Quintana Pérez, Q. (2015). Estrés oxidativo en la diabetes mellitus papel de la vitamina E y antioxidantes endógenos. *Revista de Ciencias Médicas de Pinar del Río*, 19(5): 973-985.
- Mora-Fernández C, Macías Heras M, Martínez-Castellao A, Gorriz Teruel, J, De Álvaro-Moreno F. & Navarro-González, F. (2008). Fisiopatología de la nefropatía diabética. *Nefrología*, 1(1):28-38.

- Negi, G., Kumar, A., Joshi, R. P., Ruby, P. K., & Sharma, S. S. (2011). Oxidative stress and diabetic neuropathy: current status of antioxidants. *Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Journal*, 2(6), 71-78.
- Niedowicz, D. M. & Daleke, D. L. (2005). The role of oxidative stress in diabetic complications. *Cell biochemistry and biophysics*, 43(2): 289-330.
- Nordberg, J. & Arner, E. J. (2001). Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian Thioredoxin system. *Free Radical Biol Med*, 31(11): 1287–312.
- Norman, E. M. (1973). The genus *Buddleja* in North America. *Gentes Herbarium*, 10: 47-114.
- Ohga, S., Shikata, K., Yozai, K., Okada, S., Ogawa, D., Usui, H., Wada, J., Shikata, Y. & Makino, H. (2007). Thiazolidinedione ameliorates renal injury in experimental diabetic rats through anti-inflammatory effects mediated by inhibition of NF- κ B activation. *Am. J. Physiol Renal Physiol*. 292, F1141–F1150
- Oikari, S., Makkonen, K., Deen, A. J., Tyni, I., Kärnä, R., Tammi, R. H., & Tammi, M. I. (2016). Hexosamine biosynthesis in keratinocytes: roles of GFAT and GNPDA enzymes in the maintenance of UDP-GlcNAc content and hyaluronan synthesis. *Glycobiology*, 26(7), 710-722.
- Okon, U. A., Owo, D. U., Udokang, N. E., Udobang, J. A., y Ekpenyong, C. E. (2012). Oral administration of aqueous leaf extract of *Ocimum gratissimum* ameliorates polyphagia, polydipsia and weight loss in streptozotocin-induced diabetic rats. *American Journal of Medicine and Medical Sciences*, 2(3), 45-49.
- Oktay, M., Gülçin, İ. & Küfrevioğlu, Ö. İ. (2003). Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. *LWT-Food Science and Technology*, 36(2), 263-271.
- Ordaz, P. (1996). Evaluación in vitro de la actividad amebicida de compuestos obtenidos de *Buddleia cordata* sobre varias especies de *Acanthamoeba*, *Hartmannella* y *Vahlkampfia*. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México (Disertación Doctoral, Tesis de Grado).
- Ortiz, Z. (1996). “Actividad antibacteriana de la raíz de *Buddleia cordata*”. Tesis licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Tlalnepantla, Estado de México. 75 pp.

- Paglia, D. E. & Valentine, W. N. (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 70(1), 158-169.
- Pappacio, G., Psiante, FA. & Frascatore, S. (1986). Acetyl-homocysteine-thiocolactone-induced increase of superoxide dismutase counteracts the effect of subdiabetogenic doses of streptozotocin. *Diabetes*, 35: 470-474.
- Pedraza-Chaverri J., Eugenio., D. & Molina, E. (2016). Uso de activadores naturales de Nrf2 en diversas condiciones patológicas. *Mensaje Bioquímico*, 40, 211-230.
- Pendota, S. C., Ndhlala, A. R., Aremu, A. O., Aderogba, M. A. & Van Staden, J. (2014). Anti-inflammatory, antioxidant and in silico studies of *Buddleja salviifolia* (L). Lam leaf constituents. *South African Journal of Botany*, 93: 79-85.
- Pennell, J. P., Millard, M. M. & Ashby, M. H. (1981). Proteinuria in the acutely diabetic rat and its response to insulin treatment. *Diabetologia*, 21(1): 54-57.
- Pérez-Barrón, G., Ávila-Acevedo, J. G., García-Bores, A. M., Montes, S., García-Jiménez, S., León-Rivera, I., Rubio-Osornio, M. & Monroy-Noyola, A. (2014). Neuroprotective effect of *Buddleja cordata* methanolic extract in the 1-methyl-4-phenylpyridinium Parkinson's disease rat model. *J. Nat. Med.*, 69(1): 86-93.
- Ramos-Ibarra, M. L., Batista-González, C. M., Gómez-Meda, B. C. & Zamora-Pérez, A. L. (2006). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud*, 8(1).
- Ramos, M. A. (2013) Efecto protector de la S-alil-cisteína en la nefropatía diabética en rata. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F, 66 p.
- Ranjbar, A., Ghasemi, H., Hatami, M., Dadras, F., Shayesteh, T. H. & Khoshjou, F. (2016). Tempol effects on diabetic nephropathy in male rats. *Journal of Renal Injury Prevention*, 5(2), 74.
- Rao, P. S., Kalva, S., Yerramilli, A. & Mamidi, S. (2011). Free radicals and tissue damage: role of antioxidants. *Free Radicals and Antioxidants*, 1(4), 2-7.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1996. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20(7): 933-956.
- Rodríguez-Perón, J. M, Menéndez-López, J. R. & Trujillo-López, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit*, 30(1): 36-44.

- Rodríguez, S. A., Meneses, L., Toboso R. P. Q. & Moreno, I. H. (2012). Diabetes mellitus. *Medicine*, 11(17), 995-1002.
- Romero, S., Aguilar, S., & Rojas, E. C. (2003). *Buddleja cordata* HBK ssp. *cordata* (Buddlejaceae): propagación y anatomía de la madera. *Polibotánica*, 16(3): 63-77.
- Ruikar, A. D., Khatiwora, E., Ghayal, N. A., Misar, A. V., Mujumdar, A. M., Puranik, V. G., & Deshpande, N. R. (2011). Studies on aerial parts of *Artemisia pallens* wall for phenol, flavonoid and evaluation of antioxidant activity. *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 3(2), 302-305.
- Rydén, L., Standl, E., Bartnik, M., Van den Berghe, G., Betteridge, J., de Boer, M. J., ... Thrainsdottir, I. (2007). Guías de práctica clínica sobre diabetes, prediabetes y enfermedades cardiovasculares. *Revista Española de Cardiología*, 60(5): e1-e64.
- Rzedowski J., y Rzedowski G (1985). Flora Fanerogámica del Valle de México, Volumen II. México, D.F: Instituto Politécnico Nacional e Instituto de Ecología.
- Sánchez-Rodríguez, M, Santiago-Osorio, E, Vargas, L. A. & Mendoza-Nuñez, V. M (2004). Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica*, 29(3), 81-90.
- Sanzana, M. G. & Durruty, P. (2016). Otros tipos específicos de diabetes mellitus. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 27(2): 160-170.
- Schena, F. P., & Gesualdo, L. (2005). Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 16(3 suppl 1): S30-S33.
- Sefi, M., Fetoui, H., Soudani, N., Chtourou, Y., Makni, M. & Zeghal, N. (2012). *Artemisia campestris* leaf extract alleviates early diabetic nephropathy in rats by inhibiting protein oxidation and nitric oxide end products. *Pathology-Research and Practice*, 208(3): 157-162.
- Sellamuthu, P. S., Arulselvan, P., Kamalraj, S., Fakurazi, S. & Kandasamy, M. (2013). Protective Nature of Mangiferin on Oxidative Stress and Antioxidant Status in Tissues of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *ISRN Pharmacology*, 2013, 1–10.
- Sen, S. & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. *Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy*, 1083: 1-37.

- Serna Higueta, L. M., Pineda Trujillo, N., García Cepero, A. M., Aguirre Caicedo, M., Alfaro Velásquez, J. M., Balthazar González, V. & Vanegas, J. J. (2009). Nefropatía diabética. *Medicina UPB*, 28(1).
- Seyer-Hansen, K (1976). Renal hypertrophy in streptozotocin diabetic rats. *Clin Sci Mol Med* 51(6): 551-555.
- Seyer-Hansen, K. (1983). Renal hypertrophy in experimental diabetes mellitus. *Kidney International*, 23(4): 643-646.
- Shahbazian, H. & Rezaii, I. (2013). Diabetic kidney disease; review of the current knowledge. *Journal of Renal Injury Prevention*, 2(2): 73.
- Sharma, D., Bhattacharya, P., Kalia, K., & Tiwari, V. (2017). Diabetic nephropathy: New insights into established therapeutic paradigms and novel molecular targets. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 128: 91–108.
- Stanton RC. (2011). Oxidative stress and diabetic kidney disease. *Curr Diab Rep*, 11: 330–6.
- Stephen, T. & Gian-Carlo, V. (2003). Diabetic Nephropathy. *Medicine*, 31(7):91–4.
- Stocker R, Glazer AN, Ames BN (1987). Antioxidant activity of albumin bound bilirubin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 84: 5918-22.
- Storino, M. A., Contreras, M. A., Rojano, J., Serrano, R. & Nouel, A. (2014). Complicaciones de la diabetes y su asociación con el estrés oxidativo: un viaje hacia el daño endotelial. *Revista Colombiana de Cardiología*, 21(6): 392-398.
- Sung, J. K., Koh, J. H., Lee, M. Y., Kim, B. H., Nam, S. M., Kim, J. H., Yoo, J. H., Kim, S. H. Hong, S. W., Lee, E. Y., Choi, R. & Chung, C. H. (2010). Aldose reductase inhibitor ameliorates renal vascular endothelial growth factor expression in streptozotocin-induced diabetic rats. *Yonsei Medical Journal*, 51(3), 385-391.
- Suryavanshi, S. V. & Kulkarni, Y.A. (2017). NF-κB: A Potential Target in the Management of Vascular Complications of Diabetes. *Front Pharmacol* 8(798): 1-12.
- Szkudelski, T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological Research*, 50(6): 537–546.
- Tervaert, TWC, Mooyaart, AL, Amann, K, Cohen, AH, Cook, HT, Drachenberg, CB, Ferrario, F, Fogo, AB, Haas, M, De Heer, E. (2010). *Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy*. *J Am Soc Nephrol*. 21(4):556–563.

- Tonneijck, L., Muskiet, M. H. A., Smits, M. M., van Bommel, E. J., Heerspink, H. J. L., van Raalte, D. H., & Joles, J. A. (2017). Glomerular Hyperfiltration in Diabetes: Mechanisms, Clinical Significance, and Treatment. *Journal of the American Society of Nephrology*, 28(4): 1023–1039.
- Umanath, K., & Lewis, J. B. (2018). Update on diabetic nephropathy: core curriculum 2018. *American Journal of Kidney Diseases*, 71(6): 884-895.
- Usuelli, V., & La Rocca, E. (2015). Novel therapeutic approaches for diabetic nephropathy and retinopathy. *Pharmacological Research*, 98: 39–44.
- Valko, M., Leibfritz D, Moncola J, CroninMT, Mazura M, Telser J (2007). Review Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*, 39(1): 44–84.
- Velioglu YS, Mazza G, Gao L and Oomah BD. (1998). Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J. Agric. Food Chem.* 46: 4113-17.
- Vargas A. A. (1985) Loganiaceae. En J. Rzedowski, & G. Rzedowski (Eds.). *Flora Fanerogámica del Valle de México. Vol II: Dicotyledoneae* (pp. 212-213). México, D.F: Instituto Politécnico Nacional e Instituto de Ecología.
- Villano, D., Fernández, M.S., Moya, M., Troncoso, A. & García, M. 2006. Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*. 71(1):230-235.
- Villagrán, A. (2013). Asociación de la función renal y los cambios ecográficos del injerto renal en pacientes de 17 a 40 años trasplantados en el centro médico Lic. Adolfo López mateos de julio a noviembre de 2012. Tesis para obtener el Diploma de Especialista en Radiología. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Estado de México, 59 p.
- Vinod, P. B. (2012). Pathophysiology of diabetic nephropathy. *Clinical Queries: Nephrology*, 1(2): 121–126.
- Wolf, G. (2002). Molecular Mechanisms of Diabetic Mesangial Cell Hypertrophy: A Proliferation of Novel factors. *J Am Soc Nephrol*, 13(10): 2611–2613.
- Wu, J., & Yan, L. J. (2015). Streptozotocin-induced type 1 diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*, 8: 181.

- Xie, P., Sun, L., Oates, P. J., Srivastava, S. K. & Kanwar, Y. S. (2010). Pathobiology of renal-specific oxidoreductase/myo-inositol oxygenase in diabetic nephropathy: its implications in tubulointerstitial fibrosis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 298(6): F1393-F1404.
- Yamagishi, SI., & Matsui, T. (2010). Advanced Glycation end Products, Oxidative Stress and Diabetic Nephropathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 3(2): 101–108.
- Yoh K, Hirayama A, Ishizaki K, Yamada A, Takeuchi M, Yamagishi S, Morito N, Nakano T, Ojima M, Shimohata H, Itoh K, Takahashi S, Yamamoto M. (2008). Hyperglycemia induces oxidative and nitrosative stress and increases renal functional impairment in Nrf2-deficient mice. *Genes Cells*; 13(11), 59–1170
- You, W. P. & Henneberg, M. (2016). Type 1 diabetes prevalence increasing globally and regionally: the role of natural selection and life expectancy at birth. *BMJ Open Diabetes Research and Care*, 4(1):1-7.
- Zheng, H., Whitman, S. A., Wu, W., Wondrak, G. T., Wong, P. K., Fang, D. & Zhang, D. D. (2011). Therapeutic potential of Nrf2 activators in streptozotocin-induced diabetic nephropathy. *Diabetes*, 60(11): 3055-3066.