

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Potencial terapéutico de *Piper aequale* (Cordoncillo) y *Tagetes lucida* (Pericón) como hipoglicemiantes en ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina.

INFORME DE TESIS

CAROLINE STEPHANIA ALDANA JIMÉNEZ

Química Farmacéutica

Guatemala, febrero de 2022

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



Potencial terapéutico de *Piper aequale* (Cordoncillo) y *Tagetes lucida* (Pericón) como hipoglicemiantes en ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina.

INFORME DE TESIS

Presentado por:

CAROLINE STEPHANIA ALDANA JIMÉNEZ

Para optar al título de
Químico Farmacéutico

Guatemala, febrero de 2022

JUNTA DIRECTIVA

| | |
|---------------------------------------|------------|
| M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto | Decano |
| Licda. Miriam Roxana Marroquín Leíva | Secretaria |
| Dr. Juan Francisco Pérez Sabino | Vocal I |
| Dr. Roberto Enrique Flores Arzú | Vocal II |
| Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera | Vocal III |
| Br. Giovani Rafael Funes Tovar | Vocal IV |
| Br. Carol Merarí Caceros Castañeda | Vocal V |

DEDICATORIA

- A Dios
Por ser un amoroso Padre Celestial y hacerme sentir que soy su hija a quien ama infinitamente, por darme su protección, hoy y siempre. Por darme las fuerzas, el consuelo y el ánimo cuando más lo he necesitado
- A mi Esposo
Mi amado Kevin, mi compañero eterno, por ser mi inspiración y motivación, por su amor sincero e incondicional y por tomarme de la mano para continuar con firmeza. Te amo inmensamente.
- A mi mamá
Por su cuidado y amor cada día, por estar para mí y ser mi mejor amiga, por escucharme, apoyarme y por poner su hombro cuando he necesitado llorar y luego motivarme a seguir adelante. Te amo mami.
- A mi papá
Por motivarme cada día a ser profesional y enseñarme a ser mejor persona, por escucharme y dar todo por mí. Porque siempre ha tenido fe en mí y me ha hecho sentir que puedo lograrlo todo, me he sentido amada siempre por ti.
- A mis Hermanos
Tephi y Raúl por ser un buen ejemplo para mí, por enseñarme con sus vidas, que si me esfuerzo recibo bendiciones. Gracias por acompañarme y apoyarme en este camino
- A mis amigos
Andrea, Steven, Maylin Kevin y Sarita, por acompañarme durante los 5 años de carrera, por los desvelos juntos y todos los buenos momentos que pasamos, sin ustedes esto no sería posible. Los llevo siempre en mi corazón.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de San Carlos de Guatemala, por ser mi alma mater y permitirme formarme profesionalmente con ética e integridad.

A la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias por prepararme académicamente, por facilitar las herramientas para obtener el conocimiento necesario y acogerme en sus instalaciones durante cinco años.

A mi asesor, PhD. Rodrigo Castañeda, a quién tengo profunda admiración y respeto, por brindarme de su tiempo, dedicación, conocimientos y apoyo para culminar mis estudios y formarme profesionalmente.

A mi revisora Licda. Gloria Navas, por su tiempo y paciencia, y facilitar los procesos para culminar esta etapa con éxito.

Al Bioterio y Laboratorio de Farmacología Experimental de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacias, por darme los recursos e instalaciones para llevar a cabo esta investigación y por darme la confianza de participar en experimentos *in vivo*.

Al equipo de investigación del laboratorio, Diana, Agustín, David y Cesar, por su apoyo, compañía y buenos momentos en el laboratorio mientras estábamos en experimento.

Al Laboratorio de Productos Naturales -LIPRONAT- por brindarme los extractos alcohólicos de las especies utilizadas *T. lucida* y *P. aequale*.

ÍNDICE

| | | |
|----------|--|----|
| 1. | RESUMEN | 1 |
| 2. | INTRODUCCIÓN | 2 |
| 3. | ANTECEDENTES | 4 |
| 3.1. | Diabetes Mellitus..... | 4 |
| 3.1.1. | Epidemiología | 5 |
| 3.1.2. | Fisiopatología..... | 5 |
| 3.1.2.1. | Diabetes Mellitus Tipo 1 | 6 |
| 3.1.2.2. | Diabetes Mellitus Tipo 2 | 7 |
| 3.1.3. | Efecto de la diabetes tipo 1 en el metabolismo | 8 |
| 3.2. | Enfoques terapéuticos..... | 11 |
| 3.2.1. | Terapia de nutrición médica. | 11 |
| 3.2.2. | Tratamiento farmacológico | 12 |
| 3.2.3. | Tratamiento quirúrgico | 16 |
| 3.3. | Modelos de ensayos para estudios de Diabetes y tratamientos antidiabéticos... 17 | |
| 3.3.1. | Modelos experimentales <i>In vitro</i> | 17 |
| 3.3.2. | Modelos experimentales <i>In vivo</i> | 18 |
| 3.4. | Productos naturales | 20 |
| 3.4.1. | Fitoterapia de diabetes..... | 20 |
| 3.4.2. | Mecanismos de acción..... | 21 |
| 3.5. | Aspectos farmacognósticos de las especies evaluadas | 24 |
| 3.6. | Desarrollo de nuevos fármacos | 28 |
| 4. | JUSTIFICACIÓN | 30 |
| 5. | OBJETIVOS..... | 32 |
| 5.1. | Objetivo general | 32 |
| 5.2. | Objetivos específicos | 32 |
| 6. | HIPÓTESIS..... | 33 |
| 7. | MATERIALES Y MÉTODOS | 34 |
| 7.1. | Universo..... | 34 |
| 7.2. | Muestra..... | 34 |
| 7.3. | Materiales | 34 |

| | | |
|--------|---|----|
| 7.3.1. | Insumos de laboratorio | 34 |
| 7.3.2. | Materiales biológicos | 34 |
| 7.3.3. | Drogas y reactivos | 34 |
| 7.3.4. | Equipos..... | 35 |
| 7.4. | Métodos..... | 35 |
| 7.4.1. | Declaración ética | 35 |
| 7.4.2. | Diseño experimental | 35 |
| 7.4.3. | Selección de especies vegetales a investigar..... | 36 |
| 7.4.4. | Preparación de extractos vegetales | 36 |
| 7.4.5. | Inducción de diabetes con STZ..... | 37 |
| 7.4.6. | Análisis de glucosa en sangre en plasma | 37 |
| 7.4.7. | Análisis estadístico | 38 |
| 8. | RESULTADOS | 39 |
| 9. | DISCUSIÓN46 | |
| 10. | CONCLUSIONES | 50 |
| 11. | RECOMENDACIONES | 51 |
| 12. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 52 |

1. RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo evaluar el impacto de los extractos alcohólicos de las especies nativas de uso tradicional *Tagetes lucida* (Pericón) y *Piper aequale* (Cordoncillo) en la regulación de la hiperglucemia en ratones diabéticos CD-1 machos de 8 semanas de edad inducidos por dos inyecciones vía intraperitoneal (IP) en dos dosis de 55 mg/kg de estreptozotocina (STZ). Los ratones diabéticos se dividieron en seis grupos (8 ratones por grupo) de manera tal, que la media de glucosa en sangre y peso corporal, tras cuatro semanas de inducción, quedaron similares entre grupos, siendo los grupos los siguientes: grupo control diabético STZ, grupo tratado con *T. lucida* en dosis de 100 mg/kg/día y 50 mg/kg/día vía oral (PO), el grupo tratado con *P. aequale* en dosis de 100 mg/kg/día y 50 mg/kg/día PO y el grupo control positivo tratado con glibenclamida y un grupo con ratones no diabéticos (Normal).

Se administró extracto de *T. lucida* y *P. aequale* durante 10 semanas y se evaluó la eficacia de los extractos para regular la hiperglucemia al día 0, 30 y 60 del periodo experimental en comparación con el control STZ, para determinar si alguno de estos extractos tiene la capacidad de detener la progresión de la elevación de la glucosa sanguínea y evaluar si el efecto de los extractos candidatos tienen efecto hipoglicemiante similar o mayor al control positivo Glibenclamida en su dosis recomendada (5 mg/kg/día PO).

Los resultados registrados indicaron que la administración de STZ provocó un aumento significativo ($p < 0.01$) de glucosa en sangre después de 4 semanas de progresión diabética comparado con el grupo normal. La administración oral de *T. lucida* en la dosis de 100 mg/kg/día disminuyó significativamente ($p < 0.05$) los valores de glucosa en sangre en los ratones diabéticos en comparación con los valores del grupo STZ, sin embargo, el efecto hipoglicemiante no fue mayor al efecto observado en el grupo d glibenclamida. Mientras que el extracto de *P. aequale* no mejoró los niveles de glucosa en sangre en ninguna de las dosis probadas. El peso corporal de los ratones diabéticos se mantuvo bajo durante las diez semanas del periodo experimental comparado con el peso corporal del grupo normal. Ninguno de los grupos tratados con los extractos candidatos mejoró el peso corporal de los ratones diabéticos.

Estos hallazgos sugieren que el tratamiento con *Tagetes lucida* 50-100 mg/kg/día tiene un efecto hipoglicemiante al detener la progresión de la diabetes; sin embargo, se necesitan más estudios complementarios para fortalecer los resultados obtenidos.

2. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus es un trastorno metabólico de carbohidratos, grasas y proteína, y ha incrementado anualmente alrededor del mundo. Se estima que el número de pacientes diabéticos crecerá de 382 millones de pacientes en el año 2013 a 592 millones en el año 2035 (Sheweita et al., 2016). La mayoría de los pacientes diabéticos son no dependiente de insulina y pequeñas proporciones (7 – 10%) de pacientes son diabéticos dependientes de insulina (DM-I). La diabetes tipo 1 (DM-I). es un desorden crónico que resulta de la destrucción autoinmune de las células β del páncreas. Por lo tanto, la deficiencia de insulina y la hiperglicemia son los principales resultados de DM-I. Esto puede provocar perturbaciones en la homeostasis de glucosa y lípidos resultando en hiperglicemia y dislipidemia (Padgett et al., 2013)

Una persistente hiperglicemia en diabetes causa un incremento en la producción de radicales libres de oxígeno de la autooxidación de glucosa y la glicación de proteínas, lo que conduce a un estrés oxidativo asociado con complicaciones severas incluyendo desordenes cardiovasculares, ceguera, falla renal, neuropatías y cáncer (Goyal et al., 2016).

Se necesita un modelo *in vivo* confiable que permita estudiar las características fisiopatológicas, metabólicas y farmacológicos de la diabetes y se aproxime a la enfermedad humana, para ello se ha usado ampliamente estreptozotocina (STZ) en animales de experimentación porque las alteraciones estructurales, funcionales y bioquímicas observadas en la diabetes inducida por STZ se asemejan a las a las observadas en humanos. Por lo tanto, la inducción de diabetes por STZ representa un modelo relevante para estudiar la patogénesis de DM-I y las complicaciones asociadas en animales de experimentación (Goyal et al., 2016). La STZ daña selectivamente las células β , al invadir la célula por el transportador de glucosa GLUT2 causando alquilación del ADN, activación de la ribosilación de Poli-adenosina difosfato y liberación de óxido nítrico y como consecuencia, las células pancreáticas son destruidas por necrosis (Dewangan et al., 2017).

Las terapias existentes contra la DM incluyen fármacos hipoglicemiantes sintéticos e insulina. Por lo general, estas drogan se dirigen a una única vía metabólica para regular la hiperglucemia y se combinan con números efectos secundarios y sus eficacias son cuestionables por resistencia por parte de los tejidos pancreáticos (Upendra Rao et al., 2010). Por lo tanto, es imprescindible desarrollar nuevas alternativas terapéuticas como lo son los compuestos bioactivos de plantas que pueden actuar a diferentes niveles como

inhibir la absorción de glucosa del intestino, aumentando la secreción de insulina del páncreas, mejorando la absorción de glucosa por el tejido adiposo y tejidos musculares o inhibir la producción de glucosa por los hepatocitos (Watal et al., 2014).

En consecuencia, hay amplias posibilidades para explorar fitoquímicos como medicina alternativa efectiva con efectos secundarios limitados o nulos y muchas plantas contienen varios fitoconstituyentes como flavonoides, terpenoides, saponinas, carotenoides, alcaloides y glucósidos, cuya capacidad antidiabética se atribuye a su capacidad para mejorar el rendimiento del tejido pancreático, que se realiza aumentando la secreción de insulina o reduciendo la absorción intestinal de glucosa (Sen et al., 2016). Es por ello que el presente estudio realizó una evaluación de dos especies vegetales a dos diferentes dosis, para evaluar su efecto hipoglicemiante, en un modelo *in vivo* validado de DM-I inducida. Para ello la diabetes se indujo en ratones macho de 7 semanas, a partir de dos dosis de STZ (110 mg/kg de peso corporal) vía intraperitoneal en ayuno a partir de dos dosis de STZ (110 mg/kg de peso corporal) vía intraperitoneal en ayuno. Se evaluó durante 10 semanas (después de la inducción) los niveles de glucosa en sangre y se determinó la seguridad y eficacia de los extractos vegetales en diabetes mellitus.

3. ANTECEDENTES

3.1. Diabetes Mellitus

La Diabetes Mellitus (DM) es un término que describe las alteraciones heterogéneas del metabolismo cuyo principal hallazgo es la hiperglucemia crónica con alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas. Esta enfermedad aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina (Ambler et al., 2019; OMS: Organización Mundial de la Salud, 2017).

La diabetes puede presentarse con síntomas característicos como sed excesiva, poliuria, hambre incesante, alteraciones en la vista, cansancio y pérdida de peso. En sus formas más graves, se puede desarrollar cetoacidosis o un estado hiperosmolar no cetósico y provoca estupor, coma y, en ausencia de un tratamiento eficaz, la muerte. (Atkinson & Eisenbarth, 2001; Nambam et al., 2018).

La DM es un síndrome de repercusión multisistémica en donde se observa afección tanto de la microcirculación como la macrocirculación e involucra a diversos tejidos del organismo, como son el páncreas, el tejido adiposo, el hígado, el músculo, el tubo digestivo, riñón entre otros. (Ewing & Parvez, 2010). Debido a este daño multisistémico los efectos a largo plazo son la disfunción y el fallo de varios órganos.

La DM es una enfermedad de carácter progresivo caracterizado con la disminución de la función celular beta de las páncreas, que explica la necesidad de intensificar el tratamiento antidiabético conforme evolucione la historia natural de la patología. Si se pierde el control glucémico durante la progresión diabética se aumenta el riesgo de padecer complicaciones crónicas como retinopatía, nefropatía, neuropatía, enfermedad coronaria y enfermedad cerebrovascular (Fonseca, 2009; Patel et al., 2012).

Se define la progresión diabética en cinco etapas, en las cuales cada una de las etapas está marcada por cambios importantes en la masa celular, el fenotipo y en la función de las células beta pancreáticas. La etapa 1 se describe como compensación, la secreción de insulina aumenta de las células remanentes para mantener los niveles normales de glucosa. La etapa 2 ocurre cuando los niveles de glucosa se elevan a niveles de 5.0 a 6.5 mmol/l, un estado estable de adaptación celular. La etapa 3 es un periodo inestable de descompensación en la que los niveles aumentan relativamente rápido hasta la etapa 4, que se caracteriza por una descompensación estable. Finalmente, está la descompensación severa de la etapa 5 que representa una falla celular profunda con progresión a cetosis (Weir & Bonner-Weir, 2004).

3.1.1. Epidemiología

Aunque la diabetes tipo 1 (DM-I) se puede diagnosticar a cualquier edad, es una de las enfermedades crónicas más comunes en la infancia. Los picos de presentación ocurren entre los 5 y 7 años y en la pubertad o cerca y ella. Mientras que la mayoría de los trastornos autoinmunes afectan desproporcionadamente a las mujeres, la DM-I es ligeramente más común en niños y hombres (Atkinson et al., 2014).

La diabetes tipo 2 (DM-2) es la forma predominante de diabetes y representa al menos el 90% de todos los casos de diabetes mellitus. Se prevé que el aumento de la prevalencia sea mucho mayor en los países en desarrollo que en los desarrollados (69% frente al 20%) (Shaw et al., 2010). EN los países en desarrollo las personas de 40 a 60 años (es decir, edad laboral) son las más afectadas, en comparación con las personas mayores de 60 años en los países desarrollados. Este aumento está relacionado con los cambios hacia un estilo de vida occidental (Dieta alta con actividad física reducida) en los países en desarrollo y el aumento de la prevalencia de sobrepeso y obesidad (Colagiuri, 2010). La incidencia de diabetes aumenta con la edad y la mayoría de los casos se diagnostican después de los 40 años.

Los datos sobre la carga de diabetes en América Latina como región son limitados y heterogéneos, aunque han surgido nuevos datos de esfuerzos coordinados con la Iniciativa Centroamericana de Diabetes patrocinada por la OPS, se ha encontrado una prevalencia combinada en zonas urbanas centroamericanas de 8.5% (Chary et al., 2012). Guatemala está siguiendo las tendencias mundiales y regionales hacia una carga creciente de diabetes, impulsada en parte por un aumento en la prevalencia del estilo de vida sedentario, una mayor urbanización y la erosión de los estilos de vida agrícola tradicionales. Un modelo estadístico reciente estimó un aumento en la prevalencia de diabetes en hombres de 8.9% a 11.5% y en mujeres de 8.0% a 14.0% en las últimas tres décadas. En la capital de la Ciudad de Guatemala la prevalencia de diabetes fue de 8,4% (OPS: Organización Panamericana de la Salud., 2006)

3.1.2. Fisiopatología

La diabetes se caracteriza por un incremento en los niveles de glucosa en sangre y complicaciones por la disfunción de órganos. La DM-I es causado por la apoptosis de células β pancreáticas, mientras que la DM-2 es causada principalmente por no aumentada resistencia a la insulina. La hiperglucemia es la principal causa de la diabetes., la hiperglicemia conduce a una absorción de glucosa por las células β a través del transportador

GLUT2 (Motyl & McCabe, 2009). El exceso de metabolismo de la glucosa por glucólisis y la autorización de glucosa genera radicales libres, como las especies reactivas de oxígeno (ROS). Esto aumenta el estrés oxidativo en las células β favoreciendo la necrosis y apoptosis. Además, las vías inflamatorias activadas como las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAPK) y el factor nuclear $\kappa\beta$ (NF- κ B) causan resistencia a la insulina. Todos estos mecanismos eventualmente contribuyen al desarrollo de diabetes (American Diabetes Association, 2014).

3.1.2.1. Diabetes Mellitus Tipo 1

Históricamente, la diabetes tipo 1 fue considerada en gran medida un trastorno en niños y adolescentes, pero esta opinión ha cambiado en la última década, por lo que la edad de inicio sintomático ya no es un factor restrictivo. La polidipsia, la polifagia y la poliuria (el trío clásico de síntomas asociados con el inicio de la enfermedad) junto con la hiperglucemia manifiesta siguen siendo signos de diagnóstico en niños y adolescentes, y en menor medida en adultos.

La DM-I es una enfermedad crónica autoinmune asociada con la destrucción selectiva de células pancreáticas B productoras de insulina. El inicio de la enfermedad clínica representa la etapa final de la destrucción de las células B que conduce a la DM I.

La DM-I es caracterizada por lo siguiente: presencia de células inmunocompetentes y accesorias en islotes pancreáticos infiltrados; asociación de susceptibilidad a la enfermedad con los genes de clase II (Respuesta inmune) del complejo principal de histocompatibilidad (MHC; antígenos leucocitarios humanos HLA); presencia de autoanticuerpos específicos de células de islotes; alteración de la inmunorregulación mediada por células T en particular en el compartimiento CD4 + células T y la participación de monocinas y las células TH1 que producen interleucinas en el proceso de la enfermedad (Ozougwu, 2013).

Otro concepto indica que el páncreas carece de células productoras de insulina y las células β restantes son incapaces de regenerarse. Ambos conceptos de patogénesis de DM I han sido debatidos. Estudios recientes sugieren que, aunque la mayoría de los pacientes con DM I de larga duración tiene pocas células β , hay evidencia de regeneración de células β en bebés y niños muy pequeños, pero no en adolescentes (Atkinson et al., 2014). La destrucción autoinmune de las células β pancreáticas conduce a una deficiencia de la secreción de insulina que resulta en los trastornos metabólicos asociados con la

Diabetes mellitus dependiente de insulina (IDDM).

Además de la pérdida de la secreción de insulina, la función de las células α -pancreáticas también es anormal y existe una secreción excesiva de glucagón en pacientes con IDDM (Katsarou et al., 2017). Normalmente, la hiperglucemia conduce a una secreción reducida de glucagón, sin embargo, en pacientes con IDDM, la hiperglucemia no suprime la secreción de glucagón (Raju & Raju, 2010).

Los niveles de glucagón elevados inapropiadamente resultantes exacerban los defectos metabólicos debido a la deficiencia de insulina. El ejemplo más pronunciado de esta alteración metabólica es que los pacientes con DM I desarrollan rápidamente cetoacidosis diabética en ausencia de administración de insulina (Nambam et al., 2018).

3.1.2.2. Diabetes Mellitus Tipo 2

La DM 2 es un trastorno heterogéneo causado por una combinación de factores genéticos relacionados con la secreción alterada de insulina, la resistencia a la insulina y factores ambientales como la obesidad, el exceso de alimentación, la falta de ejercicio y el estrés, así como el envejecimiento (Jong-Yuh & Mei-Fen, 2005). Por lo general, es una enfermedad multifactorial que involucra múltiples genes y factores ambientales en diferentes grados.

En condiciones fisiológicas normales, las concentraciones de glucosa en plasma se mantienen dentro de un rango estrecho, a pesar de las grandes fluctuaciones en la oferta y la demanda, a través de una interacción estrechamente regulada y dinámica entre la sensibilidad del tejido a la insulina. En la DM-2 estos mecanismos se descomponen, con la consecuencia de que los dos defectos patológicos principales en la DM-2 son la secreción de insulina alterada a través de una disfunción de las células β pancreáticas y la acción de la insulina alterada a través de la resistencia a la insulina (Dawed et al., 2016).

El número y el volumen de las células β generalmente disminuyen a la mitad de lo normal, y la masa de las células α aumenta, lo que lleva a la hiperglucagonemia. Los islotes exhiben hialinización y deposición de amiloide, que contiene polipéptido amiloide de islote (PPAI) o amilina. Este es un péptido secretor menor de las células β liberadas junto con la insulina y el péptido C, pero su papel en la patogénesis de la DM-2 no se conoce bien. Se cree que esta amilina produce resistencia a la insulina (Samson & Garber, 2018).

La obesidad es más que un simple factor de riesgo; tiene un efecto causal en el desarrollo de DM-2 en un contexto genético. El riesgo de DM-2 aumenta con el aumento de peso

corporal y las personas con obesidad mórbida tienen mayor riesgo de la enfermedad. Exceso de peso corporal, relacionado con la inactividad física y la sobrenutrición da como resultado la acumulación de grasa principalmente en el abdomen y los tejidos viscerales. Los ácidos grasos libres derivados de los tejidos adiposos viscerales reducen la sensibilidad a la insulina y deterioran la función de las células β (lipotoxicidad), lo que resulta en el desarrollo de DM-2 (Raveendran et al., 2020).

La evolución de la obesidad a la DM-2 resulta de una sucesión de eventos fisiopatológicos: aumento de la masa de tejido adiposo, que conduce a una mayor oxidación de lípidos; la resistencia a la insulina observada temprano en la obesidad, revelada por la pinza euglucémica, como una resistencia al almacenamiento de glucosa mediada por insulina y a la oxidación, bloqueando la función del ciclo del glucógeno; a pesar del mantenimiento de la secreción de insulina, el glucógeno no utilizado evita un mayor almacenamiento de glucosa que conduce a DM-2; el agotamiento completo de las células β aparece más tarde (Vancampfort et al., 2016).

3.1.3. Efecto de la diabetes tipo 1 en el metabolismo

La deficiencia de insulina que caracteriza a la DM-I conduce a una lipólisis incontrolada y niveles elevados de ácidos grasos libres en el plasma, lo que suprime el metabolismo de la glucosa en los tejidos periféricos como el musculo esquelético (Raju & Raju, 2010). Esto perjudica la utilización de glucosa y la deficiencia de insulina también disminuye la expresión de varios genes necesarios para que los tejidos objetivo respondan normalmente a la insulina, a continuación, se explica el efecto de la deficiencia de insulina en el metabolismo.

3.1.3.1. Efecto sobre los niveles de glucosa

La DM I no controlada conduce a un aumento de la producción de glucosa hepática. Primero, se movilizan las reservas de glucógeno hepático y luego se utiliza la gluconeogénesis hepática para producir glucosa. La deficiencia de insulina también afecta la utilización de glucosa en el tejido no hepático. En particular en el tejido adiposo y en el musculo Esquelético, la insulina estimula la absorción de glucosa (Prabhakar & Doble, 2008).

Esto se logra mediante el movimiento mediado por insulina de las proteínas transportadoras de glucosa a la membrana plasmática de estos tejidos. La absorción reducida de glucosa por los tejidos periféricos a su vez conduce a una tasa reducida de

metabolismo de la glucosa. Además, el nivel de glucoquinasa hepática está regulado por la insulina. Por lo tanto, una tasa reducida de la fosforilación de glucosa en los hepatocitos conduce a una mayor entrega a la sangre.

La combinación de una mayor producción de glucosa hepática y un metabolismo reducido de los tejidos periféricos conduce a niveles elevados de glucosa en plasma. Cuando se reduce la capacidad de los riñones para absorber la glucosa, se produce la glucosuria, pérdida renal de glucosa que se acompaña de pérdida de agua y electrolitos, esto conduce a la polidipsia y poliuria. El balance calórico negativo, que resulta de la glucosuria y el catabolismo tisular, conduce a un aumento en el apetito y la ingesta de alimentos que es polifagia (Ozougwu, 2013).

3.1.3.2. Efectos en el metabolismo de lípidos

Una función importante de la insulina es estimular el almacenamiento de energía en forma de glucógeno en los hepatocitos y el musculo esquelético, después del consumo de una comida. Además, la insulina estimula a los hepatocitos a sintetizar y almacenar triglicéridos en el tejido adiposo. EN la DM I no controlada hay una rápida movilización de triglicéridos que conduce a mayores niveles de ácidos grasos libres en plasma. Los ácidos grasos libres son absorbidos por numerosos tejidos (excepto el cerebro) y metabolizados para proporcionar energía. Sin embargo, en los hepatocitos, la mayoría de los ácidos grasos se metabolizan en cuerpos cetónicos, que son utilizados para la producción de energía por el cerebro, el corazón y el musculo esquelético. En la DM I, la mayor disponibilidad de ácidos grasos libres y cuerpos cetónicos agrava la utilización reducida de glucosa, favoreciendo la consiguiente hiperglucemia. Además, que la ausencia de insulina produce hipetrigliceridemia (Ozougwu, 2013).

3.1.3.3. Efecto en el metabolismo de proteínas.

La insulina tiene un efecto general sobre el metabolismo de las proteínas, aumentando la tasa de síntesis de proteínas y disminuyendo la tasa de degradación de proteínas. Por lo tanto, la deficiencia de insulina conducirá a un mayor catabolismo de proteínas. La mayor tasa de proteólisis conduce a una concentración elevada de aminoácidos en el plasma. Los aminoácidos glucogénicos sirven como precursores de la gluconeogénesis hepática y renal, lo que contribuye aún más a la hiperglucemia observada en la DM I (Nambam et al., 2018).

Para comprender la patogénesis de DM I se deben realizar análisis de muestras pancreáticas, suero y linfocitos de sangre periférica y los estudios de estos componentes sugieren que una serie de defectos funcionales en la médula ósea y el timo, el sistema inmunitario y las células B contribuyen colectivamente a la fisiopatología de DM I (Ozougwu, 2013).

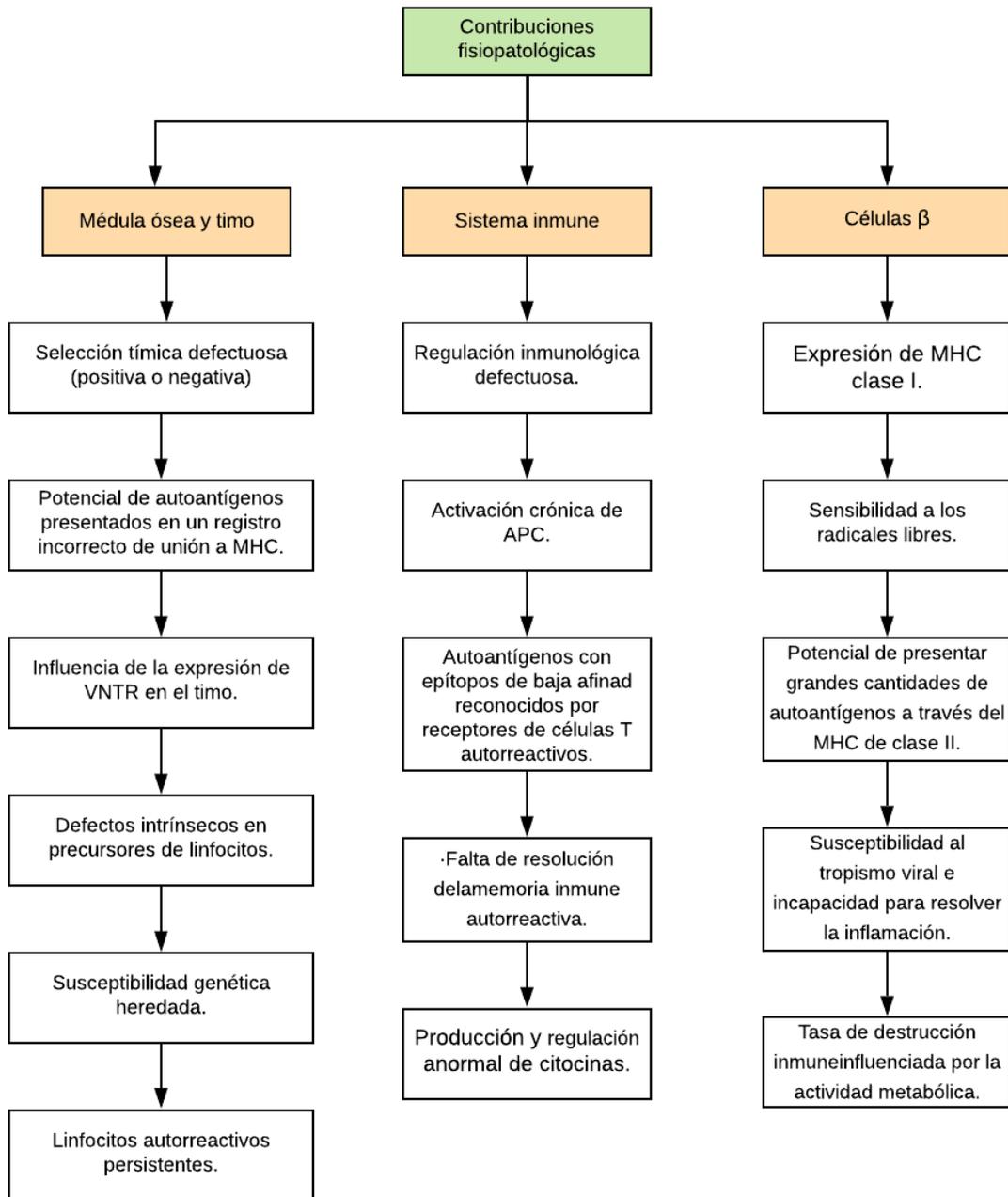


Figura 1. Contribuciones fisiológicas a los procesos patogénicos que subyacen a la DM I. Una serie de defectos que emanan de (A) la médula ósea y el timo, (B) el sistema inmunitario y (C) las células β conducen colectivamente a la pérdida de producción de insulina por mecanismos autoinmunes.

3.2. Enfoques terapéuticos

El manejo óptimo de la diabetes se dirige principalmente al control adecuado de los niveles de glucosa en plasma en el rango de referencia de fisiología normal como en un sujeto sano no diabético. Los niveles de glucosa en plasma en un individuo sano dependen de la ingesta dietética de nutrientes, actividad física y hormonas que controlan la homeostasis de la glucosa, especialmente la insulina (Jiang et al., 2010).

3.2.1. Terapia de nutrición médica.

La respuesta de glucosa en sangre a los alimentos individuales varía de acuerdo con el índice glucémico (IG) y la carga glucémica (CG) de la dieta. IG se calcula por la respuesta de glucosa en sangre 2 horas después de la ingesta de 100 g de un alimento en particular expresado. El valor de CG depende de la cantidad de carbohidratos presentes en un alimento en particular para la digestión y absorción, y se calcula midiendo el contenido de carbohidratos del artículo, multiplicado por su IG y dividido por 100. Un IG de ≤ 55 se considera bajo y ≥ 70 es considerado alto. Del mismo modo, un CG de ≤ 10 se considera bajo y ≥ 20 es considerado alto. Múltiples estudios han demostrado los efectos beneficiosos de la dieta con bajo IG y CG en la mejora de DM2 y sus complicaciones. (Raveendran et al., 2020).

La asociación de diabetes americana utiliza el termino terapia de nutrición médica (TNM) para describir la coordinación optima de ingesta dietética con terapia diabética (tanto farmacológica como no farmacológica) para lograr un resultado favorable. La TNM puede ser utilizada como medida de prevención primaria en el caso de individuos con alto riesgo (prediabetes, obesidad, etc.) para prevenir o retrasar la aparición de DM-2. Las medidas de la TNM secundaria tiene por objeto lograr un control glucémico estricto mediante modificaciones en la dieta y por lo tanto reducir complicaciones en la DM-2. Las medidas de TNM terciaria maneja las complicaciones relacionadas con diabetes, como enfermedad cardiovascular o renal. Además de mejorar la glucosa en sangre, mejora otras comorbilidades tales como hipertensión, dislipidemia y obesidad. Las dietas con bajo IG, los edulcorantes no nutritivos y una dieta baja en calorías ayudan a controlar la diabetes. El aumento de fibra dietética mejora el control glucémico. No se recomienda suplementos rutinarios de vitaminas, antioxidantes y oligoelementos, a menos que haya una deficiencia de las mismas. Las dietas hipocalóricas y bajas en carbohidratos ayudan al control metabólica de la DM 2 (Raveendran et al., 2020).

Un metaanálisis que incluyó 16 estudios (duración del seguimiento de 6 meses a 4

años) revelo que la TNM con dietas que contienen una baja cantidad de carbohidratos y un IG bajo, y con un alto contenido de proteínas resultó en una mejora significativa del control glucémico en pacientes con DM-2 (Ojo & Brooke, 2014). Entre estos tipos de TNM, la DM se asoció con las mayores reducciones de hemoglobina glucosilada (HbA1c) (-0.47%) y peso corporal (-1.84 kg en promedio) (Franz et al., 2010).

Para los pacientes con DM-1 las dosis de insulina pueden calcularse según los principios de conteo de carbohidratos adoptados para que los pacientes mantengan controlada la diabetes. Calcular las proporciones de insulina a carbohidratos ayuda a ajustar la dosis de insulina a la hora de las comidas. Se ha informado una reducción significativamente mayor de HbA1c con esta estrategia (Evert et al., 2014). Por lo tanto, en una situación ideal se debe recomendar el conteo de carbohidratos a todos los pacientes con DM1. Este enfoque también beneficia a los pacientes con riesgo de hipoglucemia porque la dosis adecuada de insulina según el requerimiento metabólico del paciente y la ingesta de alimentos ayuda a prevenir la hipoglucemia.

3.2.2. Tratamiento farmacológico

El tratamiento de la DM se considera como el principal problema mundial y aun no se ha descubierto un tratamiento exitoso. Aunque la terapia con insulina y los agentes hipoglucemiantes orales son la primera línea del tratamiento para la DM, tienen algunos efectos secundarios y no alteran significativamente el curso de las complicaciones diabéticas (Patel et al., 2012).

3.2.2.1. Insulina humana

La insulina humana es un polipéptido, con un peso molecular de 6 kDa, consiste de dos cadenas de aminoácidos A y B, unidas por dos enlaces disulfuro (-S-S-). Un páncreas humano sano contiene acerca de 8 – 10 mg de insulina. La insulina no es adecuada para administración oral por inactivación de enzimas digestiva. El 80% de la insulina ingerida es degradada en el hígado y riñón. La cantidad de insulina secretada por día en una persona sana es alrededor de 40 unidades. La dosis de insulina requerida para controlar la DM depende de cada paciente (Patel et al., 2012)

Se ha desarrollado un tratamiento con insulina humana recombinante que ha llegado a alterar la molécula de la insulina para mejorar la farmacocinética, estos análogos de la insulina pueden absorberse más rápido después de la inyección subcutánea debido a

alteraciones en la molécula que interfiere con la formación de multímeros de insulina (Rother, 2007).

3.2.2.2. Fármacos hipoglucemiantes orales

Las terapias disponibles para el tratamiento oral de DM son las sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de α -glucosidas y glinidas, que pueden usarse solos o en combinación con otras drogas para mejorar el efecto. Muchos de estos agentes antidiabéticos orales tienen numerosos efectos adversos, en consecuencia, el manejo de la diabetes sin ningún efecto adverso sigue siendo un desafío.

Las sulfonilureas, como la glimepirida y liberada, actúan reduciendo la glucosa sanguínea, al aumentar la secreción de insulina de los islotes de Langerhans (Waring, 2016). Esto se logra mediante la unión con el receptor de sulfonilurea en las células β , lo que resulta en el cierre de los canales de potasio dependientes de trifosfato de adenosina. Como resultado, la membrana celular se despolariza y se produce la siguiente entrada de calcio, mediante los canales dependientes de voltaje de Calcio, acompañada de la liberación de insulina almacenada en los gránulos secretores dentro de las células. Este mecanismo funciona solo en presencia de insulina.

Las biguanidas, como metformina, reducen la gluconeogénesis hepática y para reponer la sensibilidad de los tejidos periféricos a la insulina, acciones que se logran mediante la elevación de la absorción estimulada por insulina y el uso de la glucosa (Rosengarten, 1982). Sin embargo, las biguanidas son ineficaces en ausencia de insulina. Se ha estudiado que inhibe la gluconeogénesis a partir de un aumento de AMP que activa la proteína quinasa AMPL, y esto mediaba la supresión de la gluconeogénesis. Recientemente se sugiere un mecanismo adicional mediante la inhibición de la enzima glicerofosfato deshidrogenasa mitocondrial con un aumento posterior de del estado redox citosólico, reduciendo así la gluconeogénesis hepática (Dawed et al., 2016; Rosengarten, 1982).

Los inhibidores de α -glucosidas, como acarbosa y miglitol, inhibe enzimas responsables del rompimiento de carbohidratos en el intestino delgado (Olokoba et al., 2012). Esta clase de hipoglicemiantes actúa reduciendo la tasa de absorción de carbohidratos en el cuerpo. también, acarbosa, inhibe reversiblemente las enzimas pancreáticas α -amilasa y α -glucosidasa al unirse a la región de unión de carbohidratos e interferir con su hidrolisis en monosacáridos, lo que conducen a una absorción más lento

junto con una reducción en los niveles de glucosa en sangre posprandial.

Otra clase importante de agentes hipoglicemiantes son la tiazolidinedionas (TZD), como pioglitazona y rosiglitazona, cuyo mecanismo de acción incluye principalmente la mejora de la sensibilidad muscular y del tejido adiposo a la insulina y, en menor medida, la reducción de la producción de glucosa en el hígado (Marín-Peñalver et al., 2016). Los TZD son agonistas potentes y selectivos del receptor gamma activado por el proliferado de peroxisomas nucleares (PPAR γ) presente en el hígado, el musculo esquelético y el tejido adiposo. La activación de los receptores PPAR γ controla la transcripción de genes sensible a la insulina involucrados en la regulación del transporte, la producción y el uso de glucosa. Además, se ha informado que las TZD aumentan la función de las células β al reducir los niveles de ácidos grasos libres que finalmente conducen a la muerte de las células β .

La última clase de agentes hipoglucemiantes orales son los secretagogos no sulfonilureas, que incluyen meglitinida y repaglinida y que aumenta la secreción de insulina de las células β activas por un mecanismo similar al de las sulfonilureas. Sin embargo, esta clase de antidiabéticos orales se unen a diferentes receptores de células β (Patel et al., 2012).

Para lograr el control de la glucemia en los pacientes con diabetes, se deben tomar en cuenta los siguientes principios en el tratamiento con agentes anti-hiperglucemiantes orales: La metformina es el agente anti hiperglucémico oral inicial preferido; Si la metformina está contraindicada o es intolerable como tratamiento inicial, se puede usar otra clase de agente anti hiperglucémico, dependiendo de la situación clínica (Krentz & Bailey, 2005).

Si la monoterapia no logra el objetivo glucémico, se debe iniciar la terapia de combinación con un segundo agente con un mecanismo de acción diferente y la terapia de combinación dual se puede utilizar como estrategia de manejo inicial, dependiendo del paciente; aunque se puede prescribir la dosis máxima de un solo agente oral, el inicio temprano de la terapia en combinación es adecuada después de considerar la eficacia reductora de la glucosa y los efectos secundarios del medicamento.

Cuando se selecciona una clase de agentes anti hiperglucémicos para la terapia combinada, la eficacia para reducir la glucosa, el riesgo de hipoglucemia, el aumento de

peso corporal y los beneficios cardiovasculares asociados con los medicamentos se consideran preferentemente; deben considerarse los diferentes mecanismos de acción, interacciones farmacológicas y preferencias del paciente para la terapia de combinación con más de dos clases de agentes antidiabéticos. (Waring, 2016).

Aunque las drogas hipoglucemiantes orales sintéticas junto con la insulina son la ruta principal para controlar la diabetes, no logran revertir completamente el curso de sus complicaciones y lo empeoran aún más por el hecho de que también demuestran efectos secundarios prominentes (Malviya et al., 2010). Se han evidenciado varias desventajas relacionadas con el uso de esos, incluidos la resistencia a los medicamentos (reducción de la eficiencia), efectos adversos e incluso la toxicidad. Por ejemplo, las sulfonilureas pierden su efectividad después de 6 años de tratamiento en aproximadamente el 44% de los pacientes, mientras que se informa que los medicamentos para reducir la glucosa no pueden controlar la hiperlipidemia.

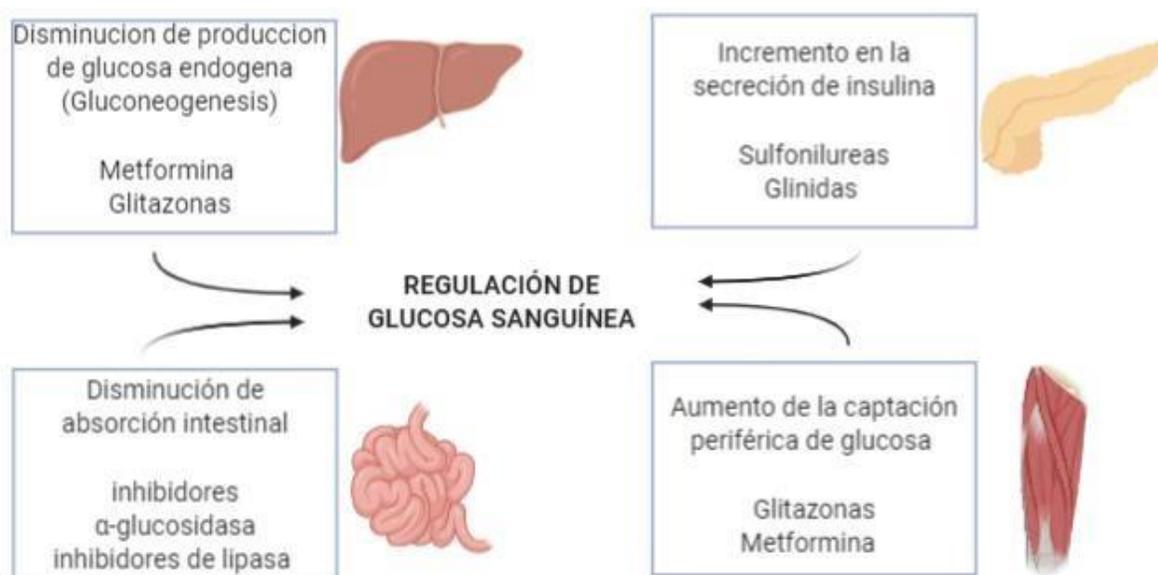


Figura 2. Agentes orales hipoglucemiantes usados para DM-2.

Los inhibidores del cotransportador sodio glucosa tipo 2 (SGLT-2 por sus siglas en inglés) son una nueva clase de antidiabéticos orales que inhiben la reabsorción renal de glucosa medida por SGLT- 1, lo que aumenta la glucosuria, lo que resulta en una reducción de la hiperglucemia independiente de la función de las células B. después de la administración oral, los inhibidores de SGLT-2 muestran una biodisponibilidad de 65% a 78% con una vida media de 10 – 13 horas lo que permite la administración una vez al día.

Estos fármacos reducen la HbA1c en un 0,58% - 1% cuando se usan como terapia mona o complementaria (Nair & Wilding, 2010; Vivian, 2015).

La inhibición de SGLT2 puede reducir los niveles de glucosa plasmática al disminuir el Tm de la glucosa, lo que se traduce en aumento de la excreción urinaria en glucosa. En animales no diabéticos, la inhibición de SGLT2 no posee efecto en la glucemia plasmática, porque se incrementa la producción hepática de glucosa para compensar la glucosuria. Sin embargo, en animales diabéticos la administración de inhibidores de SGLT2 produce glucosuria dosis-dependiente y una significativa reducción de la glucosa plasmática (Miller & Shubrook, 2015).

3.2.3. Tratamiento quirúrgico

En caso donde las estrategias conductuales y farmacológicas sean insuficientes, varios tipos de cirugía gastrointestinal ofrecen alternativas poderosas para tratar la obesidad y la DM2. Entre los pacientes con obesidad severa, las operaciones bariátricas causan una pérdida de peso profunda y sostenida, mejorar prácticamente todas las comorbilidades relacionadas con la obesidad y reducen la mortalidad a largo plazo. Las técnicas de cirugía bariátrica se clasifican según el mecanismo para perder peso en restrictivas, malabsortivas o mixtas. Actualmente, la cirugía bariátrica se considera apropiada para individuos con índice de masa corporal (IMC) ≥ 35 kg/m² y obesidad grave relaciona comorbilidades, como DM2 (Batterham & Cummings, 2016). Las operaciones que involucran derivaciones intestinales ejercen efectos particularmente dramáticos obre la diabetes. Por ejemplo, aproximadamente un 84% de los pacientes diabéticos obesos que se someten a bypass gástrico Roux-en-Y (RYGB) experimentan una remisión completa de la DM2, manteniendo la euglucemia sin medicamentos antihyperglucemicos durante al menos 14 años a partir de entonces (Rubino et al., 2010).

Los mecanismos fisiopatológicos por los cuales la cirugía bariátrica mejora la diabetes no están esclarecidos, pero parecen ser una combinación de la pérdida de peso, la disminución de la ingesta calórica, cambios hormonales y mecanismos relacionados con las modificaciones anatómicas tras la cirugía, como la estimulación del intestino distal aumentando PYY y aumentando incretinas GLP-1 y omisión del intestino proximal, así disminuyendo el efecto anti-incretina, que contribuye a la disminución a la resistencia a la insulina y aumenta la secreción de la misma (Fernando Maluenda, 2012; Rodríguez-Saborío & Vega- Vega, 2006).

3.3. Modelos de ensayos para estudios de Diabetes y tratamientos antidiabéticos

Se ha introducido un número sustancial de modelos *in vivo* e *in vitro* para investigar el mecanismo fundamental del efecto antidiabético de extractos de plantas o compuestos aislados, para contribuir al descubrimiento de un nuevos fármacos para tratar la diabetes de forma eficaz con el mínimo o ningún efecto secundario (M & T, 2016).

Tanto los modelos *in vivo* como *in vitro* tienen sus ventajas sobre otros modelos. Para la investigación antidiabética, los modelos *in vitro* son más específicos a nivel celular y consumen menos tiempo. Los efectos podrían analizarse fácilmente mediante varios ensayos (Hasan et al., 2018). En contraste, los modelos *in vivo* consumen más tiempo y son más costosos. Además, se necesita más experiencia para realizar de manera efectiva los experimentos *in vivo* para obtener resultados reproducibles. Sin embargo, el sistema del cuerpo humano es un sistema complejo que no puede revelarse únicamente mediante ensayos *in vitro*. Por esta razón, la eficacia de las moléculas debe probarse a través de un modelo *in vivo*. En conclusión, los ensayos *in vitro* pueden utilizarse en etapas primarias de investigación de moléculas, pero se recomienda estudios posteriores para desarrollar un fármaco y evaluar perfiles toxicológicos deben ser modelos *in vivo*.

3.3.1. Modelos experimentales *In vitro*

La STZ ha sido estudiada en diferentes líneas celulares para investigar a fondo su mecanismo de citotoxicidad, para encontrar alteraciones asociadas al estrés oxidativo en el metabolismo redox y disfunción respiratoria mitocondrial que conduce a un aumento de la apoptosis celular y encontrar marcadores moleculares claves del estrés apoptótico.

La biotecnología ha desarrollado numerosos métodos para desarrollar y crear líneas celulares cultivadas más adecuadas para ayudar a los estudios de los mecanismos de secreción de insulina y disfunción celular. Las líneas celulares secretoras de insulina más utilizadas son células β -TC, RIN, HIT, MIN6 e INS-1. Estas líneas celulares liberan principalmente insulina, pequeñas cantidades de glucagón y somatostatina (M & T, 2016). Se ha evidenciado que en la línea celular RIN-5F con inducción de diabetes con STZ durante 48 horas provoca una disminución de Bcl-2, proteína anti-apoptótica y a su vez aumento en proteínas proapoptica como Bax por una expresión reducida de Nrf2 con un aumento de la escisión de caspasa-3 lo que conlleva a una disfunción mitocondrial por inhibición de los complejos mitocondriales, principalmente el complejo IV, fragmentación del e ADN y una disminución en la producción de ATP conduciendo a apoptosis celular (Nahdi et al., 2017).

Uno de los enfoques terapéuticos más importantes para disminuir la hiperglicemia postprandial es retardar la absorción de la glucosa a través de la inhibición de las enzimas que hidrolizan carbohidratos como α -glucosidasa y α -amilasa, para poder estudiar el potencial de productos farmacoterapéuticos de inhibición de estas enzimas puede realizarse el ensayo de inhibición de la enzima α -glucosidasa y se basa en la liberación de una molécula de p-nitrofenol como producto del sustrato utilizado p-nitrofenil α -D-glucosido en presencia de la enzima α -glucosidasa y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 400 nm y a 37°C (Alim Sevilla-Asencio et al., 2013).

3.3.2. Modelos experimentales *In vivo*

Existen numerosos modelos biológicos en animales que reproducen varias de las manifestaciones clínicas de la diabetes humana mediante diversos métodos, entre los cuales se destaca la inducción química por estreptozotocina (STZ) en roedores. Este compuesto es un agente antimicrobiano y también se ha utilizado como agente alquilante quimioterapéuticos, pero provoca la destrucción selectiva de células β de los islotes pancreáticos, única fuente de insulina en el organismo. La diabetes por STZ es provocada por la necrosis específica de las células β pancreáticas y es la primera opción para la inducción en animales (Motyl & McCabe, 2009). Dependiendo de la cepa animal, la dosis, la vía de administración del fármaco y el periodo de vida en la que se administra STZ en animales se genera diabetes graves (glucosa en sangre superior a 200/300 mg/dL) o diabetes leve (glucemia entre 120 y 200/300 mg/dL). Para la inducción de diabetes severa se administra a 40 – 50 mg/kg de peso corporal por vía intravenosa o intraperitoneal durante la edad adulta. Si se desea inducir una diabetes leve, los animales deben recibir una inyección de 100 mg/kg peso corporal de STZ por vía subcutánea al nacer. Aproximadamente tres días después de la administración de STZ, los animales desarrollan hiperglucemia (300 mg/dL) y en la edad adulta presentan niveles bajos de glucosa en sangre (120 – 200 mg/dL) por la alta capacidad regenerativa de las células β durante el periodo neonatal. (Damasceno et al., 2014).

Químicamente, STZ es un compuesto de glucosamina nitrosourea y se nombra en el sistema IUPAC como (derivado de 2-desoxi D-glucosa de N-metil-Nnitrosilurea). Estructuralmente se asemeja a la 2-desoxi-D-glucosa, pero con un reemplazo en la posición C2 con un grupo metilo unido en un extremo y una molécula de glucosa en el otro. Tiene una vida media corta de solo 5 a 15 minutos, por eso la importancia de realizar la administración en soluciones de STZ frescas. La acumulación de STZ es preferentemente

en las células pancreáticas β a través del sistema transportador GLUT2 y da como resultado la citotoxicidad de las células β (Goyal et al., 2016). El GLUT 2 es un transportador de glucosa de baja afinidad ubicado en la membrana plasmática, que media la entrada de STZ en las células β pancreáticas. Las células productoras de insulina que carecen de expresión de GLUT 2 son resistentes a las acciones de STZ. Mientras que, en contraste, STZ tiene la capacidad de dañar las células del hígado y los riñones que expresan GLUT 2 (Dewangan et al., 2017; Eleazu et al., 2013).

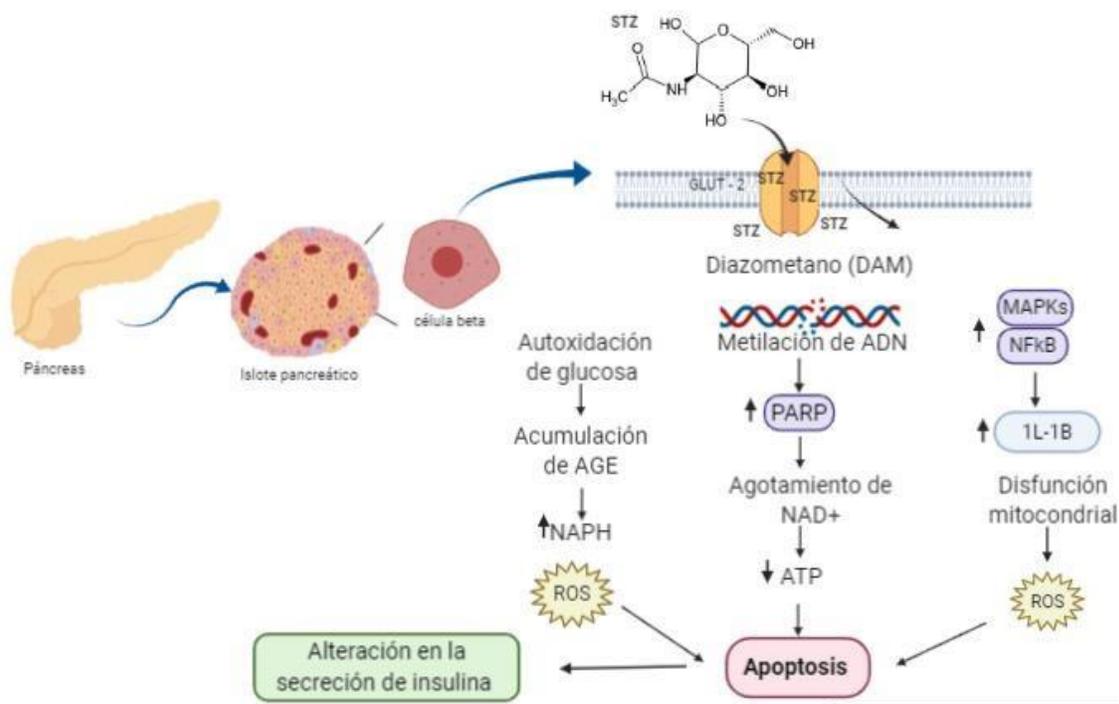


Figura 3. Mecanismo de acción diabétogénico por STZ.

La actividad diabétogénica de STZ se hizo evidente por primera vez en 1963. Luego continuo como un agente de elección para inducir diabetes en animales experimentales. Se descubrió que STZ causa una degradación extensa en el ADN bacteriano en *Bacillus subtilis* y revelo la posibilidad de daño en el ADN de las células como un mecanismo de inducción de diabetes en mamíferos (Dewangan et al., 2017). Al ser un análogo de glucosa, STZ ingresa a las células β a través del transportador GLUT 2 y se acumula intracelularmente; cuando está dentro de las células la STZ forma un agente alquilante, diazometano (DAM) que causa la metilación del ADN y provoca la acción diabétogénica. (Gheibi et al., 2017). Además de la metilación del ADN, que, a su vez, da como resultado la fragmentación del ADN. Posteriormente, el ADN fragmentado activa la poli (ADP-ribosa)

sintetasa para reparar el ADN. poli (ADP-ribosa) sintetasa conduce al agotamiento de NAD⁺ celular y por consecuencia agotamiento de ATP. La disminución de la síntesis de ATP se demuestra por la desforilación que proporciona más sustratos para la xantina oxidasa, lo que resulta en la formación de peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilos, causantes de estrés oxidativo. Además, la presencia de la cadena lateral de N-metil-Nnitrosourea tiene la capacidad de liberar óxido nítrico que inhibe la actividad de aconitasa, lo que resulta en una disfunción mitocondrial (Radenković et al., 2016). Además, existen múltiples mecanismos para la acción diabtogénica de la STZ como el aumento de los niveles de NADPH, ya sea por la autooxidación de glucosa o en la producción de diacilglicerol (DAG) y el aumento de la generación de radicales libres de O₂, especies reactivas de óxido nítrico, activación de la ruta de la proteína quinasa C, flujo de glucosa a través del metabolismo del poliol, acumulación de productos finales de glicación avanzada y secreción de citoquinas por respuestas inflamatorias lo que conlleva a la muerte de las células β tanto por apoptosis como por necrosis (Nahdi et al., 2017).

3.4. Productos naturales

3.4.1. Fitoterapia de diabetes

La diabetes requiere un examen y diagnóstico biomédico, sin embargo, en el sistema tradicional, ciertos signos pueden apuntar a la enfermedad, pero no es posible correlacionar directamente el concepto tradicional con el biomédico. Por ejemplo, la palabra diabetes se usa con la definición “es cuando la sangre es dulce”, y se describen posibles causas y síntomas observados, pero estos conceptos no tienen nada que ver con definiciones aceptadas por la OMS, o la Asociación Americana de Diabetes. Por lo tanto, no existe un vínculo claro entre la comprensión cultural de la enfermedad y la enfermedad según los conceptos biomédicos (Vargas & Andrade-Cetto, 2018).

En Guatemala, el uso de plantas medicinales se ha practicado desde tiempos prehispánicos y es frecuente porque esas plantas y sus prácticas tradicionales asociadas representan las principales modalidades de tratamiento de atención primaria en salud para la población, en donde el 54% vive en la pobreza. Los bajos ingresos de las poblaciones indígenas están asociados con la prevalencia de DM, que representa el 33% de la mortalidad en el país (Andrade-Cetto et al., 2019). Además de ser población en riesgo de DM, como resultado de la marginación y la falta de acceso a la atención y prevención, además de cambios dramáticos en el estilo de vida, incluida la transición nutricional a una dieta alta en carbohidratos. Estos factores conllevan a las personas diabéticas usen plantas medicinales como alternativas etnofarmacológicas (Andrews et al., 2018; Cruz & Andrade-

Cetto, 2015).

Las plantas medicinales tienen entonces un componente tradicional que en su mayoría no se ha evidenciado científicamente. Sin embargo, se sabe que los compuestos químicos activos herbales más comúnmente utilizados en el tratamiento de la diabetes son flavonoides, taninos, fenólicos y alcaloides (Jarald et al., 2008). La existencia de estos compuestos implica atención en propiedades antidiabéticas de las plantas. Los taninos mejoran la función de las células β pancreáticas y aumenta la secreción de insulina, la quercetina es un antioxidante que actúa en varios mecanismos relacionados con la eliminación de radicales libres de oxígeno por lo que previene la peroxidación lipídica y la quelación de iones metálicos. De hecho, los mecanismos de acción para las plantas hipoglucémicas incluyen: aumento en la secreción de insulina, aumento de la absorción de glucosa por músculo y tejido adiposo, prevención de la absorción de glucosa desde el intestino y prevención de la gluconeogénesis (Kooti et al., 2016; Vargas & Andrade-Cetto, 2018).

3.4.2. Mecanismos de acción

El manejo de diabetes sin ningún efecto adverso sigue siendo un desafío en los sistemas de salud. Las drogas naturales se prescriben mayoritariamente por su eficacia, pocos efectos adversos y bajo costo. Una amplia gama de principios activos derivados de plantas ha demostrado actividad antidiabética (Watal et al., 2014). Los fitoquímicos pueden tener distintos mecanismos de acción como regular la resistencia a la insulina, regular la función de la célula pancreática por regeneración o supervivencia de las células, regulación de la absorción de la glucosa por la actividad de α -glucosidasa (Salehi, Ata, et al., 2019). El efecto antidiabético de los productos naturales se ha atribuido a la mezcla de fitoquímicos o a un solo componente del extracto vegetal.

Las plantas medicinales poseen variedad de fitoquímicos, que incluyen, alcaloides, ácidos fenólicos, glucósidos, saponinas, polisacáridos estilbenos y taninos, que han sido intensamente investigado por sus efectos antidiabéticos. El efecto beneficioso puede darse a través de varios mecanismos que incluyen la regulación del metabolismo de la glucosa y de los lípidos, la secreción de insulina, la estimulación de las células, la vía de señalización de NF- κ B, la inhibición de las enzimas gluconeogénicas y la acción protectora de las especies reactivas de oxígeno (Aba & Asuzu, 2018).

3.4.2.1. Inhibición de la α -glucosidasa y α -amilasa

La inhibición de la actividad de la α -glucosidasa se demostró como una buena estrategia para controlar la glucemia. En un estudio se examinó el efecto inhibitorio de

extractos hidroetanolicos de 23 plantas medicinales utilizadas en México como antidiabéticos sobre la α -glucosida obtenida de la mucosa intestinal de ratas. *Camellia sinensis* mostro la mayor actividad inhibitoria, seguido de *Ludwigia octovalvis* y *Lostephane heterophylla* (Ríos et al., 2015). Se comprobó que los principales compuestos activos son catequinas, flavonoles, flavonas y derivados del cafeoilo. Las semillas de fenogreco (*Trigonella foenum-graecum* L.) inhiben la glucosidasa intestinal en ratas diabéticas y tiene un efecto positivo sobre enzimas glucolíticas y gluconeogenicas para restaurar la homeostasis de la glucosa.

La inhibición de la α -amilasa es otra opción de tratamiento contra DM-2, ya que se retarda la liberación de la glucosa de los carbohidratos, retrasando su absorción intestinal y consecuentemente la glucemia posprandial, reduciendo la hiperglucemia (Sharma et al., 2018). Los extractos acuosos de *Urtica dioica* y *Juglans regia* mostraron una inhibición competitiva de la α -amilasa dependiente del tiempo y de la concentración. Otras plantas que han mostrado esta actividad son *Erythroxylum laurifolium*, *Elaeodendron orientale* y *Antidesma madagascariensis*.

3.4.2.2. Efecto sobre la captación de glucosa y los transportadores de glucosa

En un proceso fisiológico, en miocitos y adipocitos, la insulina induce la activación del receptor de insulina, lo que conduce al reclutamiento de proteínas IRS seguido de activación fosfatidil inositol 3 quinasa y posteriormente la translocación de GLUT4 a la membrana plasmática y captación de glucosa (Ríos et al., 2015). Se ha estudiado especies vegetales, enfocándose en este proceso. El extracto etanolicos de *Tinospora cordifolia*, en el cual su principal compuesto es palmatina indujo la sobreexpresión de GLUT-4 hasta 5 veces más, esta actividad es mediada por la vía de la insulina.

Las plantas con sus principios activos relevantes tales como Bertrol de *Cecropia obtusifolia*; ácido clorogénico de *Momordica charantia*; ácido corosólico de *Lagerstroemia speciosa*; peniculata y andrografólido, ginsenosido Rh2 de *Panax ginseng*. Algunos de estos mecanismos están mediados por PPAR, que son factores de transcripción regulados por ligandos, que controlan la expresión génica de GLUT-4 (Sharma et al., 2018).

El té verde (*C. sinensis*) y su extracto enriquecido con galato de epigallocatequina mejoraron la homeostasis de la glucosa y aumentaron la expresión de PPARy, *Magnolia officinalis* estimulo la captación de glucosa basal y actuó como un agonista parcial de PPARy.

3.4.2.3. Potenciadores de la secreción de insulina y la proliferación de células B pancreáticas

Las incretinas son hormonas derivadas del intestino que se liberan en respuesta a la ingestión de nutrientes, principalmente glucosa y grasas. Son miembros de la superfamilia del glucagón y estimulan la secreción de insulina pancreática de una manera dependiente de la glucosa (Ríos et al., 2015). Existen dos tipos de incretina, GIP y GLP-1, ambas se inactivan rápidamente por la enzima DPP-4. En consecuencia, la inhibición de DPP-4 para extender la vida media de GLP-1 o el uso de análogos de GLP-1 resistentes a la degradación de DPP-4 son dos estrategias reconocidas en compuestos antidiabéticos. Diferentes fructanos de tipo inulina, como los obtenidos en *Cichorium intybus* y *Agave tequilana* mejoran la producción de GLP-1 en el colon, mientras que *Pterocarpus marsupium*, *Eugenia jambolana*, *Agonia cretica* y *Hedera nepalensis* inhiben la DPP-4. Se encontraron cuatro compuestos, tres de *F. cretica* (Glucósidos del ácido quinovico) y uno de *H. nepalensis* (titerpeno lupeol) que inhibieron la actividad de DPP-4.

3.4.2.4. Inhibición de la actividad de la proteína tirosina fosfatasa 1B (PTP1B)

La PTP1B regula negativamente la vía de señalización de la insulina, esto podría ser un objetivo prometedor para el tratamiento de DM-2. Los extractos solubles en acetato de etilo de *Camellia japonica* mostraron un efecto potente como inhibidor de PTP1B (Aba & Asuzu, 2018).

El extracto metanólico de las hojas de nogal (*J. regia*) aumentó la captación de glucosa en los miocitos por inhibición de PTP1B. Los principales compuestos en este extracto fueron ácido clorogénico, el ácido 3-p-cumaroilquinico y un trihidroxinaftaleno-hexosido, así como flavonoides glucósidos derivados de kaempferol y quercetina.

3.4.2.5. Actividad antioxidante para disminución del estrés oxidativo

Las anomalías metabólicas de la diabetes provocan sobreproducción de superóxido en varios tejidos, incluido el páncreas endocrino, que a su vez activa las vías involucradas en la patogenia de las complicaciones y un mayor aumento de las especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) (Ríos et al., 2015). Por lo tanto, las ROS parecen ser agentes causales en la patogenia de la diabetes al dañar las células β . En consecuencia, dado que el estrés oxidativo juega un papel clave en la resistencia de insulina y la disfunción de las células β , la administración de antioxidantes podría ayudar a reducir las complicaciones diabéticas. El extracto de *Otostegia persica* redujo significativamente la glucemia en ratas

diabéticas, en paralelo a un aumento en el nivel de insulina sérica. También, disminuyó significativamente MDA y aumento los niveles de GSH. Los extractos etanólicos de *Achyranthes aspera* mostraron actividad antioxidante y redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre en ratones diabéticos. Este extracto también previno la peroxidación lipídica y los hidroperóxidos, aumento la actividad catalasa. (Salehi, Ata, et al., 2019). La baicaleína es un flavonoide que se encuentra en *Oroxylum indicum*, *Scutellaria baicalensis* y otras especies que mitiga el estrés oxidativo, suprime la activación de NFκB y disminuye la expresión de iNOS y TGF-β.

La Berberina es un alcaloide que se encuentra en diferentes plantas como *Berberis vulgaris*, *Coptis chinensis* e *Hydrastis canadensis*, este alcaloide mostró actividad antioxidante debido a sus propiedades depuradoras contra los radicales libres y la atenuación de la expresión de NADPH oxidasa. La activación de NADPH oxidasa está asociada con la diabetes y se considera un objetivo potencial para tratar la enfermedad y las complicaciones relacionadas. Por lo tanto, la inhibición de NADPH oxidasa podría explicar parcialmente los efectos beneficiosos de la berberina (Prabhakar & Doble, 2008).

La apocinina y el ácido lipoico son compuestos con un alto potencial como agentes antidiabéticos. El ácido lipoico es común en plantas de la familia Brassicaceae (brocoli y berros) pero también en espinacas y patatas, mientras que la apocinina es común en *Picrorhiza kurroa*, *Jatropha multifida* y *Apocynum cannabinum*, se ha demostrado que el ácido lipoico previene la hipertrigliceridemia y la resistencia a la insulina y mejora la sensibilidad a la insulina hepática y a la tolerancia a la glucosa. En el caso de la apocinina, se demostró la inhibición de la NADPH oxidasa (Bharti et al., 2018).

3.5. Aspectos farmacognósticos de las especies evaluadas

Un estudio etnofarmacológico identifica las principales plantas en una región que se utilizan como tratamiento para la diabetes y evidenciar su uso científicamente, teniendo en cuenta que la DM no puede curarse y como la mayoría de tratamientos farmacológicos su objetivo es mantener controlados los niveles de glucosa sanguínea para prevenir sus complicaciones (Giovannini et al., 2016). Se han seleccionado dos especies vegetales que son utilizadas tradicionalmente por poblaciones guatemaltecas para la diabetes pero que no haya literatura que evidencie su efecto hipoglucemiante en modelos *in vivo* o *in vitro*, o que haya estudios que identifiquen la composición fitoquímica responsable del efecto hipoglucémico y su mecanismo de acción, las plantas se describen a continuación.

3.5.1. *Piper aequale* (Cordoncillo)

La especie *Piper aequale* pertenece al género Piper de la familia Piperaceae. El género Piper contiene aproximadamente unas 1500 especies, con cerca de 1000 América Tropical, alcanzando su mayor diversidad en bosques húmedos premontanos y de tierras bajas. Muchas especies se conocen con el nombre de “Cordoncillo” (de L. Rico Arce et al., 2004).

Se conoce que *Piper jacquemontianum* es utilizada como medicina tradicional en diabetes en poblaciones Latinoamericanas, incluyendo a Guatemala (Cruz et al., 2011; Svetaz et al., 2010), y un estudio realizado demostró mediante análisis molecular con la técnica de los polimorfismos en la longitud de los fragmentos amplificados que *Piper aequale* tiene similitud genética a la colecta de *Piper jacquemontianum* de la parte norte y sur de Guatemala (Martinez, 2006); por lo tanto *P. aequale* al tener un genoma similar a *P. jacquemontianum*, pueden tener metabolitos con propiedades hipoglicemiantes y puede ser una alternativa al tratamiento antidiabético.

En Guatemala la especies el género Piper crecen en las regiones cálidas tanto de la parte sur como del norte, en donde están asociadas principalmente a bosques secundarios. Al año 2006 se reconocen más de 80 especies y están distribuidas especialmente en Alta Verapaz e Izabal, algunas de las especies son utilizadas por las comunidades para diferentes afecciones, otras son utilizadas como cerco, mientras que la mayoría se desconocen sus propiedades medicinales y/o aromáticas (Cruz et al., 2012).

3.5.1.1. Composición química

La fitoquímica del género Piper es muy amplia en cuanto a la cantidad de compuestos presentes, proporcionando una gran diversidad al género, sin embargo, muchos de estos compuestos no han sido estudiados a profundidad (Martinez, 2006).

Se ha encontrado constituyentes volátiles, como la presencia de metabolitos del ácido mevalónico (monoterpenos y sesquiterpenos), metabolitos del ácido acético y shikímico (flavonoides) y relacionados al ácido shikímico (lignoides, y arilpropanoides, amidas, etc.). Diversas investigaciones fitoquímicas han encontrado la presencia de muchos compuestos activos tales como amidas, alcaloides, lignanos, cromononas, así como compuesto específicos (Martins et al., 1998; Orjala et al., 1993). Los metabolitos más frecuentes aislados son amidas (cinnamoilamida y alquilamidas); aristolactamas y otros alcaloides, flavonoides (flavona dihidroflavonas, dihidrochalconas y o-metilflavonoides) notándose que la o-glicosilación es rara (Mgbeahuruike et al., 2017; Parmar et al., 1997).

3.5.1.2. Usos tradicionales

Se ha atribuido su uso tradicional para el tratamiento de afecciones de la piel, infecciones, anemia y dolor de cuerpo (Mgbeahuruike et al., 2017). Se conoce su uso para el tratamiento de reumatismo e inflamación (Da Silva et al., 2016).

3.5.1.3. Evidencias farmacológicas

La evaluación citotóxica *in vitro* de extractos etanólicos contra líneas celulares de cáncer de mama (MCF-7), pulmón (H-460) y sistema nervioso central (SF-268) reveló que tiene una fuerte actividad citotóxica (Calderón et al., 2006).

No se encontró ningún estudio sobre sus propiedades hipoglucemiante en modelos *in vivo* o *in vitro* en bases de datos como Pubmed o Google scholar que compruebe o identifique fitoquímicos responsables de la acción terapéutica para tratar la diabetes en las hojas, frutos o en ningún otro órgano de la planta, es por ello la importancia de realizar este estudio con esta especie vegetal.

3.5.2. *Tagetes lucida* (Pericón)

T. lucida, es una planta nativa de América tropical desde México a Honduras; pertenece a la familia Asteraceae. Es conocida comúnmente como pericón, anisillo y hierba de San Juan. Es una de las especies que merecen investigación por ser fuente medicinal a bajo costo (Muñoz Acevedo et al., 2009). Esta especie es utilizada tradicionalmente en poblaciones guatemaltecas para el tratamiento de DM (Girón et al., 1991), sin embargo, no existen estudios que evidencien si posee efecto hipoglicemiante.

3.5.2.1. Composición química

En los tejidos secretores de las hojas y flores se produce un aceite esencial en el que se han identificado 53 constituyentes, y los que se encuentran en mayor proporción son estragol, anetol y metileugeno. Las hojas y las flores contienen limoneno, β -ocimeno, β -cariogileno, mirceno, alcaloides cuaternarios, flavonoides (quercetagetina, patuletina), saponinas, taninos, leucoantocianinas, ácido gálico, glucósidos cianogénicos, cumarinas (herniarina dimetil alileter de 8-hidroxycumarina) (Bicchi et al., 1997; Marotti et al., 2004).

3.5.2.2. Usos tradicionales

La especie *T. lucida* es utilizada ampliamente por las comunidades en Guatemala

para tratar varias afecciones, incluyéndola como tratamiento tradicional para la diabetes (Girón et al., 1991). Otros usos tradicionales incluye la infusión como tónico para combatir la tos, dolores de cabeza, fiebres, cólicos, dolores abdominales, enfermedades gastrointestinales, dolor corporal y como emenagoga (Andrews et al., 2018; Giovannini et al., 2016). En Guatemala extractos de *T. Lucida* se venden como infusión, tintura y elixir. Estos productos son usados para el dolor de estómago, gastritis y se les atribuyen propiedades emenagogas. Se ha demostrado su actividad antimicrobiana y antifúngica y actividad gastrointestinal y espasmolítico (Caceres et al., 1991). Otros usos atribuidos al pericón están aliviar varices, problemas de reumatismo, inflamación y resfriado, en el tratamiento de estos padecimientos se emplea por lo general toda la planta.

3.5.2.3. Evidencia farmacológica

La medicina científica ha validado la efectividad de *Tagetes lucida* en la cura de diferentes afecciones, como diarrea y otras enfermedades gastrointestinales, verificando su uso tradicional, contra *Salmonella enteritidis* y *Salmonella typhi* y otras especies, lo que explica su uso para problemas diarreicos, además que las partes aéreas o flores de *T. lucida* han reportado efectos antibacterianos, antihelmíntica y antimicótica, insecticidas, actividad citotóxica, efectos antioxidantes (Hernandez-Leon et al., 2020). Con respecto al Sistema Nervioso Central, los estudios farmacológicos han evidenciado que *T. lucida* tiene efectos ansiolíticos, sedantes y antidepresivos (Pérez-Ortega et al., 2016).

Se ha comprobado el efecto de *T. lucida* en las dolencias gastrointestinales, debido a sus propiedades antiespasmódicas junto con la disminución de la motilidad intestinal, dando mejoría a los cólicos y diarreas involucrados en varios trastornos gastrointestinales (Ventura-Martinez et al., 2020).

De igual manera se han encontrado componentes activos sobre el efecto antiespasmódico que corresponde a la 7-metoxi-cumarina (herniarina). Mediante ensayos farmacológicos se ha demostrado que las hojas y flores de *Tagetes lucida* tienen actividad espasmolítico, lo que explica su uso contra el dolor de estómago (Guadarrama-Cruz et al., 2008). De todas maneras, se ha demostrado que las hojas deprimen el sistema nervioso central y tienen actividad hipotensora, características especialmente efectivas para padecimientos denominados como “nervios” y “estrés”.

Se ha revelado que los aceites esenciales son un potente acaricida, con efectos de repelencia o biocida contra la conchuela del frijol, mosquita blanca y pulgones, es un buen fungicida, además con propiedades nematocidas, todas ellas para el control de plagas

(Nerio et al., 2009).

El pericón se ha estudiado por propiedades hipoglucemiante atribuida a sus componentes antioxidantes, como polifenoles y flavonoides especialmente heridina, naringenina, ácido rosmarinico, ácido ferúlico, quercetina y rutina como disminución en los niveles de glucosa con un marcado aumento en la concentración de insulina (Abdel-Haleem et al., 2017).

3.6. Desarrollo de nuevos fármacos

Un tipo de tratamiento prometedor para la DM-I parece ser el de los anticuerpos monoclonales antiCD3 que no se unen al receptor de Fc, como el teplizumab (Herold et al., 2019). Múltiples estudios en los que participaron pacientes con DM-I han demostrado que el tratamiento con teplizumab reduce la pérdida de la función de las células β , incluso hasta 7 años después del diagnóstico. El fármaco modifica los linfocitos T CD8+, que se cree que son células efectoras importantes que matan a las células beta.

Otro posible tratamiento DiaPep277 es un péptido de 24 aminoácidos derivados de la secuencia 437 – 460 de la proteína humana de choque térmico de 60 kD (HSP60). El péptido ha demostrado modular el ataque inmunológico a las células β en el modelo de ratón NOD de diabetes tipo 1 (Xin et al., 2019)

El péptido induce a las células T antiinflamatorias y bloquea la destrucción de células β mientras conserva la secreción de insulina. Estudios adicionales han demostrado que DiaPep277 también activa las células T reguladoras al interactuar con su receptor tipo Toll 2. La inducción de células T reguladoras desvía la respuesta inmune hacia la preservación de las células β , en lugar de su destrucción, sin afectar la función general de las células T en ratones y humanas, lo que permite un tratamiento específico para la DM-I sin suprimir las funciones inmunológicas esenciales (Xin et al., 2019)

La vacuna de ácido glutámico descarboxilasa (GAD) – alum) es una vacuna formulada con adyuvante que incorpora GAD65 humano recombinante, la isoforma específica de GAD expresada en células pancreáticas humanas, y un antígeno principal dirigido por linfocitos T autorreactivos en DM-I (Morales & Thrailkill, 2011). Se teoriza que la vacuna intermitente con esta proteína induce tolerancia inmunitaria a GAD65, interrumpiendo potencialmente así una mayor destrucción de células β . Por lo tanto, se están realizando ensayos clínicos para examinar la eficacia y seguridad de la inmunoterapia con GAD-Alumbre en pacientes con formas de diabetes mediadas por

autoinmunidad

El tratamiento de páncreas artificial, también conocido como control de glucosa en circuito cerrado, es una opción de tratamiento emergente que combina una bomba de insulina y un monitoreo de glucosa con un algoritmo de control para administrar insulina de manera sensible a la glucosa (es decir, un sistema de páncreas artificial de una sola hormona) (Bekiari et al., 2018) Por lo tanto, en comparación con las bombas de insulina o las bombas con sensor aumentado, el uso de páncreas artificial puede reducir la carga para los pacientes al ajustar automáticamente la cantidad de insulina que ingresa al cuerpo en función de los niveles de glucosa del sensor.

En el año 2016 la Administración de Drogas y Alimentos de EE.UU. (FDA) aprobó el primer sistema de páncreas artificial para que lo utilicen personas con DM-I mayores a 14 años.

4. JUSTIFICACIÓN

El último reporte de la Organización Mundial de la Salud estimó que 422 millones de adultos en todo el mundo tenían diabetes en 2014 (World Health Organization, 2016). La prevalencia mundial de la diabetes casi se ha duplicado desde 1980 al 2014, pues ha pasado del 4.7% al 8.5% en la población adulta, La diabetes ha sido clasificada como la séptima causa principal de muerte en 2016, 1.5 millones de muertes fueron causadas directamente por la diabetes y otros 2.2 millones de muerte en 2012 por de niveles altos de glucosa en sangre comparados con los niveles aceptables. La mitad de las muertes atribuibles a la hiperglucemia tienen lugar antes de los 70 años, y esta cifra es superior en los países de bajos recursos que en los de altos recursos. Se está considerando que la diabetes en la actualidad es la primera causa de enfermedades cardiovasculares, ceguera, pérdida de audición insuficiencia renal crónica y de amputaciones no traumáticas.

El 80% de los diabéticos, viven en países de bajos y medianos ingresos, especialmente China, India y América Latina. En Latinoamérica, las tasas de diabetes están aumentando tanto en zonas urbanas como en contexto rural (Chary et al., 2012). En los últimos años, Guatemala ha aumentado en la prevalencia de diabetes. En el año 2000, los datos compilados por el Instituto Nacional de Estadística de Guatemala estimaron la mortalidad regional atribuible a la diabetes en un 22%. Datos de alrededor del año 2002 demostraron que la diabetes es la quinta causa de mortalidad de las mujeres de Guatemala y la octava causa de mortalidad de toda la población. En 2003, la prevalencia estimada de la Iniciativa Centroamericana de Diabetes (CAMDI) patrocinada por la Organización Panamericana de la Salud en base a las pruebas de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) en Villa Nueva, una población urbana predominantemente mestiza cerca de la ciudad de Guatemala, fue del 8.4%. (Pan American Health Organization, 2011). Un estudio reciente encontró una prevalencia del 9.6% de diabetes tipo 2 en un municipio al sur de la ciudad de Guatemala, pero esta área tiene una pequeña proporción de guatemaltecos indígenas, teniendo en cuenta que un 66% de los guatemaltecos son indígenas, son pocos los estudios sobre diabetes en Guatemala centrados en esta población (Barcelo et al., 2012).

Existen muchas barreras para atender afecciones crónicas como la diabetes en la población indígena de Guatemala. El bajo nivel de escolaridad y creencias tradicionales pueden dificultar el diagnóstico de la diabetes; además la falta de comunicación entre el equipo asistencial y pacientes, alto costo en los medicamentos y desconfianza en el sistema de atención médica crea una barrera importante para el acceso y adherencia al tratamiento por parte de los pacientes y por consecuencia su calidad de vida empeora

(Chary et al., 2012). La población indígena queda vulnerable a mayor tasa de mortalidad por diabetes directamente por falta de opciones terapéuticas. Tradicionalmente se ha optado por el uso de plantas medicinales como tratamiento de diabetes (Cruz & Andrade-Cetto, 2015). Sin embargo, en la actualidad existen muchas plantas medicinales nativas, utilizadas en medicina tradicional por varias comunidades guatemaltecas que aún no poseen evidencia en seguridad y eficacia para el tratamiento de diabetes mellitus.

Es por ello que el presente estudio evalúa dos plantas nativas en un modelo *In vivo* de Diabetes Mellitus. Se escoge *Tagetes lucida* (Pericón) por ser una planta con impacto en comunidades rurales en Guatemala para el tratamiento de Diabetes Mellitus y *Piper aequale* (Cordoncillo) porque se ha demostrado tener similitud genética a *Piper Jacquemontanium* (Martinez, 2006), que es una planta nativa con componente tradicional en el tratamiento de Diabetes; por lo tanto *Piper eaquale* pueda tener compuestos químicos con propiedades hipoglicemiantes y así aportar alternativas desconocidas y efectivas a las poblaciones indígenas afectadas por dicha patología.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar el potencial hipoglicemiante de dos extractos a dos diferentes dosis de plantas nativas, *Tagetes lucida* y *Piper aequale*, en ratones diabéticos CD-1 inducidos por estreptozotocina.

5.2. Objetivos específicos

- 5.2.1. Determinar el efecto de los extractos candidatos en el peso corporal de los ratones diabéticos en comparación al grupo control diabético inducido por Estreptozotocina (STZ).
- 5.2.2. Evaluar la capacidad de STZ de provocar un estado hiperglucémico en los ratones CD-1 macho administrados con dos dosis de 55 mg/kg vía intraperitoneal (IP), y evidenciar la progresión diabética durante 10 semanas de experimento.
- 5.2.3. Comparar el estado glucémico del grupo control con el grupo normal para asegurar el estado diabético de los ratones.
- 5.2.4. Determinar la capacidad hipoglicémica de los extractos *T. lucida* y *P. aequale* mediante los niveles de glucosa comparados con los niveles de glucosa del grupo control positivo con glibenclamida.
- 5.2.5. Establecer las diferencias en los niveles de glucosa de cada extracto vegetal a dos concentraciones distintas.

6. HIPÓTESIS

La administración oral de los extractos alcohólicos de *Tagetes lucida* y *Piper aequale* en dosis de 100 mg/kg/día y 50 mg/kg/día disminuyen los valores glucosa en plasma de los ratones diabéticos comparados con el grupo control diabético inducidos con dos dosis de 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Universo

Especies vegetales usadas tradicionalmente para Diabetes Mellitus o para reducir glucosa en sangre.

7.2. Muestra

Extractos alcohólicos de plantas nativas con evidencia etnobotánica para uso tradicional en diabetes y sin estudios científicos que respalden su uso.

7.3. Materiales

7.3.1. Insumos de laboratorio

- 7.3.1.1. Agujas estériles (25-27G)
- 7.3.1.2. Jeringas 1ml
- 7.3.1.3. Sonda intragástrica para ratón.
- 7.3.1.4. Cuaderno de laboratorio
- 7.3.1.5. Tubos para recolección de suero sin EDTA
- 7.3.1.6. Tubos cónicos
- 7.3.1.7. Tiras para medición de glucosa sanguínea
- 7.3.1.8. Jaulas metabólicas
- 7.3.1.9. Tiras reactivas de glucosa para glucómetro one touch.
- 7.3.1.10. Percolador
- 7.3.1.11. Pipetas automáticas 100 ul – 1000 ul.
- 7.3.1.12. Puntas para pipeta de 100 ul – 1000 ul

7.3.2. Materiales biológicos

- 7.3.2.1. 56 ratones macho CD-1 de 8 semanas de edad.
- 7.3.2.2. Extracto de hojas en metanol de *Piper aequale* (Cordoncillo).
- 7.3.2.3. Extracto de hojas etanólico de *Tagetes lucida* (Pericón).

7.3.3. Drogas y reactivos

- 7.3.3.1. Estreptozotocina (MP Biomedicals, EE.UU.)
- 7.3.3.2. Tri-sodio citrato dihidrato PA (MERCK (MDA)).
- 7.3.3.3. Ácido cítrico monohidrato PA (MERCK (MDA)).

7.3.3.4. D(+) Glucosa anhidra PFB (MERCK (MDA)).

7.3.4. Equipos

7.3.4.1. Balanza compacta CR221 250 g sensibilidad 0.1 gramos.

7.3.4.2. Balanza analítica sensibilidad 0.0001 gramos.

7.3.4.3. Glucómetro onetouch

7.3.4.4. Centrifugadora VWR Scientific Modelo V

7.3.4.5. Rotaevaporador buchi RE-121

7.4. Métodos

7.4.1. Declaración ética

Todos los procedimientos experimentales en animales se llevaron a cabo de acuerdo con la Guía del Instituto Nacional de Salud de Estados Unidos para el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio (publicación NIH, No. 80-23, revisada en 1996). El experimento fue aprobado por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC (CICUALCCQQF-01-2020).

7.4.2. Diseño experimental

Se utilizaron ratones CD-1 macho de 8 semanas los cuales se mantienen, desde su nacimiento, en un ambiente con temperatura $22 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 40 – 60 % de humedad relativa, 12 horas luz y 12 horas oscuridad, aclimatados en sus cajas por grupo 5 días antes de comenzar experimento, alimentación y agua *ad libitum*.

El número de ratones por grupo se calculó mediante la desviación estándar obtenida previamente en la validación del método de inducción de diabetes por estreptozotocina (STZ), utilizando el software G power. El número de ratones por grupo no fue menor a 5 ni mayor a 9, asegurando así la variabilidad intra grupo y el poder discriminante entre los grupos.

7.4.2.1. Normal: 8 ratones con administración de buffer de citrato pH 4.5 vía intraperitoneal (IP) en los días de inducción y administración con vehículo de solución de DMSO vía oral (PO) durante 10 semanas.

7.4.2.2. Control: 8 ratones con dos dosis de 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP.

7.4.2.3. Control Positivo: 8 ratones con dos dosis de 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP + 5 mg/kg vía oral de Glibenclamida durante 10 semanas.

- 7.4.2.4.** Experimental I: 8 ratones con 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP + 100 mg/kg de extracto de *Tagetes lucida* PO durante 10 semanas.
- 7.4.2.5.** Experimental II: 8 ratones con 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP + 50 mg/kg de extracto de *Tagetes lucida* PO durante 10 semanas.
- 7.4.2.6.** Experimental III: 8 ratones con 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP + 100 mg/kg de extracto de *Piper aequale* PO durante 10 semanas.
- 7.4.2.7.** Experimental IV: 8 ratones con 55 mg/kg de peso corporal de STZ vía IP + 50 mg/kg de extracto de *Piper aequale* PO durante 10 semanas.

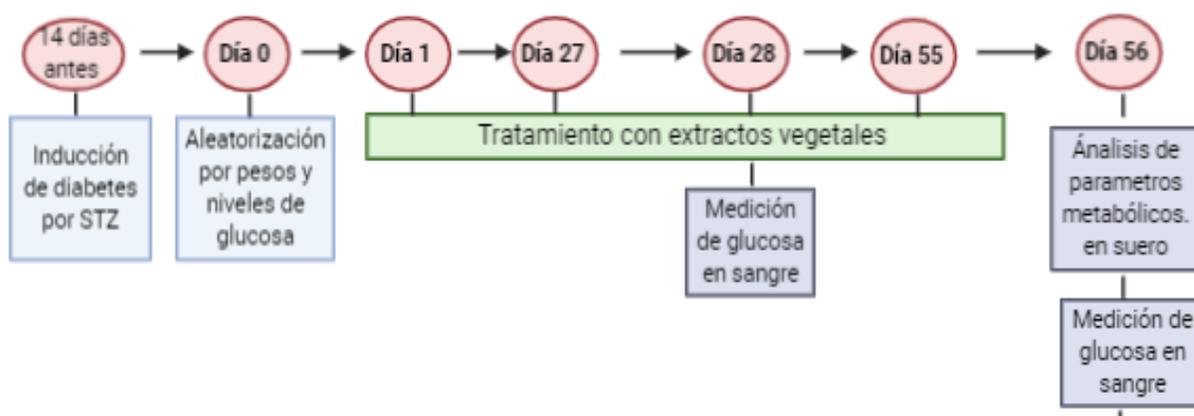


Figura 3. Diseño experimental *in vivo* de la evaluación del efecto hipoglicemiante de plantas nativas en ratones diabéticos inducidos por STZ.

7.4.3. Selección de especies vegetales a investigar

Mediante una revisión bibliográfica se encontraron las especies nativas en distintos artículos en journals de Etnobotánica y etnofarmacología con evidencia de uso tradicional en poblaciones guatemaltecas para el tratamiento de diabetes y se seleccionó *Tagetes lucida* que se usan de forma tradicional y no tiene evidencia científica en modelos *in vivo* y se seleccionó *Piper aequale* por tener una similitud genética a *Piper jacquemontanium* que tiene evidencia de uso tradicional en diabetes, se verificó que las especies seleccionadas sean nativas de México o Centroamérica en bases de datos como www.theplantlist.org o www.trópicos.org (Andrews et al., 2018; Cáceres et al., 1987; García-Alvarado et al., 2001; Giovannini et al., 2016; Kufer et al., 2010; Michel et al., 2007).

7.4.4. Preparación de extractos vegetales

Se utilizaron hojas de las especies seleccionadas para la obtención de extractos por medio

del método de percolación y eliminación del solvente metanol para *P. aequale* y del solvente alcohol etílico al 70% para *T. lucida* con rotaevaporador. Los extractos han sido preparados por el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales -LIPRONAT- de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC. Las especies vegetales se identificaron en el herbario. *T. lucida* se identificó en el herbario de la Escuela de Biología de la Universidad de San Carlos de Guatemala (No. de váucher 1127 y *P. aequale* se identificó en el herbario USCG-CECON (No. de váucher 21308).

Los extractos secos se prepararon en fresco, es decir, se preparaba la solución cada día durante las 10 semanas de administración experimental. Al momento de prepararlos, se diluyeron en una solución de dimetilsulfoxido (DMSO) al 0.0015% para solubilizar y se hacía el ajuste de dosis según el peso corporal diario para conseguir el volumen que tenía que ser administrado (no mayor a 0.2 mL por ratón) para conseguir una dosis de 100 mg/kg o 50 mg/kg.

7.4.5. Inducción de diabetes con STZ

Se preparó 100 mL de buffer de citratos pH 4.5 (vehículo de la STZ) con 44.5 mL de solución de ácido cítrico monohidratado 0.1 M y 55.5 mL de citrato trisódico dihidratado 0.1 M y se ajustó con Hidróxido de Sodio 0.1 N para obtener el pH de 4.5

La inducción se realizó con 18 horas de ayuno con libre consumo de agua, con dos dosis de 55 mg/kg por peso corporal de STZ en preparación fresca y diluida en buffer de citratos 0.1 M (pH 4.5) vía intraperitoneal a los ratones del grupo control, control positivo, y experimental de *Piper aequale* y *Tagetes Lucida* con 24 horas de diferencia entre cada dosis, posterior a la inducción se administró una solución de glucosa al 10% para disminuir el riesgo a mortalidad en la inducción. Al grupo control se administró 0.2 mL de buffer de citratos pH 4.5 y se monitorearon los pesos diariamente para verificar el estado de los animales.

Cuatro semanas después de inducción se midieron los niveles de glucosa en sangre con glucómetro one touch, si los animales tenían un valor ≥ 250 mg/dL de glucosa se confirmaron a los animales diabéticos y se dividieron en sus grupos (8 ratones/grupo) de manera que la media de glucosa y peso corporal quedaron similares entre grupos (Dewangan et al., 2017; Eleazu et al., 2013; Goyal et al., 2016).

7.4.6. Análisis de glucosa en sangre en plasma

A los días 30 y 60 de administración oral se midieron los niveles de glucosa en sangre con tiras de glucosa utilizando el glucómetro a los ratones de todos los grupos, la

muestra de sangre para esta prueba se tomó de la punción de la cola de los ratones. El último día de experimentación, el día 60, los animales se anestesiaron con ketamina comprobando falta de reflejos al pinchar la almohadilla plantar, relajación y respiración regular, se colocó al animal en decúbito supino y se eutanasió al animal por dislocación cervical. Los resultados de glucosa en sangre se expresan en mg/dL.

7.4.7. Análisis estadístico

Los datos se analizaron utilizando el software estadístico Prism 8.0.1 (GraphPad, San Diego, CA, USA). Todos los datos se expresan como la media \pm error estándar de la media (S.E.M.). Las comparaciones estadísticas se realizaron entre pesos corporales y valores de glucosa en sangre, utilizando ANOVA de dos vías con medidas repetidas, entre los grupos tratados con tratamiento experimental y tratados con vehículo, seguido de la prueba posterior de comparación Bonferroni. Los valores de $p < 0.05$ se consideran estadísticamente significativos.

8. RESULTADOS

Se utilizaron ratones CD-1 de ocho semanas de edad para inducir diabetes utilizando dos dosis de 55 mg/kg de Estreptozotocina (STZ) vía intraperitoneal (IP) al grupo control STZ y a los grupos experimentales *Tagetes Lucida* 100 mg/kg y 50 mg/kg y se realizaron evaluaciones diarias de peso corporal de los ratones. No se observó ninguna diferencia significativa en el peso corporal entre los grupos diabéticos comparado con el grupo normal durante los 27 días de inducción, previo al inicio del tratamiento experimental.

Sin embargo, el grupo normal aumentó más el peso corporal durante el periodo de inducción, presentando al día 27 un peso de 40.5 ± 4.14 g. Mientras que los grupos STZ, *T. lucida* 100 mg/kg, Glibenclamida y *T. lucida* 50 mg/kg presentaron valores de peso corporal menores al grupo normal en el día 27; siendo estos valores 38.75 ± 4.56 g, 38.38 ± 2.88 g, 38 ± 1.07 g y 37.62 ± 2.67 g, respectivamente.

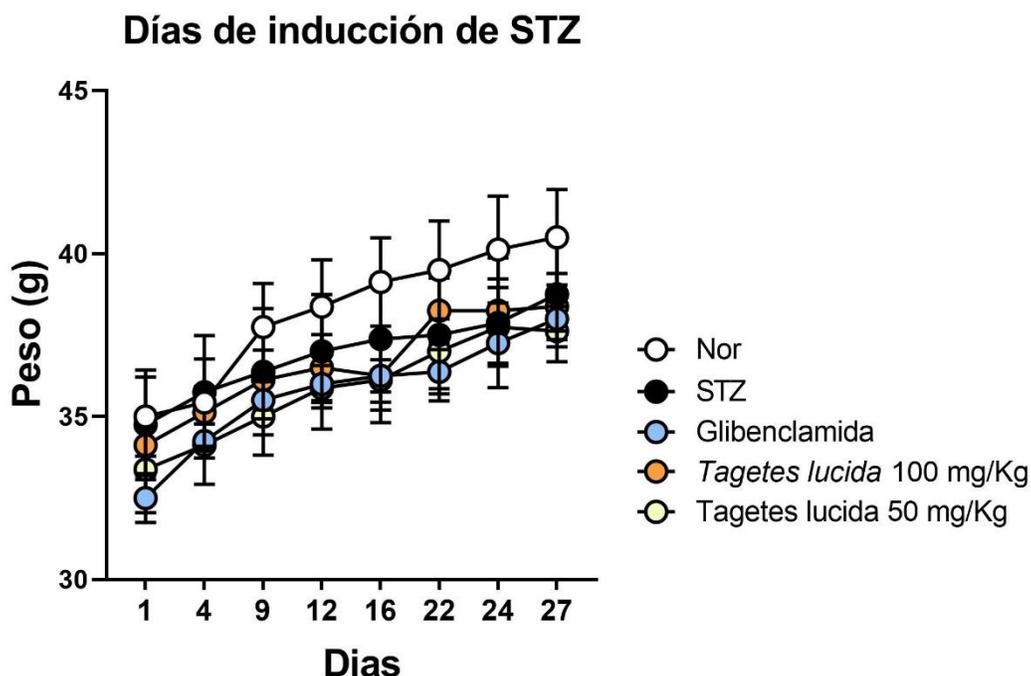


Figura No. 1. Efecto de *Tagetes lucida* 100 mg/kg y *Tagetes lucida* 50 mg/kg en el peso corporal en ratones tras inducción diabética por estreptozotocina (STZ) por 4 semanas. Se reveló que la administración intraperitoneal de STZ produjo una disminución en el peso corporal de los ratones comparado con el grupo normal (Nor) desde el día 16 de inducción, manteniéndose así durante todo el periodo de inducción. Durante este periodo no se había iniciado la administración oral de los extractos candidatos así que no existe diferencias significativas en el peso corporal. Todas las figuras están graficadas como media \pm error estándar de la media (SEM).

No existieron diferencias significativas en las mediciones de peso corporal de los grupos durante las 10 semanas del periodo de administración oral. El grupo normal mantuvo su peso corporal por encima del peso corporal de los ratones diabéticos inducidos con STZ. Este grupo alcanzó un peso corporal de 44.5 ± 5.10 g a la décima semana del periodo experimental. Los pesos corporales del grupo STZ, Glibenclamida, *T. lucida* 100 mg/kg y *T. lucida* 50 mg/kg presentaron pesos con valores muy similares a la décima semana, 40.88 ± 3.48 g, 39.13 ± 2.53 g, 39.14 ± 3.44 g y 39.13 ± 2.75 g, respectivamente.

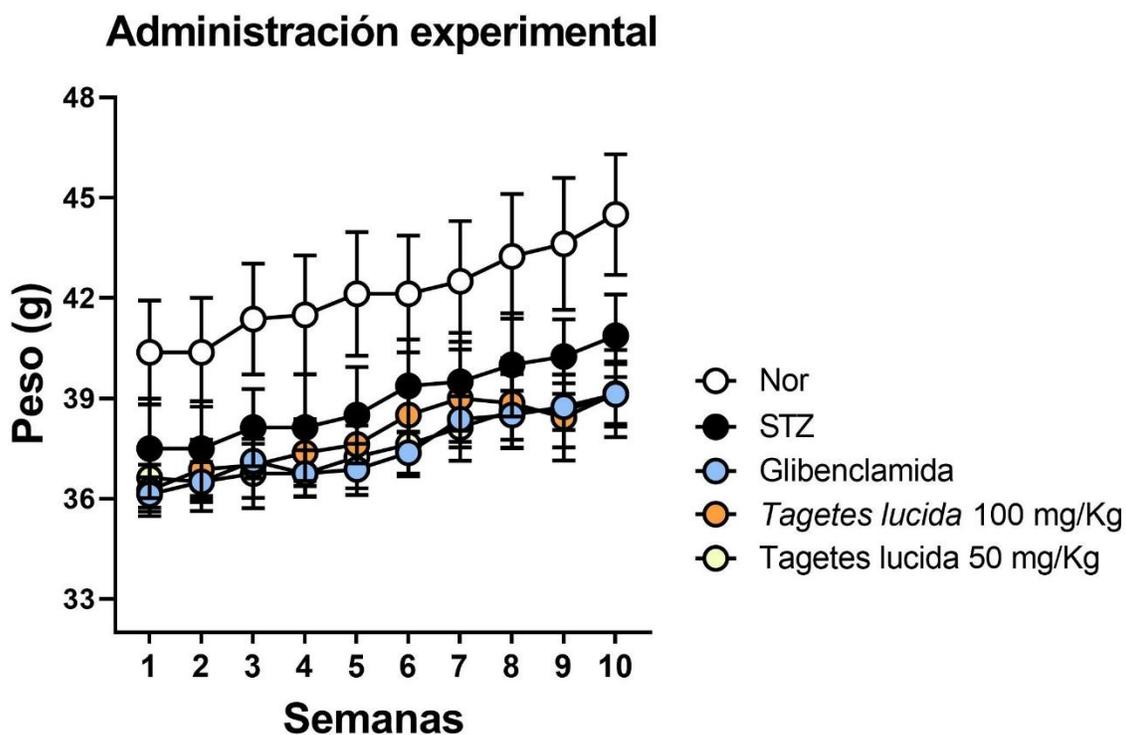


Figura 2. Efecto de *Tagetes lucida* 100 mg/kg y *Tagetes lucida* 50 mg/kg en el peso corporal en ratones diabéticos inducidos con STZ durante la administración experimental (10 semanas). Tras la administración oral de extractos candidatos se evidenció que la administración intraperitoneal (IP) de STZ produjo una disminución en el peso corporal comparando con el grupo Normal durante las 10 semanas de la fase de administración. Los grupos de *T. lucida* y glibenclamida no mostraron protección contra esa pérdida de peso corporal a consecuencia de la administración IP de STZ. Todas las figuras están graficadas como media \pm error estándar de la media (SEM).

Se utilizaron ratones CD-1 de ocho semanas de edad para inducir diabetes utilizando dos dosis de 55 mg/kg de Estreptozotocina (STZ) vía intraperitoneal (IP) al grupo control STZ y a los grupos experimentales *Piper aequale* 100 mg/kg y 50 mg/kg. No se observó ninguna diferencia significativa entre los grupos diabéticos comparado con el grupo normal durante el periodo de inducción de STZ. Sin embargo, el grupo normal obtuvo un mayor peso corporal durante el periodo de inducción, presentando al día 27 un peso de 40.5 ± 4.14 g; seguido estuvo el grupo Glibenclamida, que presentó un valor de 38 ± 1.07 . Los grupos *P. aequale* 100 mg/kg y el grupo STZ mostraron valores muy similares, 36.88 ± 3.09 y 37 ± 4 g, respectivamente. El grupo *P. aequale* 50 mg/kg presentó el peso corporal más bajo al día 27 (34.8 ± 2.28 g).

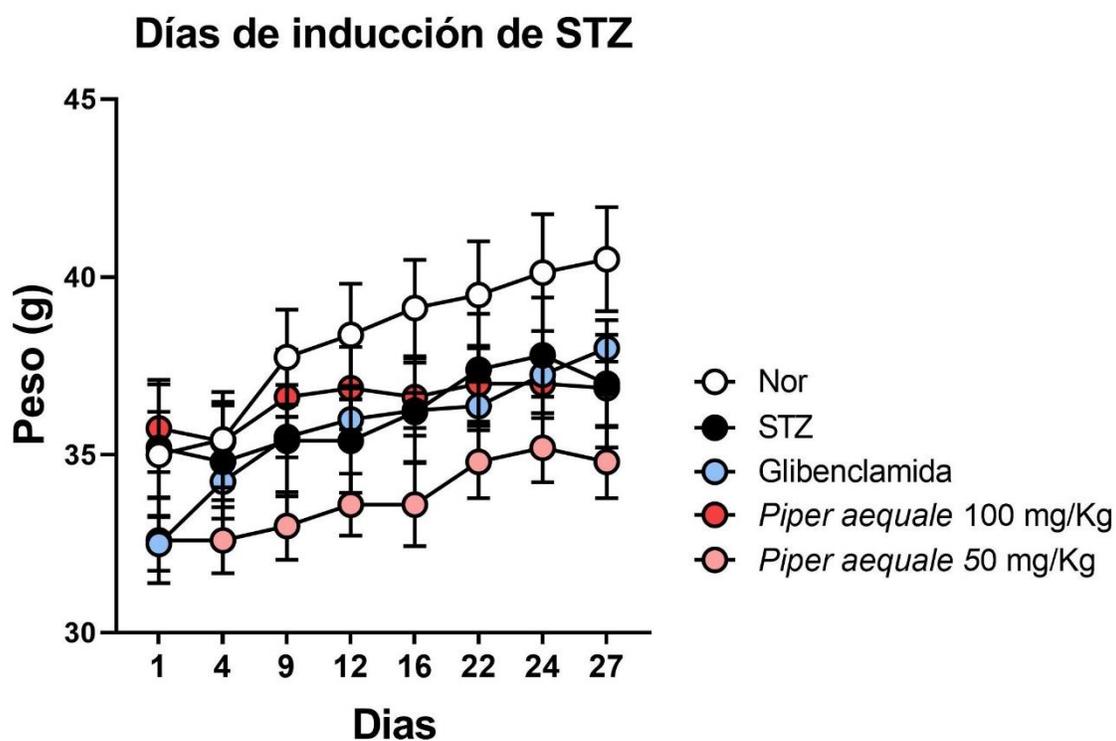


Figura No. 3. Efecto de *Piper aequale* 100 mg/kg y *Piper aequale* 50 mg/kg en el peso corporal en ratones diabéticos inducidos con STZ durante el periodo de inducción de STZ (27 días). Se observó que al día 16 del periodo de inducción existió una separación en el peso corporal de los ratones administrados con STZ IP con los ratones del grupo normal, mostrando que la STZ produjo una disminución el peso corporal. Durante este periodo no se había iniciado la administración oral de los extractos candidatos así que no existe diferencias significativas en el peso corporal. Todas las figuras están graficadas como media \pm error estándar de la media (SEM).

No existieron diferencias significativas en las mediciones de peso corporal de los grupos durante las 10 semanas de administración oral de *P. aequale* 100 mg/kg y *P. aequale* 50 mg/kg. El grupo normal mantuvo su peso corporal por encima del valor de los grupos diabéticos inducidos con STZ. Este grupo alcanzó un peso corporal de 44.5 ± 5.10 g a la décima semana de administración experimental. Se observa una separación en peso corporal a la semana 10 entre el grupo STZ y los grupos experimentales. En la semana 10 los ratones del grupo STZ pesaron 41.4 ± 2.70 g, mientras que los del grupo Glibenclamida, *P. aequale* 100 mg/kg y *P. aequale* 50 mg/kg pesaron 39.13 ± 2.53 , 38.13 ± 3.48 y 38 ± 3 , respectivamente.

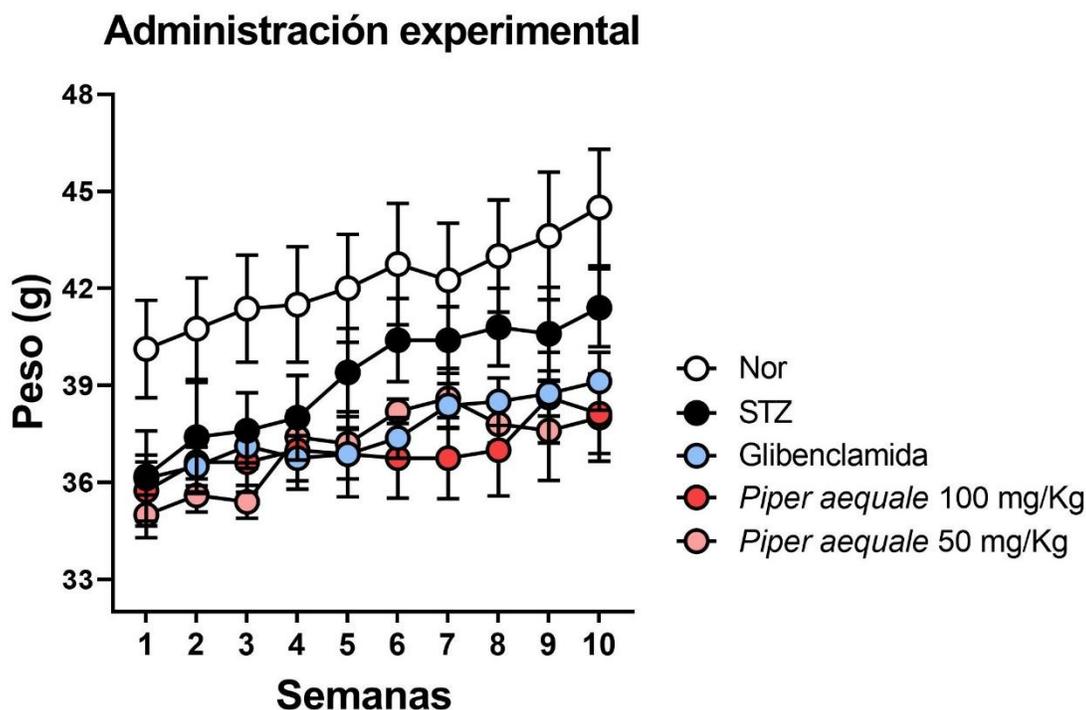


Figura 4. Efecto de *Piper aequale* 100 mg/kg y *Piper aequale* 50 mg/kg en el peso corporal en ratones diabéticos inducidos con STZ durante la administración experimental (10 semanas). No existe diferencia significativa en los pesos corporales de los grupos con diabetes inducida durante las 10 semanas del periodo de administración experimental. El peso corporal de los ratones de los grupos de *P. aequale* 100 mg/kg y 50 mg/kg y los ratones del grupo de Glibenclamida fue más bajo comparado con el grupo STZ, a partir de la sexta semana hasta la décima semana del periodo de administración oral. Todas las figuras están graficadas como media \pm error estándar de la media (SEM).

Se realizaron las mediciones de glucosa sanguínea a los días 0, 30 y 60 del tratamiento oral experimental. El grupo Normal presentó valores de glucosa estadísticamente significativos ($p < 0.01$) menores comparado con el grupo control STZ. El grupo normal presentó una media de 142.857 al día 60, mientras que el grupo STZ al día 60 tuvo un valor de 535.375 mg/dL. Se encontró que los valores de glucosa sanguínea en los ratones de los grupos Glibenclamida, *T. lucida* 100 mg/kg y *T. lucida* 50 mg/kg fueron significativamente menores ($p < 0.05$) que el grupo STZ. El grupo Glibenclamida, *T. lucida* 100 mg/kg y *T. lucida* 50 mg/kg al día 60, tuvieron valores de 269.75, 327.86 y 336.88 mg/dL respectivamente, mientras que el grupo STZ tuvo un valor 535.375 mg/dL al día 60.

En las mediciones de glucosa en sangre se obtuvieron valores muy similares desde el inicio hasta el final de experimentación. Los ratones del grupo STZ si tuvo una tendencia de aumento, este grupo al día 0 presento un valor de 335.88 mg/dL y el último día de experimentación alcanzó el valor de 535.375 mg/dL.

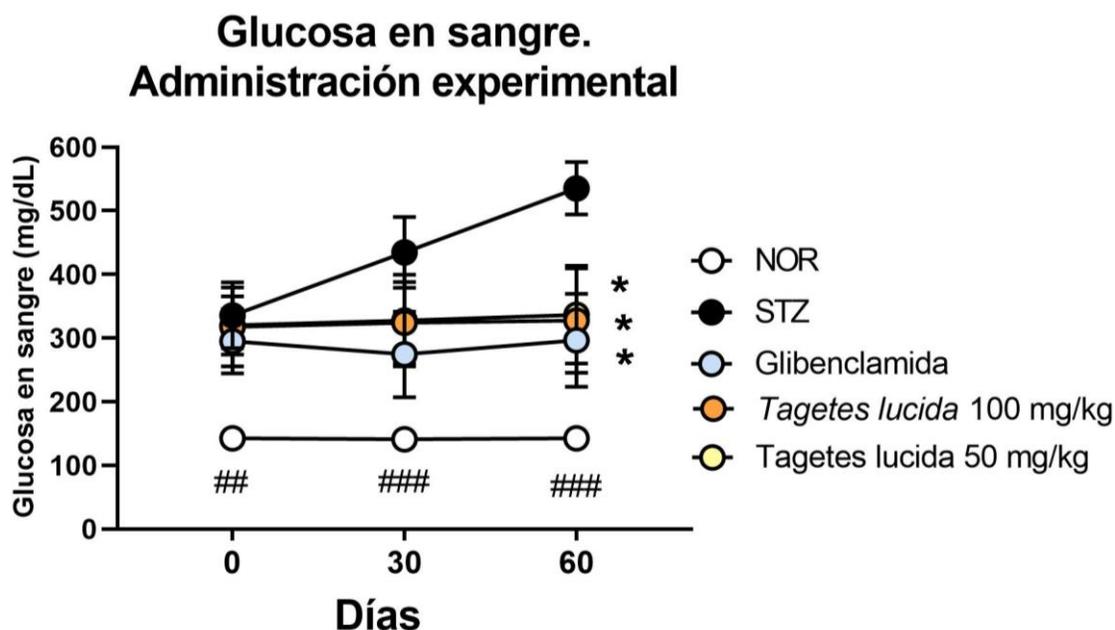


Figura 5. Efecto de *Tagetes lucida* 100 mg/ kg y *Tagetes lucida* 50 mg/kg en la glucosa sanguínea en la progresión diabética de 60 días en ratones macho inducidos con STZ. El grupo normal presentó valores de glucosa sanguínea significativamente menores ($p < 0.001$) que el grupo control administrado intraperitoneal con STZ en los días 0, 30 y 60 del periodo experimental. La administración oral de Glibenclamida, *T. lucida* 100 mg/kg y *T. lucida* 50 mg/kg redujeron significativamente ($p < 0.05$) la glucosa sanguínea comparado con los valores obtenidos por el grupo control STZ en los días 30 y 60 del experimento,

evidenciando que detuvo la progresión de la diabetes en los ratones que recibieron tratamiento con *T. lucida* y Glibenclamida. El efecto hipoglicemiante mostrado por *T. lucida* fue similar al efecto dado por el fármaco antidiabético Glibenclamida. Todas las figuras están graficadas como media \pm SEM. ## = comparación grupo STZ contra grupo normal ($p < 0.01$); ### = comparación grupo STZ contra grupo normal ($p < 0.001$); * = comparación grupo experimental contra grupo STZ ($p < 0.05$); STZ = Estreptozotocina; Nor = Normal; mg/dL = miligramos/decilitro.

El grupo glibenclamida presentó al día 60 una media de 269.75 mg/dL de glucosa en sangre, este valor fue estadísticamente significativos ($p < 0.05$) menor al grupo STZ., siendo 535.38 mg/dL el valor de este último. En los ratones de los grupos *P. aequale* 100 mg/kg y *P. aequale* 50 mg/kg se registró un aumento en la glucosa sanguínea al día 60, 600 mg/dL y 566.6 mg/dL, respectivamente, valores muy similares a los obtenidos por el grupo STZ.

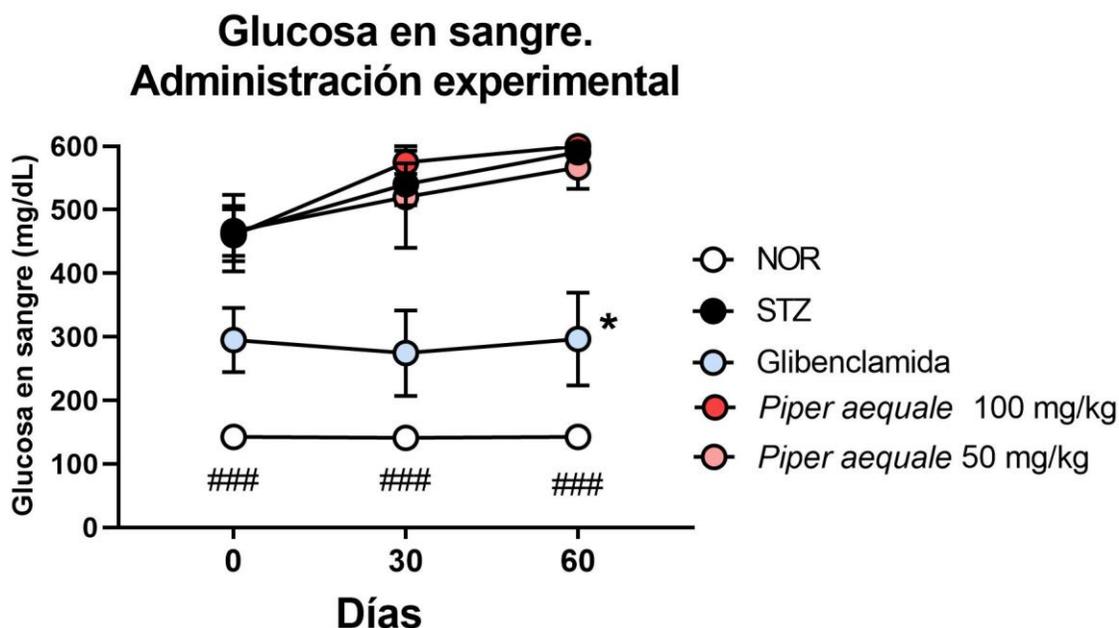


Figura 6. Evaluación del efecto hipoglicemiante de *Piper aequale* 100 mg/ kg y *Piper aequale* 50 mg/kg en la progresión diabética de ratones CD-1 inducidos con STZ.

El grupo normal presentó valores de glucosa sanguínea estadísticamente significativos ($p < 0.01$) menores que el grupo control STZ en los días 0, 30 y 60 del periodo experimental. Los ratones diabéticos tratados con Glibenclamida obtuvieron un valor medio de glucosa sanguínea estadísticamente significativo menor ($p < 0.05$) que el valor en el grupo STZ. La administración oral de *P. aequale* en las dosis de 100 mg/kg y 50 mg/kg no detuvo la progresión de la elevación de glucosa en sangre en los ratones diabéticos inducidos con

STZ. Todas las figuras están graficadas como media \pm SEM. ## = comparación grupo STZ contra grupo normal ($p < 0.01$); ### = comparación grupo STZ contra grupo normal ($p < 0.001$); * = comparación grupo glibenclamida contra grupo STZ ($p < 0.05$); STZ = Estreptozotocina; Nor = Normal; mg/dL = miligramos/decilitro; mg/kg = miligramos/kilogramo

9. DISCUSIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es un desorden metabólico grave, que ha aumentado rápidamente y se considera una epidemia mundial (Buse, 2011). La DM se considera un trastorno multisistémico que conduce a complicaciones microvasculares y macrovasculares, que están principalmente relacionadas con el grado y duración de la exposición a la hiperglucemia (Bhattarai et al., 2019). Es posible reducir esta incidencia y la progresión de estas complicaciones al iniciar un tratamiento temprano y agresivo dirigido a mantener los niveles de glucosa más cercano a lo normal posible (Eppens et al., 2006).

La población indígena diabética queda vulnerable de no mantener controlado el estado glucémico, debido al alto costo en los medicamentos, poca accesibilidad y mala adherencia al tratamiento farmacológico por barreras culturales o económicas, por lo que optar a un tratamiento antidiabético a base de plantas medicinales, puede ser una alternativa viable para esta población (Andrade-Cetto et al., 2019). Por lo tanto, se consideró relevante la evaluación de especies nativas, *Tagetes lucida* y *Piper aequale* en ratones macho de 8 semanas mediante un modelo *in vivo* robusto de inducción química con estreptozotocina (STZ), y contribuir a la medicina tradicional al dar evidencia si el uso de dichas especies representa una opción efectiva y segura en el tratamiento de la patología en estudio.

Se escogió *T. lucida* porque se utiliza tradicionalmente en poblaciones guatemaltecas para tratar la diabetes y *P. aequale* tiene semejanza genética a *P. Jacquemontanium* también utilizada tradicionalmente para la diabetes (Cruz et al., 2012; Martinez, 2006).

En la presente investigación se utilizó dos dosis bajas de STZ (55 mg/kg) en lugar de una dosis única alta (110 mg/kg comúnmente) de STZ como indican otros estudios de diabetes inducidos por STZ (Hnatyszyn et al., 2002; Li et al., 2011; Wu & Yan, 2015) para evitar que los animales mueran rápidamente después del tratamiento con STZ debido a la necrosis masiva de las células β de los islotes pancreáticos y una liberación repentina de insulina que resulta en fatal hipoglucemia generalmente dentro de las 48 horas posteriores a la inyección a dosis alta de STZ (Deeds et al., 2011; Wu & Yan, 2015). Este protocolo interno de inducción por dos dosis bajas de STZ se decidió tras una validación de dosis cuyos resultados mostraron un índice de mortalidad de 0 animales (datos no mostrados).

Se ha indicado que a la tercera o cuarta semana después de la inducción por STZ en los ratones CD-1 se eleva la glucosa sanguínea por encima de 150 mg/dL, debido a la destrucción pancreática generada por la toxina formada por STZ al ingresar a las células β pancreáticas (Sakata et al., 2012; Wu & Yan, 2015). En este estudio se comprobó que el

modelo de inducción por STZ es confiable y los animales empleados son empleados a la toxina generada por STZ, ya que a la cuarta semana de inducción se elevaron los valores de glucosa por encima de 250 mg/dL. Durante las 10 semanas de experimento, el grupo STZ mostro progresión diabética, ya que los valores de glucosa en sangre mantuvieron la tendencia a aumentar.

Otras investigaciones indican que en los ratones con diabetes severa inducida tienden a perder un gran porcentaje de su peso corporal después de la inyección de STZ (Deeds et al., 2011), y esta reducción en el peso corporal se debe a la pérdida o degradación de proteínas estructurales; ya que se sabe que las proteínas estructurales contribuyen al peso corporal y esta síntesis de proteínas esta disminuida en todos los tejidos debido a la disminución de la producción de ATP y la deficiencia absoluta o relativa de insulina (Li et al., 2011; Senthilkumar & Subramanian, 2007). Se observó disminución en el peso corporal de los grupos diabéticos inducidos con STZ, todos los grupos diabéticos durante las diez semanas de tratamiento oral, independientemente del extracto administrado, mantuvieron su peso corporal más bajo que el grupo normal (sin inducción con STZ). La administración vía oral (PO) del extracto de *T. lucida* presentó mayor protección en el peso corporal de los ratones diabéticos que el grupo tratado PO con *P. aequale*.

Estudios previos han indicado que el tratamiento oral con Glibenclamida mejoró el peso corporal de ratones diabéticas resultado en una mejora en el control glucémico (Chatuphonprasert et al., 2014; Ramachandran & Saravanan, 2013), en el presente estudio ocurrió lo contrario, el grupo administrado PO con Glibenclamida no mejoró el peso corporal de los ratones diabéticos pero si tuvo un efecto positivo en el control glucémico, probablemente si se aumenta la dosis administrada de Glibenclamida, aumentaría el peso corporal de los animales y la glucosa sanguínea podría disminuir hasta el valor normal, tanto como sea posible.

Se demostró que *T. lucida* en ambas dosis, 100 mg/kg/día y 50 mg/kg/día PO, suprimió significativamente los valores de glucosa sanguínea, por consiguiente, detuvo la progresión diabética en los ratones comparado con el grupo control STZ. La especie *T. lucida* tuvo un efecto similar al fármaco hipoglucemiante oral convencional (Glibenclamida 5 mg/kg, utilizado como un control positivo) que impidió el aumento de la glucosa sanguínea al día 30 y 60 del experimento.

La Glibenclamida estimula la secreción de insulina, pero también reduce los niveles de glucosa inhibiendo la gluconeogénesis en el hígado y otros tejidos (Hnatyszyn et al., 2002);

según los resultados obtenidos de *T. lucida* es posible que la actividad hipoglucemiante es debido a un efecto estimulante sobre las células β de los islotes pancreáticos remanentes, una mejora de la acción de la insulina a nivel celular o por una mejora en la captación de glucosa periférica.

En diferentes estudios de tamizaje fitoquímico de *T. lucida* se ha revelado la presencia de compuestos polifenoles y flavonoides (quercetina, patuletina), como los compuestos mayoritarios de la especie (Gaitén et al., 2018; Villa-Silva et al., 2020; Zarate-Escobedo et al., 2018). Se puede atribuir el efecto hipoglicemiante de esta especie a estos compuestos antioxidantes que actúan como secretagogos de la insulina y pueden atenuar las complicaciones diabéticas (Gupta et al., 2012). Un estudio demostró que la quercetina niveló los niveles de glucosa en sangre en ratones diabéticos inducidos con STZ al disminuir el estrés oxidativo generado por STZ y preservar la integridad de las células β pancreáticas (Coskun et al., 2005) y como resultado un aumento en la secreción de insulina y disminución de los niveles elevados de glucosa. Otro estudio reveló que los flavonoides de rutina y quercetina aumentan la absorción de glucosa, por un posible mecanismo de acción de mejorar la utilización de glucosa periférica, ya sea mediante la estimulación directa de la absorción de glucosa o por un aumento en la secreción de insulina e inhibiendo la actividad transportadora de glucosa (Jadhav & Puchchakayala, 2012).

La especie *P. aequale* no mostró tener efecto hipoglicemiante en el presente estudio; sin embargo se ha reportado que el género Piper posee alto porcentaje de flavonoides y compuestos de carácter fenólico (S. M. Cruz et al., 2011; Salehi, Zakaria, et al., 2019). Estos compuestos químicos con capacidad antioxidante que contribuyen a la mejora funcional de las células pancreáticas remanentes. En estudios preliminares *in vitro* se ha demostrado que solamente el aceite esencial de *P. aequale* posee actividad antioxidante en el método de DPPH (Calderón et al., 2006). Otro estudio indica que el extracto acuoso de hojas de *P. aequale* no tiene mayor actividad antioxidante que el control positivo quercetina (Da Silva et al., 2016). La nula actividad hipoglicemiante de la especie *P. aequale* pudo deberse a que no se realizó la extracción directamente de los aceites esenciales o que los compuestos flavonoides o fenólicos de la especie no están en el porcentaje adecuado para que su actividad antioxidante disminuya el daño severo por estrés oxidativo, no obstante, se necesitan más estudios *in vivo* para afirmar que la especie *P. aequale* no posee actividad hipoglicemiante.

Se ha evaluado otras especies del género Piper, tales como las hojas de *P. betle* que demostró tener un efecto hipoglicemiante en un modelo de ratas inducidas con STZ, este estudio atribuyó la capacidad hipoglicemiante a la capacidad de estimular la secreción

de insulina, que a su vez activa la enzima glucoquinasa, lo que aumenta la utilización de la glucosa, y por tanto conduce a disminuir el nivel de glucosa en sangre o a la inhibición de enzimas que aumentan la gluconeogénesis (Santhakumari et al., 2006).

Otro estudio demostró que la especie *P. auritum* redujo los niveles de glucosa en sangre y aumento la secreción de insulina en un modelo de ratas diabéticas por STZ, y protegió las células RIN-5F del estrés oxidativo inducido por los productos finales de glicación (AGEs), lo que sugiere que *P. auritum* podría rescatar parcialmente las células β pancreáticas agotadas por el estrés oxidativo (Gutierrez, 2012).

En conclusión, este estudio proporciona evidencia que *T. lucida* 100 mg/kg y *T. lucida* 50 mg/kg PO tienen efecto hipoglucemiante considerable en ratones diabéticos inducidos por STZ, siendo esto de gran aporte a la medicina tradicional, y un posible candidato farmacológico, como tratamiento adicional a los fármacos sintéticos para la DM. Sin embargo, se necesitan más estudios encaminados a dilucidar el mecanismo de acción de *T. lucida* como hipoglicemiante; si los efectos antidiabéticos implican la mejora de la tolerancia a la glucosa, el aumento de la secreción de insulina, la atenuación de la resistencia a la insulina, protección del glucometabolismo hepatogénico (Liu et al., 2016), disminución del estrés oxidativo y protección de las células β pancreáticas remanentes o si es una combinación de estos, contribuyendo así a la disminución de glucosa sanguínea y previniendo las morbilidades asociadas a la diabetes. Se necesitan estudios histopatológicos del páncreas para los ratones inducidos con STZ y tratados con *T. lucida* para dar soporte a los resultados encontrados en estos estudios, dichos análisis podrían mostrar si *T. lucida* mejora el daño en el tejido pancreático y la organización de los islotes endocrinos de Langerhans en las células β provocado por el estrés oxidativo de STZ (Balamash et al., 2018). La determinación de la concentración de enzimas hepáticas como hexoquinasa, glucosa 6-fosfatasa, fructosa 1,6-bifosfatasa, glucosa 6-fosfato deshidrogenasa, piruvato quinasa y glucógeno podría dar soporte a los resultados encontrados, ya que son enzimas implicadas en la gluconeogénesis y glucolisis, vías metabólicas de la glucosa que juegan un papel vital en el mantenimiento de la homeostasis de la glucosa en sangre a través de la degradación del glucógeno o de precursores gluconeogénicos (Lenzen, 2008; Ramachandran & Saravanan, 2013).

10. CONCLUSIONES

- 10.1. Se obtuvo un extracto con potencial hipoglicemiante en diabetes mediante una evaluación farmacológica en modelos *in vivo* de diabetes inducida por STZ, *Tagetes lucida* 100 mg/kg/día durante 10 semanas.
- 10.2. La administración de dos dosis de 55 mg/kg de STZ vía IP disminuyó significativamente el peso corporal de los ratones diabéticos comparado con el grupo normal.
- 10.3. La administración oral del extracto de *Tagetes lucida*, *Piper aequale* y Glibenclamida posterior a la inducción con STZ no mostró un efecto protector contra la pérdida de peso corporal causada por la diabetes inducida.
- 10.4. Los ratones administrados con STZ del grupo control tienen valores de glucosa en sangre significativamente más elevados que los ratones del grupo normal. El grupo STZ presentó progresión diabética durante las 10 semanas de experimentación.
- 10.5. A los 30 y 60 días de administración oral de *T. lucida* se observó una reducción significativa de los valores de glucosa sanguínea comparado con los valores elevados de glucosa de los ratones diabéticos del grupo STZ.
- 10.6. El efecto hipoglicemiante mostrado por *T. lucida* fue similar al efecto dado por el fármaco antidiabético Glibenclamida, ninguno de los dos tratamientos logró regresar los valores de glucosa en sangre a sus valores basales en los ratones.
- 10.7. La administración oral de *P. aequale* no mejoró la hiperglicemia en los ratones causada por la STZ, en ninguna de las dos dosis probadas. Se obtuvieron valores de glucosa muy similares al grupo control STZ.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Evaluar el efecto hipoglicemiante de la Glibenclamida en combinación con la administración de *T. lucida*, para determinar si al agregar un tratamiento coadyuvante al medicamento convencional, mejora aún más el estado glucémico de los ratones, pudiendo regresar a los valores normales de glucosa sanguínea.
- 11.2. Realizar análisis histopatológicos al páncreas de los ratones, mediante tinción con eosina hematoxilina a los cortes del tejido pancreático, para evaluar los daños provocados por la STZ a los islotes pancreáticos y dar evidencia que *T. lucida* mejora el estado glucémico al proteger la estructura de las células β remanentes.
- 11.3. Determinar las concentraciones plasmáticas de insulina y de enzimas implicadas en procesos metabólicos como gluconeogénesis y glucólisis para dar soporte a los posibles mecanismos de acción implicados en el efecto hipoglicemiante de *T. lucida*.
- 11.4. Determinar la actividad de superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT) y glutatión (GSH) para evaluar el estrés oxidativo como consecuencia de la toxina STZ administrada y si mejora al administrar el tratamiento con Glibenclamida o *T. lucida*.

12. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aba, P. E., & Asuzu, I. U. (2018). Mechanisms of actions of some bioactive anti-diabetic principles from phytochemicals of medicinal plants: A review. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 9(2), 85–96.
- Abdel-Haleem, S. A., Ibrahim, A. Y., Ismail, R. F., Shaffie, N. M., Hendawy, S. F., & Omer, E. A. (2017). In-vivo hypoglycemic and hypolipidemic properties of *Tagetes lucida* alcoholic extract in streptozotocin-induced hyperglycemic Wistar albino rats. *Annals of Agricultural Sciences*, 62(2), 169–181. <https://doi.org/10.1016/j.aogas.2017.11.005>
- Alim Sevilla-Asencio, O., Dublan-Garcia, O., Manuel Gomez-Olivan, L., & Xochitl Lopez-Martinez, L. (2013). Inhibitory activity against alpha-glycosidase and alpha-amylase of aqueous extracts from different species used in mexican dishes. *Cienciauat*, 8(1), 42–47.
- Ambler, G. R., Cameron, F. J., Joshi, K., & Wherrett, D. K. (2019). Diabetes mellitus. In *Brook's Clinical Pediatric Endocrinology* (pp. 583–669). <https://doi.org/10.1002/9781119152712.ch15>
- American Diabetes Association. (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(Supplement 1), 81–90. <https://doi.org/10.2337/dc09-S062>
- Andrade-Cetto, A., Cruz, E. C., Cabello-Hernández, C. A., & Cárdenas-Vázquez, R. (2019). Hypoglycemic Activity of Medicinal Plants Used among the Cakchiquels in Guatemala for the Treatment of Type 2 Diabetes. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2019(2168603). <https://doi.org/10.1155/2019/2168603>
- Andrews, C. M., Wyne, K., & Svenson, J. E. (2018). The Use of Traditional and Complementary Medicine for Diabetes in Rural Guatemala. *Journal of Health Care for the Poor and Underserved*, 29(4), 1188–1208. <https://doi.org/10.1353/hpu.2018.0092>
- Atkinson, M. A., & Eisenbarth, G. S. (2001). Type 1 diabetes: New perspectives on disease pathogenesis and treatment. *Lancet*, 358(9277), 221–229. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(01\)05415-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(01)05415-0)
- Atkinson, M. A., Eisenbarth, G. S., & Michels, A. W. (2014). Type 1 diabetes. *The Lancet*, 383(9911), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60591-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60591-7)
- Balamash, K. S., Alkreathy, H. M., Al Gahdali, E. H., Khoja, S. O., & Ahmad, A. (2018). Comparative biochemical and histopathological studies on the efficacy of metformin

and virgin olive oil against streptozotocin-induced diabetes in Sprague-Dawley rats. *Journal of Diabetes Research*, 2018(4692197), 10 pages. <https://doi.org/10.1155/2018/4692197>

- Barcelo, A., Gregg, E. W., Gerzoff, R. B., Wong, R., Flores, E. P., Ramirez-Zea, M., Cafiero, E., Altamirano, L., Rivera, M. A., De Cosio, G., De Maza, M. D., Del Aguila, R., Emanuel, E., Enrique, G., Gough, E., Jenkins, V., Orellana, P., Palma, R., Palomo, R., ... Villagra, L. (2012). Prevalence of diabetes and intermediate hyperglycemia among adults from the first multinational study of noncommunicable diseases in six Central American Countries: The Central America Diabetes Initiative (CAMDI). *Diabetes Care*, 35(4), 738–740. <https://doi.org/10.2337/dc11-1614>
- Batterham, R. L., & Cummings, D. E. (2016). Mechanisms of diabetes improvement following bariatric/metabolic surgery. *Diabetes Care*, 39(6), 893–901. <https://doi.org/10.2337/dc16-0145>
- Bekiari, E., Kitsios, K., Thabit, H., Tauschmann, M., Athanasiadou, E., Karagiannis, T., Haidich, A. B., Hovorka, R., & Tsapas, A. (2018). Artificial pancreas treatment for outpatients with type 1 diabetes: Systematic review and meta-Analysis. *BMJ (Online)*, 361. <https://doi.org/10.1136/bmj.k1310>
- Bharti, S. K., Krishnan, S., Kumar, A., & Kumar, A. (2018). Antidiabetic phytoconstituents and their mode of action on metabolic pathways. *Therapeutic Advances in Endocrinology and Metabolism*, 9(3), 81–100. <https://doi.org/10.1177/2042018818755019>
- Bhattarai, S., Godsland, I. F., Misra, S., Johnston, D. G., & Oliver, N. (2019). Metabolic health and vascular complications in type 1 diabetes. *Journal of Diabetes and Its Complications*, 33(9), 634–640. <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2019.05.026>
- Bicchi, C., Fresia, M., Rubiolo, P., Monti, D., Franz, C., & Goehler, I. (1997). Constituents of *Tagetes lucida* Cav. ssp. *lucida* essential oil. *Flavour and Fragrance Journal*, 12(1), 47–52. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1099-1026\(199701\)12:1<47::AID-FFJ610>3.0.CO;2-7](https://doi.org/10.1002/(SICI)1099-1026(199701)12:1<47::AID-FFJ610>3.0.CO;2-7)
- Buse, J. B. (2011). Type 2 diabetes mellitus in 2010: Individualizing treatment targets in diabetes care. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(2), 67–68. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2010.230>
- Cáceres, A., Girón, L. M., & Martínez, A. M. (1987). Diuretic activity of plants used for the

- treatment of urinary ailments in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 19(3), 233–245. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(87\)90001-8](https://doi.org/10.1016/0378-8741(87)90001-8)
- Caceres, A., Lopez, B., Giron, M., & Logemann, H. (1991). Plants used in Guatemala for the treatment of dermatophytic infections. 1. Screening for antimycotic activity of 44 plant extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 31(3), 263–276. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90011-2](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90011-2)
- Calderón, Á. I., Vázquez, Y., Solís, P. N., Caballero-George, C., Zacchino, S., Gimenez, A., Pinzón, R., Cáceres, A., Tamayo, G., Correa, M., & Gupta, M. P. (2006). Screening of Latin American plants for cytotoxic activity. *Pharmaceutical Biology*, 44(2), 130–140. <https://doi.org/10.1080/13880200600592285>
- Chary, A., Greiner, M., Bowers, C., & Rohloff, P. (2012). Determining adult type 2 diabetes-related health care needs in an indigenous population from rural Guatemala: A mixed-methods preliminary study. *BMC Health Services Research*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/1472-6963-12-476>
- Chatuphonprasert, W., Lao-Ong, T., & Jarukamjorn, K. (2014). Improvement of superoxide dismutase and catalase in streptozotocin-nicotinamide-induced type 2-diabetes in mice by berberine and glibenclamide. *Pharmaceutical Biology*, 52(4), 419–427. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.839714>
- Colagiuri, S. (2010). Diabetes: Therapeutic options. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 12(6), 463–473. <https://doi.org/10.1111/j.1463-1326.2009.01182.x>
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., & Oter, S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Research*, 51(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2004.06.002>
- Cruz, E., & Andrade-Cetto, A. (2015). Ethnopharmacological field study of the plants used to treat type 2 diabetes among the Cakchiquels in Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*, 159, 238–244. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.021>
- Cruz, S. M., Cáceres, A., Álvarez, L. E., Apel, M. A., & Henriques, A. T. (2012). Chemical diversity of essential oils of 15 Piper species from Guatemala. *Acta Horticulturae*, 964, 39–46. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2012.964.4>
- Cruz, S. M., Cáceres, A., Álvarez, L., Morales, J., Apel, M. A., Henriques, A. T., Salamanca, E., Giménez, A., Vázquez, Y., & Gupta, M. P. (2011). Chemical composition of

- essential oils of *Piper jacquemontianum* and *Piper variabile* from Guatemala and bioactivity of the dichloromethane and methanol extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21(4), 587–593. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000110>
- Da Silva, J. K. R., Pinto, L. C., Burbano, R. M. R., Montenegro, R. C., Andrade, E. H. A., & Maia, J. G. S. (2016). Composition and cytotoxic and antioxidant activities of the oil of *Piper aequale* Vahl. *Lipids in Health and Disease*, 15(1), 1–6. <https://doi.org/10.1186/s12944-016-0347-8>
- Damasceno, D. C., Netto, A. O., Iessi, I. L., Gallego, F. Q., Corvino, S. B., Dallaqua, B., Sinzato, Y. K., Bueno, A., Calderon, I. M. P., & Rudge, M. V. C. (2014). Streptozotocin-induced diabetes models: Pathophysiological mechanisms and fetal outcomes. *BioMed Research International*, 2014(819065). <https://doi.org/10.1155/2014/819065>
- Dawed, A. Y., Zhou, K., & Pearson, E. R. (2016). Pharmacogenetics in type 2 diabetes: Influence on response to oral hypoglycemic agents. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 9, 17–29. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S84854>
- de L. Rico Arce, M., Stevens, W. D., Ulloa, C. U., Pool, A., & Montiel, O. M. (2004). Flora de Nicaragua. Tomos 1 - 3. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 85. *Kew Bulletin*, 59(3), 495. <https://doi.org/10.2307/4110958>
- Deeds, M. C., Anderson, J. M., Armstrong, A. S., Gastineau, D. A., Hiddinga, H. J., Jahangir, A., Eberhardt, N. L., & Kudva, Y. C. (2011). Single dose streptozotocin-induced diabetes: Considerations for study design in islet transplantation models. *Laboratory Animals*, 45(3), 131–140. <https://doi.org/10.1258/la.2010.010090>
- Dewangan, H., Tiwari, R. K., Sharma, V., Shukla, S. S., Satapathy, T., & Pandey, R. (2017). Past and future of in-vitro and in-vivo animal models for diabetes: A review. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research*, 51(4), S522–S530. <https://doi.org/10.5530/ijper.51.4s.79>
- Eleazu, C. O., Eleazu, K. C., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of Diabetes and Metabolic Disorders*, 12(1), 60. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>
- Eppens, M. C., Craig, M. E., Cusumano, J., Hing, S., Chan, A. K. F., Howard, N. J., Silink, M., & Donaghue, K. C. (2006). Prevalence of diabetes complications in adolescents with type 2 compared with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 29(6), 1300–1306.

<https://doi.org/10.2337/dc05-2470>

- Evert, A. B., Boucher, J. L., Cypress, M., Dunbar, S. A., Franz, M. J., Mayer-Davis, E. J., Neumiller, J. J., Nwankwo, R., Verdi, C. L., Urbanski, P., & Yancy, W. S. (2014). Nutrition therapy recommendations for the management of adults with diabetes. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1). <https://doi.org/10.2337/dc14-S120>
- Ewing, G., & Parvez, S. (2010). The multi-systemic nature of diabetes mellitus: Genotype or phenotype? *North American Journal of Medical Sciences*, 2(10), 444–456. <https://doi.org/10.4297/najms.2010.2444>
- Fernando Maluenda, G. (2012). Cirugía bariátrica. *Revista Médica Clínica Las Condes*, 23(2), 180–188. [https://doi.org/10.1016/s0716-8640\(12\)70296-1](https://doi.org/10.1016/s0716-8640(12)70296-1)
- Fonseca, V. A. (2009). Defining and characterizing the progression of type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 32(Suppl 2). <https://doi.org/10.2337/dc09-s301>
- Franz, M. J., Powers, M. A., Leontos, C., Holzmeister, L. A., Kulkarni, K., Monk, A., Wedel, N., & Gradwell, E. (2010). The evidence for medical nutrition therapy for type 1 and type 2 diabetes in adults. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(12), 1852–1889. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.09.014>
- Gaitén, Y. G., Lizama, R. S., Simón, G. G., & Álvarez, A. M. (2018). Pharmacognostic, phytochemical and biological evaluation of a hydroalcoholic extract of *Tagetes lucida* Cavanilles. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 23(2).
- García-Alvarado, J. S., Verde-Star, M. J., & Heredia, N. L. (2001). Traditional uses and scientific knowledge of medicinal plants from Mexico and Central America. *Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants*, 8(2–3), 37–89. https://doi.org/10.1300/J044v08n02_02
- Giovannini, P., Howes, M. J. R., & Edwards, S. E. (2016). Medicinal plants used in the traditional management of diabetes and its sequelae in Central America: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 184, 58–71. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.02.034>
- Girón, L. M., Freire, V., Alonzo, A., & Cáceres, A. (1991). Ethnobotanical survey of the medicinal flora used by the Caribs of Guatemala. *Journal of Ethnopharmacology*. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(91\)90035-C](https://doi.org/10.1016/0378-8741(91)90035-C)
- Goyal, S. N., Reddy, N. M., Patil, K. R., Nakhate, K. T., Ojha, S., Patil, C. R., & Agrawal, Y. O. (2016). Challenges and issues with streptozotocin-induced diabetes - A clinically

- relevant animal model to understand the diabetes pathogenesis and evaluate therapeutics. *Chemico-Biological Interactions*, 244(25), 49–63. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.11.032>
- Guadarrama-Cruz, G., Alarcon-Aguilar, F. J., Lezama-Velasco, R., Vazquez-Palacios, G., & Bonilla-Jaime, H. (2008). Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(2), 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.08.013>
- 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. <https://doi.org/10.1111/j.1753-0407.2011.00173.x>
- Gutierrez, R. M. P. (2012). Effect of the hexane extract of *Piper auritum* on insulin release from β -cell and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat. *Pharmacognosy Magazine*, 8(32), 308–313. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.103661>
- Hasan, M. M., Ahmed, Q. U., Mat Soad, S. Z., & Tunna, T. S. (2018). Animal models and natural products to investigate in vivo and in vitro antidiabetic activity. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 101, 833–841. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.02.137>
- Hernandez-Leon, A., González-Trujano, M. E., Narváez-González, F., Pérez-Ortega, G., Rivero-Cruz, F., & Aguilar, M. I. (2020). Role of β -caryophyllene in the antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Tagetes lucida* Cav. Essential oil. *Molecules*, 25(3). <https://doi.org/10.3390/molecules25030675>
- Herold, K. C., Bundy, B. N., Long, S. A., Bluestone, J. A., DiMeglio, L. A., Dufort, M. J., Gitelman, S. E., Gottlieb, P. A., Krischer, J. P., Linsley, P. S., Marks, J. B., Moore, W., Moran, A., Rodriguez, H., Russell, W. E., Schatz, D., Skyler, J. S., Tsalikian, E., Wherrett, D. K., ... Greenbaum, C. J. (2019). An Anti-CD3 Antibody, Teplizumab, in Relatives at Risk for Type 1 Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 381(7), 603–613. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1902226>
- Hnatyszyn, O., Miño, J., Ferraro, G., & Acevedo, C. (2002). The hypoglycemic effect of *Phyllanthus sellowianus* fractions in streptozotocin-induced diabetic mice. *Phytomedicine*, 9(6), 556–559. <https://doi.org/10.1078/09447110260573209>
- Jadhav, R., & Puchchakayala, G. (2012). Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: Boswellic acid, Ellagic acid, Quercetin, Rutin on streptozotocin-

- nicotinamide induced type 2 diabetic rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(2), 251–256.
- Jarald, E., Joshi, S. B., & Jain, D. C. (2008). Diabetes and herbal medicines. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 7(1), 97–106.
- 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. <https://doi.org/10.2337/db09-1342>
- Jong-Yuh, C., & Mei-Fen, S. (2005). Potential hypoglycemic effects of Chlorella in streptozotocin-induced diabetic mice. *Life Sciences*, 77(9), 980–990. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.12.036>
- Katsarou, A., Gudbjörnsdóttir, S., Rawshani, A., Dabelea, D., Bonifacio, E., Anderson, B. J., Jacobsen, L. M., Schatz, D. A., & Lernmark, A. (2017). Type 1 diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(17'016). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.16>
- Kooti, W., Farokhipour, M., Asadzadeh, Z., Ashtary-Larky, D., & Asadi-Samani, M. (2016). The role of medicinal plants in the treatment of diabetes: a systematic review. *Electronic Physician*, 8(1), 1832–1842. <https://doi.org/10.19082/1832>
- Krentz, A. J., & Bailey, C. J. (2005). Oral antidiabetic agents: Current role in type 2 diabetes mellitus. *Drugs*, 65(3), 385–411. <https://doi.org/10.2165/00003495-200565030-00005>
- Kufer, J., Heinrich, M., Förther, H., & Pöll, E. (2010). Historical and modern medicinal plant uses — the example of the Ch'orti' Maya and Ladinos in Eastern Guatemala. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(9), 1127–1152. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.9.0008>
- Lenzen, S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
- Li, F., Zhang, Y., & Zhong, Z. (2011). Antihyperglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on streptozotocin-induced diabetic mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 12(9), 6135–6145. <https://doi.org/10.3390/ijms12096135>
- Liu, M., Zhang, Y., Zhang, H., Hu, B., Wang, L., Qian, H., & Qi, X. (2016). The anti-diabetic activity of oat β -D-glucan in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic mice. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 1170–1176. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.06.083>

- M, K., & T, B. (2016). In-vivo Animal Models and In-vitro Techniques for Screening Antidiabetic Activity. *Journal of Developing Drugs*, 05(02). <https://doi.org/10.4172/2329-6631.1000153>
- Malviya, N., Jain, S., & Malviya, S. (2010). Antidiabetic potential of medicinal plants. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 67(2), 113–118.
- Marín-Peñalver, J. J., Martín-Timón, I., Sevillano-Collantes, C., & Cañizo-Gómez, F. J. del. (2016). Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World Journal of Diabetes*, 7(17), 354. <https://doi.org/10.4239/wjd.v7.i17.354>
- Marotti, M., Piccaglia, R., Biavati, B., & Marotti, I. (2004). Characterization and yield evaluation of essential oils from different tagetes Species. *Journal of Essential Oil Research*, 16(5), 440–444. <https://doi.org/10.1080/10412905.2004.9698767>
- Martinez, J. (2006). *Caracterización morfológica, ecológica, genética y química de 3 especies de Piper (Piper jacquemontianum, Piper donnell smithii y Piper oradendron) con fines de conservación y mejoramiento.*
- Martins, A. P., Salgueiro, L., Vila, R., Tomi, F., Cañigueral, S., Casanova, J., Proença Da Cunha, A., & Adzet, T. (1998). Essential oils from four Piper species. *Phytochemistry*, 49(7), 2019–2023. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(98\)00391-4](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(98)00391-4)
- Mgbeahuruike, E. E., Yrjönen, T., Vuorela, H., & Holm, Y. (2017). Bioactive compounds from medicinal plants: Focus on Piper species. *South African Journal of Botany*, 112, 54–69. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.05.007>
- Michel, J., Duarte, R. E., Bolton, J. L., Huang, Y., Caceres, A., Veliz, M., Soejarto, D. D., & Mahady, G. B. (2007). Medical potential of plants used by the Q'eqchi Maya of Livingston, Guatemala for the treatment of women's health complaints. *Journal of Ethnopharmacology*, 114(1), 92–101. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.07.033>
- Miller, E., & Shubrook, J. H. (2015). Sodium glucose co-transporter 2 inhibitors in the treatment of type 2 diabetes mellitus. *Osteopathic Family Physician*, 7(5), 10–30. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.116.021887>
- Morales, A. E., & Thrailkill, K. M. (2011). GAD-alum immunotherapy in Type 1 diabetes mellitus. *Immunotherapy*, 3(3), 323–332. <https://doi.org/10.2217/imt.11.9>
- Motyl, K., & McCabe, L. R. (2009). Streptozotocin, type i diabetes severity and bone. *Biological Procedures Online*, 11(1), 296–315. <https://doi.org/10.1007/s12575-009->

9000-5

- Muñoz Acevedo, A., Kouznetsov, V., & Stashenko, E. (2009). Composición y capacidad antioxidante in-vitro de aceites esenciales ricos en Timol, Carvacrol, trans-Anetol o Estragol. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 41(3), 287–294.
- Nahdi, A. M. T. A., John, A., & Raza, H. (2017). Elucidation of Molecular Mechanisms of Streptozotocin-Induced Oxidative Stress, Apoptosis, and Mitochondrial Dysfunction in Rin-5F Pancreatic β -Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/7054272>
- Nair, S., & Wilding, J. P. H. (2010). Sodium glucose cotransporter 2 inhibitors as a new treatment for diabetes mellitus. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 95(1), 34–42. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-0473>
- Nambam, B., Winter, W., & Schatz, D. (2018). Type 1 diabetes. In *Encyclopedia of Endocrine Diseases* (pp. 110–115). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.03820-4>
- Nerio, L. S., Olivero-Verbel, J., & Stashenko, E. E. (2009). Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 45(3), 212–214. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2009.01.002>
- Ojo, O., & Brooke, J. (2014). Evaluation of the role of enteral nutrition in managing patients with diabetes: A systematic review. *Nutrients*, 6(11), 5142–5152. <https://doi.org/10.3390/nu6115142>
- Olokoba, A. B., Obateru, O. A., & Olokoba, L. B. (2012). Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Medical Journal*, 27(4), 269–273. <https://doi.org/10.5001/omj.2012.68>
- OMS: Organización Mundial de la Salud. (2017). *Diabetes OMS*. WHO Media Centre. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- OPS: Organización Panamericana de la Salud. (2006). *Encuesta de diabetes, hipertensión y factores de riesgo de enfermedades crónicas*.
- Organization, P. A. H. (2011). *Population and individual approaches to the prevention and management of diabetes and obesity*.
- Orjala, J., Wright, A., Rali, T., & Sticher, O. (1993). Aduncamide, a cytotoxic and antibacterial

- β -phenylethylamine-derived amide from *Piper aduncum*. *Natural Product Letters*, 2(3), 231–236. <https://doi.org/10.1080/10575639308043814>
- Ozougwu, O. (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4), 46–57. <https://doi.org/10.5897/jpap2013.0001>
- Padgett, L. E., Broniowska, K. A., Hansen, P. A., Corbett, J. A., & Tse, H. M. (2013). The role of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines in type 1 diabetes pathogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1281(1), 16–35. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2012.06826.x>
- Parmar, V. S., Jain, S. C., Bisht, K. S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O. D., Prasad, A. K., Wengel, J., Olsen, C. E., & Boll, P. M. (1997). Phytochemistry of the genus *Piper*. *Phytochemistry*, 46(4), 597–673. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(97\)00328-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(97)00328-2)
- Patel, D. K., Kumar, R., Laloo, D., & Hemalatha, S. (2012). Diabetes mellitus: An overview on its pharmacological aspects and reported medicinal plants having antidiabetic activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(5), 411–420. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60067-7](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60067-7)
- Pérez-Ortega, G., González-Trujano, M. E., Ángeles-López, G. E., Brindis, F., Vibrans, H., & Reyes-Chilpa, R. (2016). *Tagetes lucida* Cav.: Ethnobotany, phytochemistry and pharmacology of its tranquilizing properties. *Journal of Ethnopharmacology*, 181, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.01.040>
- Prabhakar, P., & Doble, M. (2008). A Target Based Therapeutic Approach Towards Diabetes Mellitus Using Medicinal Plants. *Current Diabetes Reviews*, 4(4), 291–308. <https://doi.org/10.2174/157339908786241124>
- Radenković, M., Stojanović, M., & Prostran, M. (2016). Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 78, 13–31. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2015.11.004>
- Raju, S., & Raju, B. (2010). Illustrated Medical Biochemistry (2nd edn). In *Illustrated Medical Biochemistry (2nd edn)*. <https://doi.org/10.5005/jp/books/11067>
- Ramachandran, V., & Saravanan, R. (2013). Efficacy of asiatic acid, a pentacyclic triterpene on attenuating the key enzymes activities of carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine*, 20(3–4), 230–236. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.09.023>

- Raveendran, A. V., Chacko, E. C., & Pappachan, J. M. (2020). Non-pharmacological treatment options in the management of diabetes mellitus. *European Endocrinology*, 14(2), 31–39. <https://doi.org/10.17925/EE.2018.14.2.31>
- Ríos, J. L., Francini, F., & Schinella, G. R. (2015). Natural Products for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *Planta Medica*, 81(12–13), 975–994. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1546131>
- Rosengarten, F. (1982). A neglected mayan galactagogue - Ixbut (*Euphorbia lancifolia*). *Journal of Ethnopharmacology*, 5(1), 91–112. [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(82\)90024-1](https://doi.org/10.1016/0378-8741(82)90024-1)
- Rother, K. I. (2007). Diabetes Treatment — Bridging the Divide. *New England Journal of Medicine*, 356(15), 1499–1501. <https://doi.org/10.1056/nejmp078030>
- Rubino, F., Schauer, P. R., Kaplan, L. M., & Cummings, D. E. (2010). Metabolic surgery to treat type 2 diabetes: Clinical outcomes and mechanisms of action. *Annual Review of Medicine*, 61, 393–411. <https://doi.org/10.1146/annurev.med.051308.105148>
- Sakata, N., Yoshimatsu, G., Tsuchiya, H., Egawa, S., & Unno, M. (2012). Animal models of diabetes mellitus for islet transplantation. *Experimental Diabetes Research*, 2012, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2012/256707>
- Salehi, B., Ata, A., Kumar, N. V. A., Sharopov, F., Ramírez-Alarcón, K., Ruiz-Ortega, A., Ayatollahi, S. A., Fokou, P. V. T., Kobarfard, F., Zakaria, Z. A., Iriti, M., Taheri, Y., Martorell, M., Sureda, A., Setzer, W. N., Durazzo, A., Lucarini, M., Santini, A., Capasso, R., ... Sharifi-Rad, J. (2019). Antidiabetic potential of medicinal plants and their active components. *Biomolecules*, 9(10). <https://doi.org/10.3390/biom9100551>
- Salehi, B., Zakaria, Z. A., Gyawali, R., Ibrahim, S. A., Rajkovic, J., Shinwari, Z. K., Khan, T., Sharifi-Rad, J., Ozleyen, A., Turkdonmez, E., Valussi, M., Tumer, T. B., Fidalgo, L. M., Martorell, M., & Setzer, W. N. (2019). Piper species: A comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. *Molecules*, 24(7), 1364. <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>
- Samson, S. L., & Garber, A. J. (2018). Type 2 diabetes. In *Encyclopedia of Endocrine Diseases* (pp. 116–121). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.95795-7>
- Santhakumari, P., Prakasam, A., & Pugalendi, K. V. (2006). Antihyperglycemic activity of Piper betle leaf on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Medicinal Food*, 9(1), 108–112. <https://doi.org/10.1089/jmf.2006.9.108>

- Sen, P., Sahu, K., Prasad, P., Chandrakar, S., Sahu, R. K., & Roy, A. (2016). Approach to Phytochemistry and Mechanism of Action of Plants having Antidiabetic Activity. *UK Journal of Pharmaceutical Biosciences*, 4(1), 82. <https://doi.org/10.20510/ukjpb/4/i1/90385>
- Senthilkumar, G. P., & Subramanian, S. (2007). Evaluation of antioxidant potential of *Terminalia chebula* fruits studied in streptozotocin-induced diabetic rats. *Pharmaceutical Biology*, 45(6), 511–518. <https://doi.org/10.1080/13880200701446720>
- Sharma, B., Mittal, A., & Dabur, R. (2018). Mechanistic approach of anti-diabetic compounds identified from natural sources. *Chemical Biology Letters*, 5(2), 63–99.
- Shaw, J. E., Sicree, R. A., & Zimmet, P. Z. (2010). Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 87(1), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2009.10.007>
- Svetaz, L., Zuljan, F., Derita, M., Petenatti, E., Tamayo, G., Cáceres, A., Cechinel Filho, V., Giménez, A., Pinzón, R., Zacchino, S. A., & Gupta, M. (2010). Value of the ethnomedical information for the discovery of plants with antifungal properties. A survey among seven Latin American countries. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(1), 137–158. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2009.09.034>
- Upendra Rao, M., Sreenivasulu, M., Chengaiah, B., Jaganmohan Reddy, K., & Madhusudhana Chetty, C. (2010). Herbal medicines for diabetes mellitus: A review. *International Journal of PharmTech Research*, 2(3), 1883–1892.
- Vancampfort, D., Holt, R. I. G., Stubbs, B., De Hert, M., Samaras, K., & Mitchell, A. J. (2016). Type 2 Diabetes Mellitus. In *Life-Threatening Effects of Antipsychotic Drugs* (pp. 255–272). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803376-0.00012-5>
- Vargas, J. M., & Andrade-Cetto, A. (2018). Ethnopharmacological field study of three Q'Eqchi communities in Guatemala. *Frontiers in Pharmacology*, 9(1246). <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01246>
- Ventura-Martinez, R., Angeles-Lopez, G. E., Gonzalez-Trujano, M. E., Carrasco, O. F., & Deciga-Campos, M. (2020). Study of Antispasmodic and Antidiarrheal Activities of *Tagetes lucida* (Mexican Tarragon) in Experimental Models and Its Mechanism of Action. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/7140642>
- Villa-Silva, P. Y., Iliná, A., Ascacio-Valdés, J. A., Esparza-González, S. C., Cobos-Puc, L.

- E., Rodríguez-Herrera, R., & Silva-Belmares, S. Y. (2020). Phenolic compounds of *Tagetes lucida* Cav. With antibacterial effect due to membrane damage. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 19(6), 580–590. <https://doi.org/10.37360/blacpma.20.19.6.41>
- Vivian, E. (2015). Sodium-Glucose Cotransporter 2 Inhibitors in the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. *The Diabetes Educator*, 41, 5S-18S. <https://doi.org/10.1177/0145721715607643>
- Waring, W. S. (2016). Antidiabetic drugs. *Medicine (United Kingdom)*, 44(3), 138–140. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2015.12.011>
- Watal, G., Dhar, P., Srivastava, S. K., & Sharma, B. (2014). Herbal medicine as an alternative medicine for treating diabetes: The global burden. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014, 1–2. <https://doi.org/10.1155/2014/596071>
- Weir, G. C., & Bonner-Weir, S. (2004). Five of stages of evolving β -cell dysfunction during progression to diabetes. *Diabetes*, 53(SUPPL. 3). https://doi.org/10.2337/diabetes.53.suppl_3.S16
- World Health Organization. (2016). Global Report on Diabetes. *Isbn*. <https://doi.org/ISBN9789241565257>
- 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(2), 181–188. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S82272>
- Xin, G. L. L., Khee, Y. P., Ying, T. Y., Chellian, J., Gupta, G., Kunnath, A. P., Nammi, S., Collet, T., Hansbro, P. M., Dua, K., & Chellappan, D. K. (2019). Current Status on Immunological Therapies for Type 1 Diabetes Mellitus. *Current Diabetes Reports*, 19(5). <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1144-3>
- Zarate-Escobedo, J., Castañeda-González, E. L., Cuevas-Sánchez, J. A., Carrillo-Fonseca, C. L., Ortiz-Torres, C., Ibarra-Estrada, E., & Serrato-Cruz, M. A. (2018). Essential oil of some populations of *Tagetes lucida* Cav. From the Northern and Southern regions of the State of Mexico. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 41(2), 199–209. <https://doi.org/10.35196/rfm.2018.2.199-209>

13. ANEXOS

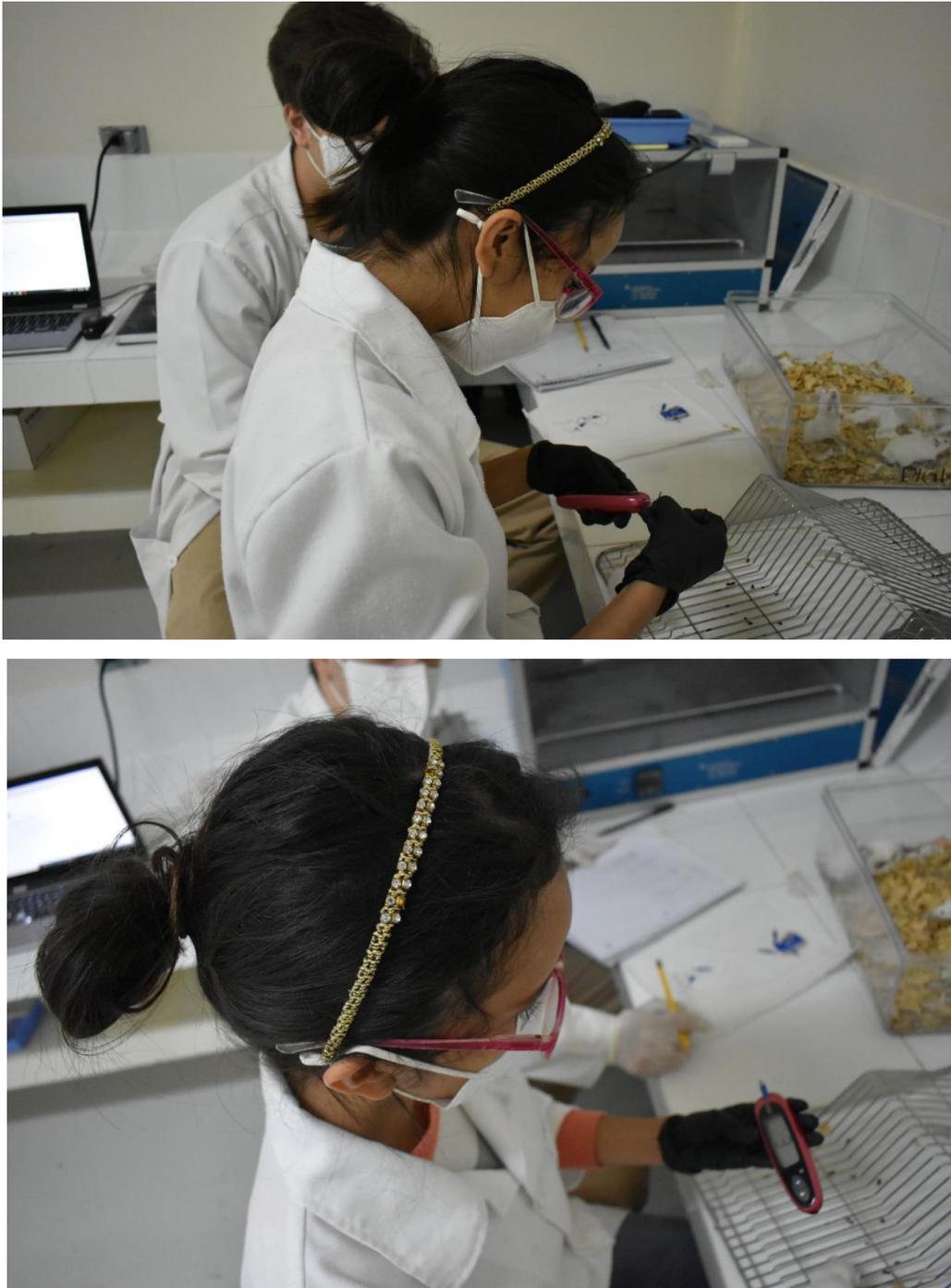


Imagen 1. Medición de glucosa en sangre con glucómetro a las 4 semanas de inducción.

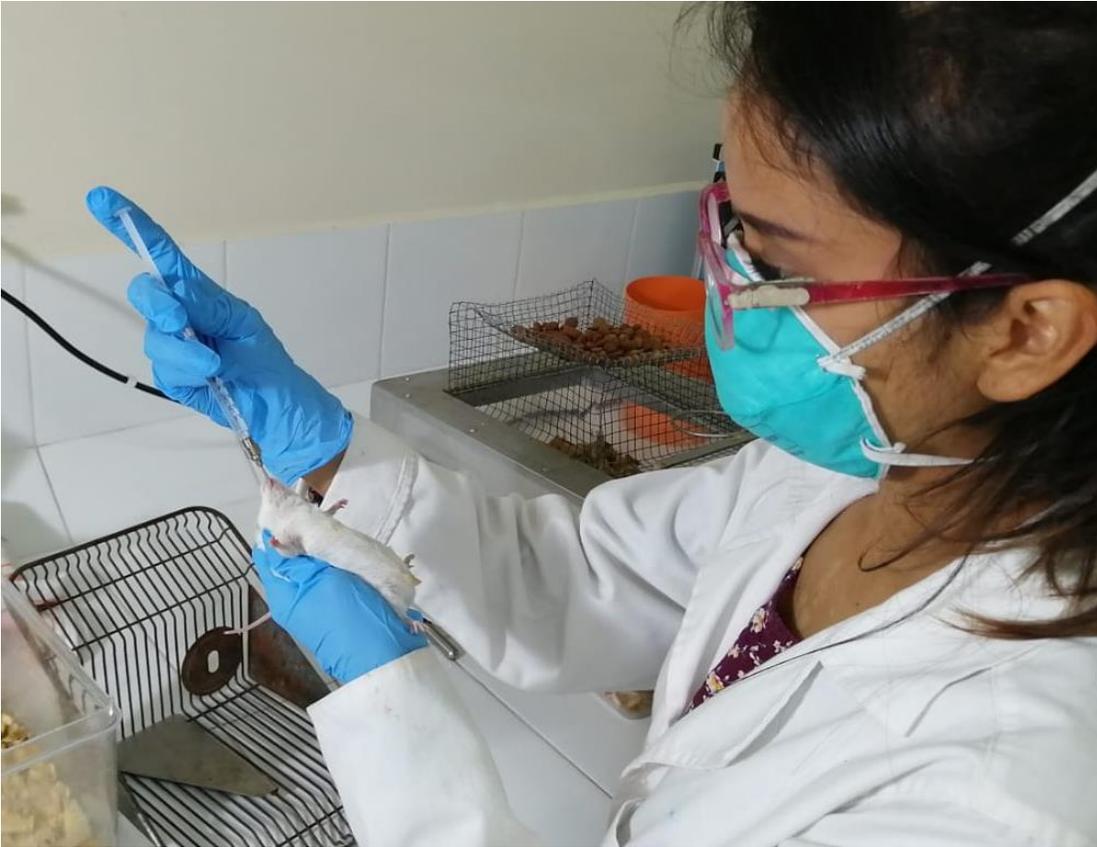


Imagen 2. Administración oral a ratones CD-1



Imagen 3. Preparación de extractos vegetales en fresco.

Tabla 1. Valores de peso corporal de ratones durante periodo de inducción por STZ (27 días)

| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
|--------------------|-----|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Normal | 1 | 34 | 31 | 34 | 40 | 38 | 32 | 36 | 39 |
| | 4 | 35 | 32 | 35 | 42 | 38 | 32 | 34 | 39 |
| | 9 | 37 | 33 | 38 | 45 | 40 | 34 | 36 | 39 |
| | 12 | 39 | 33 | 39 | 46 | 41 | 34 | 37 | 38 |
| | 16 | 40 | 34 | 40 | 46 | 42 | 35 | 38 | 38 |
| | 22 | 40 | 34 | 40 | 48 | 42 | 36 | 38 | 38 |
| | 24 | 40 | 35 | 41 | 50 | 42 | 36 | 38 | 39 |
| | 27 | 41 | 35 | 41 | 49 | 42 | 37 | 39 | 40 |

| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
|-----------------------------|-------------------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| STZ | 1 | 32 | 32 | 30 | 32 | 34 | 36 | 45 | 37 |
| | 4 | 32 | 33 | 31 | 33 | 35 | 37 | 46 | 39 |
| | 9 | 32 | 33 | 32 | 33 | 36 | 37 | 48 | 40 |
| | 12 | 33 | 34 | 33 | 33 | 37 | 39 | 47 | 40 |
| | 16 | 34 | 34 | 33 | 33 | 37 | 38 | 49 | 41 |
| | 22 | 33 | 34 | 32 | 33 | 39 | 40 | 49 | 40 |
| | 24 | 34 | 35 | 32 | 33 | 39 | 41 | 49 | 40 |
| | 27 | 36 | 36 | 35 | 34 | 40 | 41 | 48 | 40 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| Glibenclamida | 1 | 31 | 33 | 31 | 36 | 30 | 31 | 33 | 35 |
| | 4 | 34 | 34 | 33 | 37 | 33 | 33 | 34 | 36 |
| | 9 | 35 | 35 | 34 | 39 | 35 | 34 | 36 | 36 |
| | 12 | 35 | 35 | 35 | 39 | 35 | 35 | 36 | 38 |
| | 16 | 36 | 34 | 36 | 38 | 36 | 35 | 37 | 38 |
| | 22 | 34 | 33 | 36 | 38 | 37 | 37 | 38 | 38 |
| | 24 | 36 | 35 | 37 | 39 | 35 | 38 | 39 | 39 |
| | 27 | 38 | 36 | 39 | 39 | 37 | 38 | 39 | 38 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| Tagetes lucida 100 mg/kg | 1 | 35 | 31 | 37 | 32 | 34 | 38 | 31 | 35 |
| | 4 | 35 | 32 | 37 | 33 | 35 | 39 | 34 | 36 |
| | 9 | 35 | 33 | 39 | 34 | 36 | 40 | 34 | 38 |
| | 12 | 36 | 32 | 39 | 35 | 37 | 41 | 34 | 38 |
| | 16 | 35 | 31 | 36 | 35 | 37 | 41 | 36 | 39 |
| | 22 | 38 | 35 | 41 | 36 | 37 | 43 | 36 | 40 |
| | 24 | 38 | 35 | 41 | 35 | 38 | 43 | 37 | 39 |
| | 27 | 38 | 36 | 42 | 35 | 38 | 43 | 36 | 39 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| Tagetes lucida 50 mg/kg | 1 | 33 | 41 | 33 | 36 | 32 | 33 | 30 | 29 |
| | 4 | 34 | 41 | 34 | 36 | 33 | 33 | 33 | 29 |
| | 9 | 35 | 42 | 35 | 37 | 33 | 34 | 33 | 31 |
| | 12 | 35 | 43 | 36 | 38 | 35 | 36 | 33 | 31 |
| | 16 | 36 | 43 | 37 | 39 | 34 | 36 | 33 | 31 |
| | 22 | 36 | 43 | 37 | 39 | 33 | 37 | 38 | 33 |
| | 24 | 36 | 44 | 38 | 41 | 36 | 38 | 36 | 33 |
| | 27 | 36 | 43 | 38 | 39 | 37 | 38 | 36 | 34 |
| DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | | |

| GRUPO EXPERIMENTAL | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
|--------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|
| | 1 | 33 | 30 | 34 | 40 | 40 | 36 | 35 | 38 |
| | 4 | 32 | 31 | 35 | 40 | 39 | 34 | 35 | 37 |
| | 9 | 33 | 31 | 36 | 42 | 40 | 35 | 36 | 40 |
| Piper aequale | 12 | 33 | 33 | 35 | 42 | 40 | 36 | 37 | 39 |
| 100 mg/kg | 16 | 33 | 33 | 35 | 41 | 39 | 36 | 36 | 40 |
| | 22 | 33 | 33 | 36 | 41 | 40 | 36 | 38 | 39 |
| | 24 | 34 | 34 | 35 | 41 | 40 | 36 | 37 | 39 |
| | 27 | 33 | 33 | 35 | 41 | 39 | 36 | 38 | 40 |

| GRUPO EXPERIMENTAL | | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
|--------------------|----|-------------------|----|----|----|-----|----|-----|-----|
| DÍA | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| | 1 | 29 | 36 | 33 | 34 | 31. | 31 | 33 | 33. |
| | 4 | 30 | 35 | 33 | 34 | 31. | 31 | 33. | 33 |
| | 9 | 31 | 36 | 34 | 33 | 27 | 31 | 32 | 33. |
| Piper aequale | 12 | 31 | 36 | 33 | 35 | 29 | 33 | 33. | 35. |
| 50 mg/kg | 16 | 30 | 37 | 33 | 35 | 29. | 33 | 33 | 35 |
| | 22 | 32 | 38 | 34 | 36 | 31. | 34 | 34. | 38. |
| | 24 | 32 | 36 | 35 | 38 | 30 | 35 | 35. | 38. |
| | 27 | 31 | 36 | 35 | 37 | 25 | 35 | 33 | 35 |

Tabla 2. Valores de peso corporal de ratones durante el periodo de experimentación oral (10 semanas).

| GRUPO EXPERIMENTAL | SEMANA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
|-----------------------------|--------|-------------------|----|----|----|----|----|----|----|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Normal | 1 | 40 | 34 | 41 | 49 | 43 | 37 | 40 | 39 |
| | 2 | 40 | 34 | 41 | 50 | 41 | 37 | 39 | 41 |
| | 3 | 40 | 36 | 42 | 51 | 43 | 37 | 39 | 43 |
| | 4 | 42 | 36 | 43 | 52 | 42 | 37 | 38 | 42 |
| | 5 | 42 | 35 | 44 | 53 | 43 | 39 | 39 | 42 |
| | 6 | 41 | 35 | 44 | 52 | 44 | 40 | 39 | 42 |
| | 7 | 43 | 35 | 44 | 52 | 43 | 40 | 38 | 45 |
| | 8 | 42 | 36 | 45 | 53 | 44 | 40 | 39 | 47 |
| | 9 | 43 | 36 | 46 | 54 | 44 | 40 | 39 | 47 |
| | 10 | 43 | 37 | 48 | 53 | 45 | 42 | 40 | 48 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| STZ | 1 | 34 | 35 | 34 | 34 | 40 | 39 | 46 | 38 |
| | 2 | 34 | 35 | 35 | 33 | 40 | 39 | 45 | 39 |
| | 3 | 36 | 36 | 36 | 35 | 38 | 40 | 45 | 39 |
| | 4 | 35 | 34 | 35 | 34 | 40 | 40 | 47 | 40 |
| | 5 | 35 | 36 | 36 | 35 | 39 | 39 | 47 | 41 |
| | 6 | 36 | 37 | 38 | 36 | 40 | 39 | 48 | 41 |
| | 7 | 36 | 36 | 38 | 36 | 41 | 39 | 48 | 42 |
| | 8 | 36 | 37 | 37 | 37 | 41 | 40 | 49 | 43 |
| | 9 | 38 | 38 | 38 | 38 | 41 | 40 | 47 | 42 |
| | 10 | 38 | 38 | 39 | 38 | 42 | 41 | 48 | 43 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Glibenclamida | 1 | 36 | 34 | 37 | 38 | 34 | 36 | 37 | 37 |
| | 2 | 35 | 34 | 36 | 38 | 36 | 38 | 36 | 39 |
| | 3 | 36 | 35 | 37 | 39 | 36 | 39 | 37 | 38 |
| | 4 | 35 | 34 | 37 | 40 | 36 | 39 | 36 | 37 |
| | 5 | 35 | 33 | 37 | 40 | 37 | 39 | 37 | 37 |
| | 6 | 35 | 35 | 38 | 40 | 37 | 39 | 37 | 38 |
| | 7 | 36 | 36 | 37 | 40 | 40 | 41 | 38 | 39 |
| | 8 | 36 | 35 | 38 | 40 | 40 | 41 | 39 | 39 |
| | 9 | 36 | 36 | 39 | 42 | 39 | 40 | 39 | 39 |
| | 10 | 36 | 35 | 39 | 42 | 40 | 42 | 40 | 39 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Tagetes lucida 100 mg/kg | 1 | 36 | 32 | 38 | 34 | 37 | 38 | 37 | 38 |
| | 2 | 37 | 34 | 40 | 34 | 36 | 41 | 37 | 36 |
| | 3 | 39 | 33 | 40 | 34 | 37 | 42 | 38 | 38 |
| | 4 | 39 | 34 | 40 | 34 | 36 | 42 | 37 | 37 |

| | 5 | 38 | 35 | 38 | 35 | 36 | 42 | 38 | 39 |
|----------------------------|-----|-------------------|----|-----|----|-----|----|------|------|
| | 6 | 40 | 35 | 40 | 36 | 36 | 43 | 39 | 39 |
| | 7 | 41 | 33 | N.D | 36 | 38 | 45 | 39 | 41 |
| | 8 | 40 | 35 | N.D | 35 | 37 | 45 | 41 | 39 |
| | 9 | 39 | 34 | N.D | 35 | 38 | 44 | 38 | 41 |
| | 10 | 41 | 35 | N.D | 35 | 38 | 44 | 39 | 42 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Tagetes lucida 50 mg/kg | 1 | 35 | 41 | 37 | 39 | 35 | 37 | 36 | 33 |
| | 2 | 36 | 40 | 36 | 39 | 35 | 37 | 37 | 32 |
| | 3 | 33 | 40 | 37 | 39 | 36 | 38 | 39 | 32 |
| | 4 | 37 | 39 | 37 | 38 | 35 | 37 | 38 | 33 |
| | 5 | 35 | 40 | 37 | 40 | 35 | 39 | 39 | 33 |
| | 6 | 37 | 41 | 37 | 40 | 35 | 38 | 40 | 33 |
| | 7 | 38 | 42 | 37 | 40 | 36 | 39 | 40 | 33 |
| | 8 | 38 | 42 | 38 | 42 | 36 | 39 | 41 | 33 |
| | 9 | 39 | 43 | 38 | 39 | 36 | 41 | 40 | 33 |
| | 10 | 38 | 44 | 38 | 40 | 37 | 40 | 41 | 35 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Piper aequale 100 mg/kg | 1 | 32 | 39 | 33 | 38 | 33 | 40 | 34 | 37 |
| | 2 | 34 | 39 | 33 | 40 | 34 | 39 | 36 | 38 |
| | 3 | 34 | 38 | 32 | 40 | 36 | 39 | 37 | 37 |
| | 4 | 34 | 40 | 34 | 43 | 33 | 38 | 36 | 38 |
| | 5 | 34 | 40 | 31 | 42 | 34 | 40 | 37 | 37 |
| | 6 | 33 | 39 | 33 | 42 | 33 | 40 | 37 | 37 |
| | 7 | 34 | 40 | 32 | 42 | 34 | 40 | 36 | 36 |
| | 8 | 33 | 40 | 32 | 43 | 34 | 41 | 36 | 37 |
| | 9 | 35 | 41 | 33 | 45 | 35 | 40 | 40 | 40 |
| | 10 | 34 | 41 | 34 | 43 | 35 | 41 | 39 | 38 |
| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Piper aequale 50 mg/kg | 1 | 34 | 37 | 33 | 35 | 33 | 36 | 38 | 32 |
| | 2 | 35 | 34 | 37 | 36 | N.D | 36 | N.D. | N.D. |
| | 3 | 35 | 37 | 34 | 36 | N.D | 35 | N.D. | N.D. |
| | 4 | 37 | 38 | 36 | 37 | N.D | 39 | N.D. | N.D. |
| | 5 | 36 | 39 | 37 | 37 | N.D | 37 | N.D. | N.D. |
| | 6 | 38 | 39 | 38 | 39 | N.D | 37 | N.D. | N.D. |
| | 7 | 39 | 42 | 37 | 37 | N.D | 38 | N.D. | N.D. |
| | 8 | 37 | 39 | 36 | 39 | N.D | 38 | N.D. | N.D. |
| | 9 | 41 | 32 | 37 | 39 | N.D | 39 | N.D. | N.D. |
| | 10 | 41 | 33 | 39 | 38 | N.D | 39 | N.D. | N.D. |

N.D. = no determinado, en los días que se colocó N.D. es porque no se realizó medición de peso porque el ratón murió durante el experimento.

Tabla 3. Valores de glucosa en sangre en el periodo de administración oral (0, 30 y 60 días).

| GRUPO EXPERIMENTAL | DÍA | PESO DE RATÓN (g) | | | | | | | |
|-----------------------------|-----|-------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 |
| Normal | 0 | 168 | 106 | 152 | 180 | 122 | 160 | 112 | 205 |
| | 30 | 142 | 124 | 135 | 153 | 142 | 133 | 158 | 119 |
| | 60 | 153 | 120 | 164 | 166 | 131 | 137 | 129 | 161 |
| STZ | 0 | 252 | 180.5 | 442.5 | 509.5 | 485.5 | 182 | 192.5 | 442.5 |
| | 30 | 234 | 232 | 542 | 600 | 600 | 419 | 316 | 536 |
| | 60 | 305 | 397 | 600 | 600 | 600 | 600 | 581 | 600 |
| Glibenclamida | 0 | 211 | 300.5 | 403.5 | 413.5 | 536.5 | 137.5 | 180.5 | 178 |
| | 30 | 219 | 567 | 152 | 275 | 575 | 137 | 150 | 121 |
| | 60 | 394 | 600 | 143 | 172 | 600 | 210 | 142 | 113 |
| Tagetes lucida 100 mg/kg | 0 | 170.5 | 600 | 575.5 | 176 | 195 | 325 | 292.5 | 208 |
| | 30 | 222 | 600 | 600 | 318 | 136 | 281 | 277 | 158 |
| | 60 | 195 | 600 | N.D. | 455 | 116 | 190 | 600 | 139 |
| Tagetes lucida 50 mg/kg | 0 | 354.5 | 498.5 | 195.5 | 531.5 | 224.5 | 277 | 224 | 255.5 |
| | 30 | 510 | 600 | 193 | 600 | 149 | 224 | 167 | 179 |
| | 60 | 594 | 600 | 214 | 600 | 175 | 157 | 192 | 163 |
| Piper aequale 100 mg/kg | 0 | 461.5 | 206 | 575.5 | 485 | 424 | 571.5 | 472 | 484.5 |
| | 30 | 600 | 600 | 542 | 600 | 600 | 600 | 457 | 600 |
| | 60 | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 | 600 |
| Piper aequale 50 mg/kg | 0 | 410.5 | 224 | 534 | 581.5 | 510 | 455 | 530.5 | 490 |
| | 30 | 600 | 600 | 600 | 600 | N.D. | 200 | N.D. | N.D. |
| | 60 | 600 | 600 | 600 | 600 | N.D. | 433 | N.D. | N.D. |

N.D. = no determinado, en los días que se colocó N.D. es porque no se realizó medición de peso porque el ratón murió durante el experimento.

Tabla 4. Resultado de análisis estadístico del efecto de la glucosa sanguínea en la progresión diabética de 60 días en ratones macho inducidos con STZ para evaluar efecto de *Tagetes lucida*.

| Table Analyzed | DM. Glu ext columnas |
|---|-----------------------------|
| Column AA | 60 |
| vs. | vs. |
| Column F | 60 |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0349 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.356, df=13 |
| How big is the difference? | |
| Mean of column F | 535.4 |
| Mean of column AA | 327.9 |
| Difference between means (AA - F) ± SEM | -207.5 ± 88.10 |
| 95% confidence interval | -397.8 to -17.19 |
| R squared (eta squared) | 0.2991 |
| F test to compare variances | |
| F, DFn, Dfd | 3.450, 6, 7 |
| P value | 0.13 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| Data analyzed | |
| Sample size, column F | 8 |
| Sample size, column AA | 7 |

Tabla 5. Resultado de análisis estadístico del efecto de la glucosa sanguínea en la progresión diabética de 60 días en ratones macho inducidos con STZ para evaluar efecto de *Piper aequale*.

| Table Analyzed | DM. Glu ext columnas |
|-------------------------------------|-----------------------------|
| Column AG | 60 |
| vs. | vs. |
| Column F | 60 |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0129 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.848, df=14 |
| How big is the difference? | |

| | |
|---|--------------------|
| Mean of column F | 535.4 |
| Mean of column AG | 296.8 |
| Difference between means (AG - F) \pm SEM | -238.6 \pm 83.77 |
| 95% confidence interval | -418.3 to -58.95 |
| R squared (eta squared) | 0.3669 |
| F test to compare variances | |
| F, DF _n , D _{fd} | 3.129, 7, 7 |
| P value | 0.1554 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| Data analyzed | |
| Sample size, column F | 8 |
| Sample size, column AG | 8 |

Tabla 6. Resultado de análisis estadístico del efecto de la glucosa sanguínea en la progresión diabética de 60 días en ratones macho inducidos con STZ para evaluar efecto de *glibenclamida*

| Table Analyzed | DM. Glu ext columnas |
|---|-----------------------------|
| Column AG | 60 |
| vs. | vs. |
| Column F | 60 |
| Unpaired t test | |
| P value | 0.0129 |
| P value summary | * |
| Significantly different (P < 0.05)? | Yes |
| One- or two-tailed P value? | Two-tailed |
| t, df | t=2.848, df=14 |
| How big is the difference? | |
| Mean of column F | 535.4 |
| Mean of column AG | 296.8 |
| Difference between means (AG - F) \pm SEM | -238.6 \pm 83.77 |
| 95% confidence interval | -418.3 to -58.95 |
| R squared (eta squared) | 0.3669 |
| F test to compare variances | |
| F, DF _n , D _{fd} | 3.129, 7, 7 |
| P value | 0.1554 |
| P value summary | ns |
| Significantly different (P < 0.05)? | No |
| Data analyzed | |
| Sample size, column F | 8 |
| Sample size, column AG | 8 |

Tabla 7. Resultado de análisis estadístico de valores de peso corporal durante el periodo de inducción para evaluación de *T. lucida*

| Number of families | 8 | | | | |
|--|-------------------|---------------------------|---------------------|----------------|-------------------------|
| Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| Alpha | 0.05 | | | | |
| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95.00% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value |
| 1 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -0.25 | -6.048 to 5.548 | No | ns | 0.9998 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.25 | -3.099 to 7.599 | No | ns | 0.5796 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.625 | -4.845 to 6.095 | No | ns | 0.9918 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -4.543 to 7.293 | No | ns | 0.9152 |
| 4 | | | | | |
| STZ vs. Nor | 0.3214 | -5.812 to 6.455 | No | ns | 0.9997 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.5 | -3.960 to 6.960 | No | ns | 0.8256 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.625 | -4.927 to 6.177 | No | ns | 0.9916 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.625 | -4.287 to 7.537 | No | ns | 0.8569 |
| 9 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -1.375 | -7.941 to 5.191 | No | ns | 0.9363 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.875 | -5.190 to 6.940 | No | ns | 0.9758 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.25 | -5.942 to 6.442 | No | ns | 0.9998 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -5.024 to 7.774 | No | ns | 0.9283 |
| 12 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -1.375 | -7.616 to 4.866 | No | ns | 0.928 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1 | -4.470 to 6.470 | No | ns | 0.9478 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.5 | -5.217 to 6.217 | No | ns | 0.9971 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.125 | -4.860 to 7.110 | No | ns | 0.9559 |
| 16 | | | | | |
| 22 | | | | | |
| 24 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.25 | -9.366 to 4.866 | No | ns | 0.7962 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.625 | -5.604 to 6.854 | No | ns | 0.9937 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | -0.375 | -6.751 to 6.001 | No | ns | 0.9991 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 0.125 | -6.435 to 6.685 | No | ns | >0.9999 |
| 27 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -1.75 | -7.745 to 4.245 | No | ns | 0.8364 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.75 | -4.289 to 5.789 | No | ns | 0.9718 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.375 | -4.987 to 5.737 | No | ns | 0.9988 |

Tabla 8. Resultado de análisis estadístico de valores de peso corporal en el periodo de administración experimental para evaluación de *T. lucida*

| Dunnnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95.00% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value |
|---|------------|--------------------|--------------|---------|------------------|
| Number of families | 10 | | | | |
| Number of comparisons per family | 4 | | | | |
| Alpha | 0.05 | | | | |
| 1 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.875 | -8.801 to 3.051 | No | ns | 0.4993 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.375 | -3.305 to 6.055 | No | ns | 0.7966 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 1.25 | -3.555 to 6.055 | No | ns | 0.8667 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 0.875 | -4.023 to 5.773 | No | ns | 0.9604 |
| 2 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.875 | -8.813 to 3.063 | No | ns | 0.4998 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1 | -3.486 to 5.486 | No | ns | 0.9098 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.625 | -4.083 to 5.333 | No | ns | 0.9864 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1 | -3.678 to 5.678 | No | ns | 0.9296 |
| 3 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.25 | -8.897 to 2.397 | No | ns | 0.3521 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1 | -2.685 to 4.685 | No | ns | 0.845 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 1.125 | -3.085 to 5.335 | No | ns | 0.8697 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -2.896 to 5.646 | No | ns | 0.7895 |
| 4 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.375 | -9.946 to 3.196 | No | ns | 0.4515 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.375 | -3.704 to 6.454 | No | ns | 0.8442 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.75 | -4.555 to 6.055 | No | ns | 0.9828 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -3.692 to 6.442 | No | ns | 0.8416 |
| 5 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.625 | -10.13 to 2.883 | No | ns | 0.3811 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.625 | -3.036 to 6.286 | No | ns | 0.7207 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.875 | -3.831 to 5.581 | No | ns | 0.9542 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.25 | -3.573 to 6.073 | No | ns | 0.8762 |
| 6 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.75 | -8.924 to 3.424 | No | ns | 0.5647 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2 | -2.422 to 6.422 | No | ns | 0.5215 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.875 | -3.819 to 5.569 | No | ns | 0.9564 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.75 | -2.965 to 6.465 | No | ns | 0.6938 |
| 7 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3 | -9.426 to 3.426 | No | ns | 0.5292 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.125 | -3.555 to 5.805 | No | ns | 0.8912 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 0.5 | -5.258 to 6.258 | No | ns | 0.9974 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -3.574 to 6.324 | No | ns | 0.8517 |
| 8 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.25 | -9.956 to 3.456 | No | ns | 0.4991 |

| | | | | | |
|---|--------|-----------------|----|----|--------|
| STZ vs. Glibenclamida | 1.5 | -3.454 to 6.454 | No | ns | 0.7964 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 1.143 | -4.571 to 6.856 | No | ns | 0.9469 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.375 | -3.922 to 6.672 | No | ns | 0.8792 |
| 9 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.375 | -9.821 to 3.071 | No | ns | 0.4182 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.5 | -2.208 to 5.208 | No | ns | 0.6294 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 1.821 | -2.943 to 6.586 | No | ns | 0.6745 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.625 | -2.655 to 5.905 | No | ns | 0.6894 |
| 10 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.625 | -9.734 to 2.484 | No | ns | 0.3272 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.75 | -2.490 to 5.990 | No | ns | 0.6217 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 100 mg/Kg | 1.732 | -3.253 to 6.717 | No | ns | 0.7399 |
| STZ vs. <i>Tagetes lucida</i> 50 mg/Kg | 1.75 | -2.596 to 6.096 | No | ns | 0.6434 |

Tabla 9. Resultado de análisis estadístico de valores de peso corporal durante el periodo de inducción para evaluación de *P. aequale*

| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95.00% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value |
|--|------------|--------------------|--------------|---------|------------------|
| 1 | | | | | |
| STZ vs. Nor | 0.2 | -6.740 to 7.140 | No | ns | 0.9999 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.7 | -4.190 to 9.590 | No | ns | 0.5217 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | -0.55 | -7.476 to 6.376 | No | ns | 0.9965 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.6 | -4.422 to 9.622 | No | ns | 0.6068 |
| 4 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -0.6286 | -6.731 to 5.474 | No | ns | 0.9922 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.55 | -5.249 to 6.349 | No | ns | 0.9884 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | -0.575 | -6.414 to 5.264 | No | ns | 0.9927 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.2 | -3.614 to 8.014 | No | ns | 0.5832 |
| 9 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.35 | -8.318 to 3.618 | No | ns | 0.6028 |
| STZ vs. Glibenclamida | -0.1 | -5.775 to 5.575 | No | ns | >0.9999 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | -1.225 | -7.196 to 4.746 | No | ns | 0.9199 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.4 | -3.334 to 8.134 | No | ns | 0.5127 |
| 12 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.975 | -8.835 to 2.885 | No | ns | 0.4197 |
| STZ vs. Glibenclamida | -0.6 | -5.904 to 4.704 | No | ns | 0.9801 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | -1.475 | -6.963 to 4.013 | No | ns | 0.8234 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 1.8 | -3.563 to 7.163 | No | ns | 0.665 |
| 16 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.925 | -8.466 to 2.616 | No | ns | 0.3893 |
| STZ vs. Glibenclamida | -0.05 | -5.095 to 4.995 | No | ns | >0.9999 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | -0.425 | -5.614 to 4.764 | No | ns | 0.9966 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.6 | -2.851 to 8.051 | No | ns | 0.439 |
| 22 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.1 | -8.299 to 4.099 | No | ns | 0.7133 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.025 | -4.613 to 6.663 | No | ns | 0.9156 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.4 | -5.317 to 6.117 | No | ns | 0.9978 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.6 | -3.185 to 8.385 | No | ns | 0.4668 |
| 24 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.325 | -8.886 to 4.236 | No | ns | 0.6878 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.55 | -5.316 to 6.416 | No | ns | 0.9897 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.8 | -5.051 to 6.651 | No | ns | 0.9726 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.6 | -3.332 to 8.532 | No | ns | 0.4775 |
| 27 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.5 | -10.24 to 3.240 | No | ns | 0.3902 |
| STZ vs. Glibenclamida | -1 | -7.611 to 5.611 | No | ns | 0.9344 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.125 | -6.328 to 6.578 | No | ns | >0.9999 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.2 | -4.306 to 8.706 | No | ns | 0.6562 |

Tabla 10. Resultados de análisis estadísticos de valores de peso corporal en el periodo de administración experimental para evaluación de *P. aequale*

| Dunnett's multiple comparisons test | Mean Diff. | 95.00% CI of diff. | Significant? | Summary | Adjusted P Value |
|--|------------|--------------------|--------------|---------|------------------|
| 1 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.925 | -9.721 to 1.871 | No | ns | 0.2166 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.075 | -4.960 to 5.110 | No | ns | >0.9999 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.45 | -4.753 to 5.653 | No | ns | 0.9959 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 1.2 | -3.837 to 6.237 | No | ns | 0.8347 |
| 2 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.35 | -9.959 to 3.259 | No | ns | 0.4176 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.9 | -5.225 to 7.025 | No | ns | 0.9503 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.775 | -5.303 to 6.853 | No | ns | 0.9776 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 1.8 | -4.376 to 7.976 | No | ns | 0.6921 |
| 3 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.775 | -9.470 to 1.920 | No | ns | 0.2321 |
| STZ vs. Glibenclamida | 0.475 | -3.715 to 4.665 | No | ns | 0.9819 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 0.975 | -3.387 to 5.337 | No | ns | 0.8932 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.2 | -2.013 to 6.413 | No | ns | 0.3265 |
| 4 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.5 | -9.703 to 2.703 | No | ns | 0.3462 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.25 | -3.429 to 5.929 | No | ns | 0.7918 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 1 | -4.098 to 6.098 | No | ns | 0.9328 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 0.6 | -4.120 to 5.320 | No | ns | 0.9703 |
| 5 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.6 | -8.658 to 3.458 | No | ns | 0.558 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.525 | -2.375 to 7.425 | No | ns | 0.3603 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 2.525 | -2.882 to 7.932 | No | ns | 0.4838 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.2 | -2.749 to 7.149 | No | ns | 0.4214 |
| 6 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.35 | -8.753 to 4.053 | No | ns | 0.6707 |
| STZ vs. Glibenclamida | 3.025 | -1.596 to 7.646 | No | ns | 0.1995 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 3.65 | -1.447 to 8.747 | No | ns | 0.1808 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 2.2 | -2.512 to 6.912 | No | ns | 0.3743 |
| 7 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -1.85 | -7.622 to 3.922 | No | ns | 0.7515 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.025 | -1.714 to 5.764 | No | ns | 0.3404 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 3.65 | -0.9023 to 8.202 | No | ns | 0.1261 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 1.8 | -2.340 to 5.940 | No | ns | 0.5114 |
| 8 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -2.2 | -8.123 to 3.723 | No | ns | 0.6627 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.3 | -2.029 to 6.629 | No | ns | 0.3466 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 3.8 | -1.419 to 9.019 | No | ns | 0.1749 |

| | | | | | |
|--|--------|-----------------|----|----|--------|
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 3 | -1.335 to 7.335 | No | ns | 0.17 |
| 9 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.025 | -9.876 to 3.826 | No | ns | 0.5367 |
| STZ vs. Glibenclamida | 1.85 | -3.298 to 6.998 | No | ns | 0.6037 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 1.975 | -3.741 to 7.691 | No | ns | 0.7021 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 3 | -3.272 to 9.272 | No | ns | 0.4401 |
| 10 | | | | | |
| STZ vs. Nor | -3.1 | -9.206 to 3.006 | No | ns | 0.4267 |
| STZ vs. Glibenclamida | 2.275 | -2.184 to 6.734 | No | ns | 0.3948 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 100 mg/Kg | 3.275 | -1.622 to 8.172 | No | ns | 0.2231 |
| STZ vs. <i>Piper aequale</i> 50 mg/Kg | 3.4 | -1.994 to 8.794 | No | ns | 0.2438 |



Caroline Stephania Aldana Jiménez

Tesista



Dr. Rodrigo Castañeda, PhD

Asesor



Licda. Gloria Elizabeth Navas Escobedo

Revisora



M.A. Lucrecia Martínez de Haase

Directora de la Escuela de Química Farmacéutica



M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

Decano de Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia