



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

“EFECTOS CARDIOVASCULARES DE *Azaridachta indica* EN RATAS WISTAR DIABETICAS”

TESIS QUE PRESENTA

FRANCISCO DANIEL NARANJO ORTIZ

PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

DIRECTORES DE TESIS:

D.C. IGNACIO VALENCIA HERNÁNDEZ

M.C. BLANCA NATERAS MARÍN

MORELIA, MICHOACÁN, MAYO DEL 2012

INDICE GENERAL

I.- INTRODUCCIÓN	5
II.- FUNDAMENTO TEÓRICO	6
2.- DIABETES MELLITUS	6
2.1.- DEFINICIÓN.....	6
2.2.- CLASIFICACIÓN	6
2.3.- DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL	8
2.4.- PERSPECTIVA ACTUAL	9
2.5.- TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO	9
2.6.- MEDICINA TRADICIONAL.....	11
2.6.1.- NEEM.....	12
2.7.- COMPLICACIONES:	13
2.7.1.- HIPERTENSIÓN ARTERIAL:.....	14
2.7.1.1.- FUNDAMENTO DE LA HIPERTENSIÓN.	15
2.7.1.1.1.- SISTEMA CARDIOVASCULAR:	15
2.7.1.1.2.- CONTROL SIMPÁTICO Y PARASIMPÁTICO DE LA PRESIÓN	
ARTERIAL	22
2.7.1.2.- PREVALENCIA.....	28
2.7.1.3.- TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LOS PACIENTES DIABÉTICOS CON	
HIPERTENSIÓN:.....	29
III.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL	32
3.1.- ANTECEDENTES	32
3.1.1.- Actividad de los diferentes tipos de extractos del Neem:	32
3.1.2.- Actividad Antihiper glucémica:	32
3.1.3.- Efecto Hipoglucemiante y Influencia sobre el Peso Corporal	33
3.1.4.- Efectos Cardiovasculares.....	34
3.2.- JUSTIFICACIÓN.....	36

3.3.- HIPOTESIS	36
3.4.- OBJETIVOS	37
3.4.1.- GENERAL.....	37
3.4.2.- PARTICULARES.....	37
IV.- METODOLOGIA	37
4.1.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHOLICO	37
4.2.- ANIMALES.....	37
4.3.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL	38
4.4.- INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS	38
4.5.- MEDICIÓN DE LA GLICEMIA.-	38
4.6.- DETERMINACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.	38
4.7.- CAMBIOS EN LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDOS POR LA FENILEFRINA, LA ACH Y EL NITROPRUSIATO DE SODIO.	39
V.- RESULTADOS.....	40
5.1.- EFICACIA DE LA INDUCCIÓN DE LA <i>DIABETES MELLITUS</i> EXPERIMENTAL.	40
5.2.- EL EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL PESO	41
5.3.- EFECTO DEL EXTRACTO DE NEEM O LA GLIBENCLAMIDA SOBRE LA HIPERGLICEMIA INDUCIDA POR LA ESTREPTOZOTOCINA.	42
5.4.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.	43
5.5.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL INCREMENTO DE LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.	44
5.6.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA REACTIVIDAD A LA FENILEFRINA.....	45
5.7.- EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE LA DISMINUCIÓN EN LA REACTIVIDAD A LA FENILEFRINA INDUCIDA POR LA DIABETES MELLITUS.	46
5.8.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LOS CAMBIOS EN LA REACTIVIDAD VASCULAR INDUCIDOS POR LA ACETILCOLINA.	47
5.9.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LA ACETILCOLINA INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS.	49
5.10.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE EL EFECTO HIPOTENSOR INDUCIDO POR EL NITROPRUSIATO DE SODIO.	50

5.11.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL NITROPRUSIATO DE SODIO INDUCIDA POR LA DIABETES MELLITUS.....	51
VI.- DISCUSIÓN	52
6.1.- EFICACIA DE LA INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS:	52
6.2.- EL EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL PESO CORPORAL DE LAS RATAS.....	52
6.3.- EFECTO DEL EXTRACTO DE NEEM O LA GLIBENCLAMIDA SOBRE LA HIPERGLICEMIA INDUCIDA POR LA ESTREPTOZOTOCINA.	52
6.4.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.....	53
6.5.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL INCREMENTO DE LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.....	53
6.6.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA REACTIVIDAD A LOS DIFERENTES FÁRMACOS USADOS.	54
6.7.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LOS DIFERENTES FÁRMACOS INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS.	55
VII.- PERSPECTIVAS DEL TRABAJO.-	56
VIII.- BIBLIOGRAFIA.....	57

I.- INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas que actualmente enfrenta la población mundial son las enfermedades cardiovasculares (Stamler et al., 1993; Srinath et al., 1998; Gaziano, 2005).

Además, es importante mencionar que existen estudios epidemiológicos (Baynes, 1991; Harris et al., 1998) y clínicos (Rubin et al., 1994) donde se ha demostrado que la diabetes puede ser un factor condicionante para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Aquí cabe mencionar que la diabetes representa un síndrome caracterizado por incrementos en los niveles de glucosa sanguínea, debido a una deficiencia absoluta en la secreción de insulina o por una reducción en la eficacia de la misma. De tal forma que desde hace varias décadas se han desarrollado varios medicamentos para el control de la glucemia (Oliveira et al., 1998; Moller, 2001).

En este sentido, la hiperglicemia puede ser tratada inicialmente con fármacos hipoglucemiantes como son metformina (Knowler et al., 2002) y glibenclamida (O'Sullivan&Cashman, 1970) entre otros (Zarate y Tene, 1999). Sin embargo, algunos de estos medicamentos tienden a producir algunos efectos adversos como por ejemplo: alteraciones hematológicas, disfunción hepática, trastornos gastrointestinales, aterosclerosis, disfunción tiroidea, hiponatremia, etc. (Wongpaitoon et al., 1981; Salper et al., 2003) y además son relativamente costosos para países en vías de desarrollo. Por lo tanto, se requiere de alternativas farmacológicas económicas y menos tóxicas que ayuden al tratamiento de la diabetes. En este contexto, desde hace varias décadas se ha usado la medicina tradicional como una alternativa, que involucra el manejo de plantas con finalidades terapéuticas en los países que se encuentran en vías de desarrollo (Mahair&Gulliford, 1997; Funke et al., 2006).

Se ha considerado que los fitofármacos derivados de las plantas poseen menor toxicidad que algunos fármacos sintéticos (Rates, 2001). En este sentido, existen reportes sobre el manejo de la medicina tradicional para el control de la diabetes (Pérez et al., 1998; Andrade & Wiedenfield, 2001).

La diabetes constituye un serio problema de salud pública por ser una enfermedad de características complejas que finalmente compromete la calidad de vida de quien la padece. Las plantas medicinales se convierten en una alternativa válida en el arsenal terapéutico para aliviar los síntomas de este mal, teniendo como meta que estos mejoren si hay un control permanente de la glicemia.

Muchos fármacos usados hoy en día en la medicina convencional son de origen natural. Sin embargo, hay relativamente poco conocimiento acerca de la eficacia y seguridad de las plantas para el tratamiento de la diabetes. (Gloria Y. Yeh et. al. 2003).

Por lo anteriormente expuesto y para contar con un marco teórico para realizar una discusión adecuada de los resultados obtenidos, a continuación se abordarán en las siguientes secciones un panorama del sistema cardiovascular, la presión arterial y su regulación, la enfermedad diabetes mellitus y su tratamiento farmacológico y no farmacológico, las alteraciones cardiovasculares en la

diabetes y la posición del uso de las hojas de Neem en el tratamiento de la diabetes y su impacto sobre las alteraciones cardiovasculares.

II.- FUNDAMENTO TEÓRICO

2.- DIABETES MELLITUS

2.1.- DEFINICIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad crónica altamente prevalente y con múltiples implicaciones, factores de riesgo y complicaciones, que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce.

La insulina es una hormona que regula la glucosa en la sangre. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (aumento de glucosa en sangre), manifestación debida a que las células no absorben ni utilizan la glucosa de modo eficiente, por una inadecuada secreción de insulina por las células β del páncreas o la resistencia de las células a la acción de esta hormona en los diversos tejidos del organismo. Los síntomas de la hiperglucemia incluyen poliuria, polidipsia, pérdida de peso, a veces polifagia, visión borrosa, y la susceptibilidad a ciertas infecciones (ADA, 2011) que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos. (OMS, 2011).

2.2.- CLASIFICACIÓN

Actualmente existen dos clasificaciones principales. La primera, correspondiente a la OMS, en la que sólo reconoce tres tipos de diabetes: tipo 1, tipo 2 y gestacional y la segunda, propuesta por la Asociación Americana de Diabetes (ADA) en 1997. Según el Comité de expertos de la ADA, los diferentes tipos de DM se clasifican en 4 grupos: tipo 1, tipo 2, gestacional y otros tipos (3A, 3B, 3C, 3D, 3E)

Diabetes de tipo 1 (DM1)

La diabetes de tipo 1, también llamada insulino dependiente, juvenil o de inicio en la infancia. Es la resultante de la destrucción autoinmune de las células β pancreáticas; las principales funciones de las células β son la producción, el almacenamiento y la secreción regulada de insulina, por lo cual para controlar este tipo de DM se requiere la administración diaria de esta hormona. La forma de DM autoinmune representa el 5% al 10% de los casos diabéticos. La velocidad de destrucción de las células beta pancreáticas es variable, al igual que los periodos de hiperglucemia, los cuales en presencia de causas desencadenantes son capaces de cambiar rápidamente a hiperglucemia grave o a cetoacidosis. La destrucción autoinmune de las células beta tiene múltiples factores de predisposición genética y también se relaciona con factores ambientales poco definidos. Algunos

pacientes presentan DM1 idiopática y cursan su enfermedad con insulinopenia y propensión a la cetoacidosis.

Sus síntomas consisten, entre otros, en excreción excesiva de orina (poliuria), sed (polidipsia), hambre constante (polifagia), pérdida de peso, trastornos visuales y cansancio. Estos síntomas pueden aparecer de forma súbita.

Diabetes de tipo 2 (DM2)

La diabetes de tipo 2, también llamada no insulinodependiente o de inicio en la edad adulta. Sus causas son desde la resistencia a la insulina predominante con deficiencia relativa hasta un defecto secretor de la insulina con resistencia. Esta forma de DM representa el 90% al 95% de la población diabética y abarca a los sujetos que presentan resistencia a la insulina acompañada por deficiencia relativa. Los pacientes no requieren de insulina en las primeras etapas de la enfermedad y no se observan lesiones autoinmunes en el páncreas. La mayoría de los casos presentan disposición adiposa central u obesidad, y la obesidad en sí misma provoca cierto grado de resistencia a la insulina. La cetoacidosis raramente aparece de forma espontánea; su presencia se asocia con el estrés o con otra enfermedad. Debido a que esta forma de DM cursa sin diagnóstico por varios años, los individuos están en riesgo de presentar complicaciones tanto macrovasculares como microvasculares. La secreción de insulina es defectuosa y no alcanza a compensar la resistencia a la insulina. El riesgo de presentar este tipo de DM aumenta con el envejecimiento, la obesidad y el sedentarismo. Comúnmente se asocia con una predisposición genética fuerte, aunque esto último no está del todo definido.

Los síntomas pueden ser similares a los de la DM1, pero a menudo menos intensos. En consecuencia, la enfermedad puede diagnosticarse sólo cuando ya tiene varios años de evolución y han aparecido complicaciones. Además, hasta hace poco, este tipo de diabetes sólo se observaba en adultos, pero en la actualidad también se está manifestando en niños.

Diabetes Gestacional (DMG)

Se define como cualquier grado de intolerancia a la glucosa con inicio o primer reconocimiento durante el embarazo. El deterioro de la tolerancia a la glucosa se produce normalmente durante el embarazo, especialmente en el tercer trimestre, la hiperglucemia aumenta el riesgo de resultados perinatales adversos. La DMG representa casi el 90% de los embarazos complicados por la diabetes, con incremento de trastornos en la madre (hipertensión, infecciones vaginales y en vías urinarias, parto prematuro y cesárea) y daños graves al bebé (muerte fetal o macrosomía, lo que puede generarle lesiones al momento de pasar por el canal del parto).

Sus síntomas son similares a los de la DM2, pero suele diagnosticarse mediante las pruebas prenatales, ya que el paciente no refiere los síntomas.

2.3.- DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.

El estudio de los diversos tipos de diabetes, ha servido para crear modelos de DM experimental que permiten realizar trabajos de investigación cuyos resultados conducen al desarrollo de técnicas para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de las complicaciones del síndrome, las cuales ayudan a comprender la interacción de los factores hereditarios y ambientales que desencadenan esta enfermedad para lograr un control más oportuno (Juárez, 2008).

La inducción de la Diabetes Mellitus Experimental se ha logrado por medio de diversas técnicas entre las que destacan: pancreatectomía parcial y total, administración de hormonas e inducción química.

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción del estado diabético. Existen varias clases de agentes químicos. Los primeros son sustancias con citotoxicidad específica que destruyen a las células β del páncreas y causan un estado de deficiencia primaria de insulina. El segundo grupo lo constituyen agentes que actúan sobre las células β pero no las destruyen. Una tercera clase incrementa los requerimientos endógenos de insulina, debilitan el páncreas y como consecuencias se produce la Diabetes Mellitus Experimental (ReesanAlcolado, 2005).

Los agentes más utilizados son el aloxano y la estreptozotocina (STZ). Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células β . La estreptozotocina es una sustancia relativamente selectiva para las células beta que en ciertas especies causa diabetes permanente. Estructuralmente es análoga de la glucosa, cualidad que le ayuda a que el transportador de glucosa GLUT2 le permite el paso a la célula β de los islotes pancreáticos. Después de su absorción en las células β , la STZ se divide en glucosa y una fracción metilnitrosourea. La molécula metilnitrosourea tiene propiedades alquilantes, éste modifica macromoléculas biológicas, los fragmentos del ácido desoxirribonucleico (ADN) y destruye las células beta, causando un tipo de DM insulino-dependiente.

Se han desarrollado 2 modelos de diabetes mellitus experimental por estreptozotocina en ratas:

- Diabetes tipo 1: se origina por administración de estreptozotocina (60 mg/kg) a ratas adultas. Entre el segundo y tercer día de la administración, el animal presenta glucemias que oscilan entre 300 y 400 mg/dL. (González, 2002).
- Diabetes tipo 2: se provoca por administración neonatal de estreptozotocina (100 mg/kg) a las 48 h de vida. El páncreas de estos neonatos sufre una destrucción y regeneración parcial, de lo cual resulta un animal adulto con hiperglucemias moderadas, que oscilan en 150-180 mg/dL en ayunas y ascienden hasta los 300 mg/dL en los 60 min posteriores a una sobrecarga de glucosa de 1,5 g/Kg. Estas ratas son apareadas con machos sanos y sus ciclos son regulares durante períodos mayores. Son animales no insulino-dependientes.

2.4.- PERSPECTIVA ACTUAL

Alrededor del 8.2% de la población entre 20 y 69 años padece diabetes y, cerca del 30% de los individuos afectados, desconoce que la tiene. Esto significa que en nuestro país existen más de cuatro millones de personas enfermas, de las cuales poco más de un millón no han sido diagnosticadas. Una proporción importante de personas la desarrolla antes de los 45 años de edad, situación que debe ser evitada. Por otra parte, la mortalidad por esta causa muestra un incremento sostenido durante las últimas décadas, hasta llegar a ocupar el tercer lugar dentro de la mortalidad general.

En México se estima que 3.5 millones de personas sufren de DM (10% población adulta), cifra que se ha duplicado en las últimas dos décadas y continuará con esta tendencia de incremento por el envejecimiento de la población, la creciente prevalencia de obesidad, sedentarismo y cambios en la dieta (SSA, 2008). En el 2010, se estimó que alrededor de 220 millones de personas eran diabéticos en el mundo y que llegarán a 370 millones en 2030 (OMS, 2010).

Desde el punto de vista epidemiológico su frecuencia, prevalencia y mortalidad señalan con claridad que se trata de un problema de salud pública de primera magnitud en México. Tan sólo en 2010, el número preliminar de defunciones por DM fue del 14.7% del total de muertes del país, ocupando con ello el primer lugar como causa de muerte (SSA, 2011).

La diabetes es la causa más importante para la amputación de miembros inferiores, de origen no traumático, así como de otras complicaciones como retinopatía e insuficiencia renal. Es también uno de los factores de riesgo más importantes por lo que se refiere a las enfermedades cardiovasculares.

2.5.- TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO

TRATAMIENTO CON INSULINA.-

La insulina es la piedra angular de la terapéutica de la mayoría de los enfermos con diabetes tipo 1, y de muchos con diabetes tipo 2. Cuando se requiere, la insulina puede administrarse por vía intravenosa o intramuscular; de cualquier modo, el tratamiento a largo plazo se fundamenta de modo predominante en la inyección de la hormona por vía subcutánea. La administración de insulina por vía subcutánea difiere de su secreción fisiológica, al menos en dos aspectos principales: la cinética no reproduce el aumento y declinación rápidos normales de la secreción de insulina en respuesta a la ingestión de nutrimentos, y la insulina se difunde hacia la circulación periférica en lugar de liberarse hacia la circulación portal; de este modo, se elimina el efecto directo de la insulina secretoria sobre los procesos metabólicos hepáticos. Sin embargo, cuando

ese tipo de terapéutica se lleva a cabo con sumo cuidado, se logran resultados satisfactorios considerables.

Las preparaciones de insulina se clasifican de acuerdo con la duración de su acción: corta, intermedia y prolongada, y según la especie de origen: humana o porcina. La insulina humana (Humulin, Novolin) se encuentra ampliamente disponible como resultado de su producción por medio de técnicas de DNA recombinante. La insulina porcina difiere de la humana por un aminoácido (alanina en lugar de treonina en el carboxilo terminal de la cade B, esto es, en la posición B30).

HIPOGLUCEMIANTES ORALES.-

-SULFONILUREAS:

Las sulfonilureas se dividen tradicionalmente en dos grupos o generaciones de fármacos. El primer grupo de las sulfonilureas incluye la tolbutamida, acetohexamida, tolazamida y clorpropamida. Ha surgido una segunda gneración más potente de sulfonilureas hipoglucemiantes que incluyen gliburida (glibenclamida), glipizida, gliclazida y glimepirida.

Las sulfonilureas causan hipoglucemia al estimular la liberación de insulina a partir de las células β pancreáticas. No obstante, sus acciones en el tratamiento de la diabetes son más complejas. La administración aguda de sulfonilureas a pacientes con diabetes tipo 2 aumenta la liberación de insulina desde el páncreas. Las sulfonilureas también pueden incrementar las cifras de insulina al reducir la depuración de la hormona en el hígado.

La ausencia de los efectos estimulantes inmediatos de las sulfonilureas en la secreción de insulina durante su administración por largo tiempo, se ha atribuido a la disminución del número de receptores superficiales celulares, para las sulfonilureas, en las células β pancreáticas. Si se interrumpe el empleo de las sulfonilureas durante largo tiempo, reaparece la respuesta de células β pancreáticas a la administración inmediata del fármaco. Las sulfonilureas también estimulan la liberación de somatostatina y pueden suprimir levemente la secreción de glucagon.

-REPAGLINIDA:

La replaglinida es un secretagogo de insulina, que se administra por vía oral, de la clase de meglitinida. Este medicamento es un derivado del ácido benzoico. La repaglinida estimula la liberación de la insulina al cerrar canales de potasio dependientes de ATP en las células β pancreáticas.

-NATEGLINIDA:

La nateglinida es un secretagogo de la insulina, eficaz por vía oral, derivado de la D-fenilalanina. Estimula la secreción de insulina al bloquear canales de potasio sensibles a ATP en células pancreáticas.

-BIGUANIDAS:

Metformina, fenformina y buformina. La metformina es un antihiper glucemiante, no un hipoglucemiante; no causa liberación de insulina a partir del páncreas, ni produce hipoglucemia, incluso a dosis grandes. La metformina disminuye las concentraciones de glucosa de manera primaria al aminorar la producción hepática de glucosa y aumentar la acción de la insulina en el músculo y la grasa. La metformina también puede disminuir la glucosa plasmática al reducir la absorción de la glucosa desde el intestino, pero no se ha demostrado que este efecto tenga importancia clínica.

-INHIBIDORES DE LA GLUCOSIDASA α

Reduce la absorción intestinal de almidón, dextrina y disacáridos al inhibir la acción de la glucosidasa α del borde en cepillo intestinal. La inhibición de esta enzima lentifica la absorción de carbohidratos; el aumento posprandial de la glucosa plasmática disminuye en sujetos tanto normales como diabéticos. Los inhibidores de glucosidasa α no estimulan la liberación de insulina y, en consecuencia, no originan hipoglucemia. Cabe pensar en ellos como fármacos únicos en ancianos o en pacientes que de manera predominante presentan hiperglucemia posprandial.

2.6.- MEDICINA TRADICIONAL

Las plantas medicinales han constituido la base de la salud atención en todo el mundo desde los primeros días de la humanidad y siguen siendo ampliamente utilizados y se han considera de gran importancia en el comercio internacional (Ahmad, I., F. Agil and M. Owais, 2006). La Organización Mundial de la Salud (OMS), en una de sus cartas en Ginebra, recomienda una mayor investigación en esta área, especialmente en lo que respecta a enfermedades crónico degenerativas como la diabetes mellitus (OMS, 1980).

En el sistema moderno, la medicina alopática es muy aceptada en el tratamiento de la diabetes a lo largo del mundo, pero no ha sido capaz de llegar a las áreas remotas, por diversas razones. En estos días se presta gran atención de la diabetes con plantas medicinales. Además la toxicidad y efectos secundarios del sistema moderno de la medicina han resaltado la importancia de la relevancia de la medicina tradicional (Anita Kochhar, et al).

Desde una perspectiva etnofarmacológica, es importante entender que esta enfermedad es una en la interfaz de los tratamientos convencionales biomédicos y locales (o tradicionales). En México, los datos disponibles son limitados, pero sobre la base de nuestro campo los pacientes diabéticos casi siempre usan las plantas con o sin medicación biomédica. Normalmente, los pacientes son diagnosticados en uno de los centros de atención primaria de salud y en estos centros también suelen recetar adecuadamente medicamentos. Sin embargo, una vez que se hace un diagnóstico de la los pacientes a menudo recurren a los curanderos ya sea local o de los proveedores de hierbas y otros productos de cuidado de la salud. Por lo tanto esta es una enfermedad para que muchos de los tratamientos "tradicionales" fueran desarrollados en las últimas décadas por los curanderos locales. En algunos casos, los pacientes utilizan estos

tratamientos en lugar de los medicamentos convencionales y se produjeron graves complicaciones severas, incluyendo hospitalizaciones, hiperglucemia cetoacidosis (Shane Mc- Whorter, 2001).

Se han realizado diversos estudios sobre las plantas hipoglucemiantes y una gran variedad de compuestos han sido aislados (alcaloides, glicósidos, terpenos, flavonoides, etc), pero el principal problema es el desarrollo de medicamentos clínicamente útiles y fitomedicamentos o suplementos nutricionales adecuados, lo que sería de gran beneficio para los pacientes. En este contexto, es importante recordar que la metformina moderna (una biguanida) es un derivado de un producto natural activo, galegine una guanidina aislados de la planta officinalis L. Galega, que fue utilizado en la época medieval para aliviar la micción intensa en los pacientes diabéticos (Witters, 2001).

El estudio de hipoglucemiantes naturales puede llevar al desarrollo de fármacos con utilidad terapéutica potencial para el tratamiento de la diabetes. Para garantizar la seguridad y eficacia de estos hipoglucemiantes naturales, la Organización Mundial de la Salud recomienda su evaluación farmacológica y toxicológica (Oubre et al., 1997).

México, ancestralmente, tiene una gran tradición en el uso de plantas medicinales para el tratamiento de las enfermedades y los medicamentos a base de hierbas es bien aceptado por los pacientes. Los medicamentos alternativos o tradicionales son utilizados por un alto porcentaje de la población para el tratamiento de muchas enfermedades crónicas, incluyendo diabetes.

2.6.1.- NEEM

El árbol de Neem (*Azadirachta indica*), comúnmente llamado "indio Lila "o" margosa ", pertenece a la familia Meliaceae, subfamilia Meloideae y especie Melieae. El Neem es el más versátil de múltiples árboles de los trópicos, con un inmenso potencial. La mayoría de las partes de la planta tales como frutas, semillas, hojas, corteza y raíces contienen compuestos como antiséptico demostrado, antiviral, antipiréticos, antiinflamatorios, antiulcerosos y antifúngico.(Brahmachari, G., 2004).

Cada parte del árbol de neem tiene algunas propiedades medicinales y por lo tanto susceptibles de explotación comercial durante las últimas cinco décadas, además de la química de los compuestos de neem, se han logrado considerables avances con respecto a la actividad biológica y medicinal del neem.

La investigación química sobre los productos del "margosa" se llevó a cabo ampliamente a mediados del siglo XX. Desde el informe de Siddiqui en 1942 en el aislamiento de Nimbin, el primer compuesto aislado de aceite de neem, a partir de ahí más de 135 compuestos han sido aislados de diferentes partes del neem y varios artículos han sido publicados sobre la química y la diversidad estructural de estos compuestos. Los compuestos se han dividido principalmente en dos clases: isoprenoides y otros compuestos sin actividad biológica. Contiene isoprenoides que incluyen diterpenoides, triterpenoides, protomeliacins, limonoides, azadirone y sus derivados, y Geduninsus derivados, compuestos tipo vilasinin y Csecomeliacinstales como nimbin, salanin y

azadiractina. Los no-isoprenoides incluyen proteínas (aminoácidos) y hidratos de carbono (polisacáridos), compuestos sulfurosos, polifenólicos, tales como los flavonoides y sus glucósidos, dihidrochalcona, la cumarina y los taninos, compuestos alifáticos, etc. Los detalles de la química de los diversos compuestos que caen bajo estos grupos han sido ya revisados. (Kausik et al., 2002).

Table 1. Some bioactive compounds from neem

Neem compound	Source	Biological activity	Reference
Nimbidin		Anti-inflammatory	21
		Antiarthritic	22
		Antipyretic	23
		Hypoglycaemic	24
		Antigastric ulcer	25, 26
		Spermicidal	29
		Antifungal	30
		Antibacterial	30
		Diuretic	31
Sodium nimbidate		Anti-inflammatory	21, 22
Nimbin (1)	Seed oil	Spermicidal	28
Nimbolide (2)	Seed oil	Antibacterial	32, 33
		Antimalarial	34
Gedunin (3)	Seed oil	Antifungal	35
		Antimalarial	35
Azadirachtin (4)	Seed	Antimalarial	37
Mahmoodin (5)	Seed oil	Antibacterial	18
Gallic acid (6), (-) epicatechin (7) and catechin (8)	Bark	Anti-inflammatory and immunomodulatory	38
Margolone (9), margolonone (10) and isomargolonone (11)	Bark	Antibacterial	39
Cyclic trisulphide (12) and cyclic tetrasulphide (13)	Leaf	Antifungal	40
Polysaccharides		Anti-inflammatory	41
Polysaccharides GLa (14), GLb	Bark	Antitumour	42
Polysaccharides GLa (15), GLIa (16)	Bark	Anti-inflammatory	43
NB-II peptidoglycan	Bark	Immunomodulatory	44, 45

Tabla 1.- Algunos componentes bioactivos del Neem

(Tomado de Kausik et al, Biologicalactivities and medicinal properties ofAzadirachta indica, 2002)

Varias actividades farmacológicas y aplicaciones medicinales de diversas partes de neem están estudiadas. (Champagne et al. 1992). La actividad biológica de neem se ha reportado con los extractos crudos y sus diferentes fracciones: hojas, corteza, raíces, semilla y el aceite. Sin embargo, el extracto crudo de diferentes partes del neem se han utilizado como medicina tradicional para el tratamiento de diversas enfermedades, como antidiabético por ejemplo.

2.7.- COMPLICACIONES:

La diabetes puede llevar a otras enfermedades y afecciones denominadas complicaciones. Este padecimiento causa diversas alteraciones en el metabolismo de las grasas, proteínas y carbohidratos; sus complicaciones agudas como la hipoglucemia, cetoacidosis y coma hiperosmolar no cetósico, son consecuencia de un control inadecuado de la enfermedad, mientras que, las complicaciones crónicas como lo son los problemas cardiovasculares, nefropatías, retinopatías, neuropatías y daños microvasculares, son consecuencia del progreso de la enfermedad.

2.7.1.- HIPERTENSIÓN ARTERIAL:

La presión arterial es la resultante del volumen minuto cardíaco (volumen de sangre que bombea el corazón hacia el cuerpo en un minuto) por la resistencia arteriolar periférica, esta última determinada por el tono y estado de las arteriolas. En la medida que el tono muscular de estas pequeñas arterias aumenta, eleva la presión arterial como consecuencia del aumento de la resistencia periférica, por lo cual hablaremos de Hipertensión Arterial (HTA) cuando la persona registra una presión de ≥ 160 mmHg de presión sistólica y/o 95-100 mmHg de presión diastólica.

La hipertensión arterial es uno de los determinantes más importantes de enfermedad cardiovascular. Su patogenia se relaciona con múltiples factores genéticos, dietéticos y estilo de vida. Los determinantes biológicos incluyen la aterosclerosis, la hiper-respuesta a los estímulos adrenérgicos, resistencia a la insulina y la disfunción endotelial, entre otros. Hay pruebas que demuestran que las reducciones en la prevalencia de hipertensión arterial de la población que intervienen con el tratamiento médico adecuado, resulta en una reducción significativa en la mortalidad cardiovascular. (Boger – Meguido, et al; 2010).

Desde el punto de vista patogenético resulta imprescindible separar los acontecimientos que tienen lugar en la Diabetes tipo 1 y en la Diabetes tipo 2.

En el paciente portador de Diabetes tipo 1, la elevación de la presión arterial suele aparecer usualmente a los 2-5 años del establecimiento de la microalbuminuria (Poulsen, PL, et al., 1994), hecho que habitualmente nunca suele ocurrir antes de que hayan transcurrido por lo menos quince años desde el diagnóstico de la Diabetes Mellitus. Por el contrario en la diabetes tipo 2 la hipertensión arterial puede estar presente ya desde el inicio del diagnóstico de la diabetes, incluso cuando el paciente tiene una función renal todavía normal. De este hecho se deduce que los factores que inciden en la aparición de la hipertensión son diferentes en uno y otro tipo de diabetes (Nosadini R. & Brocco E, 1997).

Es necesario asumir que aproximadamente el 50% de los diabéticos tipo 1 desarrollarán un cuadro de nefropatía en un lapso de tiempo que oscila entre los 15-30 años después de haberse iniciado su diabetes. La elevación de la presión arterial, en estos casos de nefropatía establecida, está condicionada fundamentalmente por dos alteraciones: a) Por el aumento en la retención de sodio y en consecuencia por el incremento del volumen plasmático, ambos fenómenos secundarios a la disminución de la función renal (Feldt-Rasmussen B. et al., 1987). b) Por una elevación de la resistencia periférica secundaria al proceso de arteriosclerosis que se desarrolla de forma paralela a la progresión de la nefropatía. Por el contrario en la génesis de la HTA del diabético tipo 2, existe un mecanismo fisiopatológico de evidente complejidad, responsable de lo que inicialmente Reaven bautizó como Síndrome X, actualmente conocido como síndrome plurimetabólico, que está constituido por, entre otras, las siguientes:

Resistencia a la acción de la insulina para la captación de glucosa a nivel de las células periféricas (músculo esquelético, hígado, tejido adiposo), con hiperinsulinismo secundario y disminución de la tolerancia a la glucosa.

El hiperinsulinismo puede ser responsable de regular la presión arterial a través de diferentes mecanismos:

- Facilitando la reabsorción de sodio y agua, con aumento del volumen intravascular.
- Promoviendo la activación del sistema nervioso simpático, con aumento en la producción de catecolaminas (Ward KD, Sparrow D., et al., 1993).
- Promoviendo la vasoconstricción de las arteriolas, a través de favorecer la sensibilidad de las mismas a estímulos vasoconstrictores y disminuir su sensibilidad a estímulos vasodilatadores. La síntesis de óxido nítrico puede estar condicionada por las modificaciones de la sensibilidad a la insulina (Petrie JR, Ueda SH et al., 1996).
- Favoreciendo la hipertrofia del músculo liso del vaso, bien por estimulación directa (efecto mitogénico sobre las células favoreciendo su proliferación) o bien a través de la acción del IGF-1.
- Por afectación en el funcionamiento de algunas bombas iónicas transmembrana (bomba sodio-protones, bomba sodio- KATPasa, bomba calcio-ATPasa).

Alteraciones lipídicas:

- Aumento en las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres, con un mayor aporte de los mismos al hígado, lo que comporta un incremento en la síntesis de VLDL y en consecuencia de triglicéridos (hipertrigliceridemia).
- Disminución de la actividad de la lipoproteínlipasa, con disminución en el aclaramiento de los quilomicrones y VLDL, aumentando también a través de este mecanismo los niveles de triglicéridos plasmáticos.
- Aumento en la síntesis de LDL.
- Disminución en la producción de HDL

De cualquier forma es preciso no olvidar la existencia de un protagonista importante, el endotelio vascular que sufre una disfunción importante de índole multifactorial (tromboxano A, prostaciclina, óxido nítrico, productos derivados de la glicación avanzada, etc. (J.J. Barbería, 1998).

2.7.1.1.- FUNDAMENTO DE LA HIPERTENSIÓN.

2.7.1.1.1.- SISTEMA CARDIOVASCULAR:

El sistema cardiovascular está formado por el corazón y los vasos sanguíneos: arterias, venas y capilares. Se trata de un sistema de transporte en el que una bomba muscular (el corazón)

proporciona la energía necesaria para mover el contenido (la sangre), en un circuito cerrado de tubos elásticos (los vasos).

Los vasos sanguíneos forman una red de conductos que transportan la sangre desde el corazón a los tejidos y desde los tejidos al corazón. Las arterias son vasos que distribuyen la sangre del corazón a los tejidos. Las arterias se ramifican progresivamente, en cada ramificación disminuye su calibre y se forman las arteriolas. En el interior de los tejidos, las arteriolas se ramifican en múltiples vasos microscópicos, los capilares que se distribuyen entre las células. Los capilares se unen en grupos formando venas pequeñas, llamadas vénulas, que se fusionan para dar lugar a venas de mayor calibre. Las venas retornan la sangre al corazón.

Las paredes de los grandes vasos, arterias y venas, están constituidos por tres capas:

1. La capa interna está constituida por el endotelio (epitelio escamoso simple), su membrana basal y una capa de fibras elásticas.
2. La capa media está compuesta por tejido muscular liso y fibras elásticas. Esta capa es la que difiere más, en cuanto a la proporción de fibras musculares y elásticas, y su grosor entre venas y arterias.
3. La capa externa o adventicia se compone principalmente de tejido conjuntivo.

ARTERIAS

Las arterias son vasos cuyas paredes están formadas por las tres capas (capa interna o endotelio, capa media y capa externa o adventicia), con un predominio de fibras musculares y fibras elásticas en la capa media. Ello explica las principales características de las arterias: la elasticidad y la contractilidad. Según la proporción de fibras elásticas y musculares de esta capa se pueden diferenciar dos tipos de arterias: arterias elásticas y arterias musculares.

- Las arterias elásticas son las de mayor calibre como la aorta y sus ramas. Éstas tienen una mayor proporción de fibras elásticas en su capa media y sus paredes son relativamente delgadas en relación con su diámetro. La principal función de estas arterias es la conducción de la sangre del corazón a las arterias de mediano calibre.
- Las arterias musculares son las de calibre intermedio y su capa media contiene más músculo liso y menos fibras elásticas. Gracias a la contracción (vasoconstricción) o dilatación (vasodilatación) de las fibras musculares se regula el flujo sanguíneo en las distintas partes del cuerpo.

ARTERIOLAS

Las arteriolas son arterias de pequeño calibre cuya función es regular el flujo a los capilares. La pared de las arteriolas tiene una gran cantidad de fibras musculares que permiten variar su calibre y, por tanto, el aporte sanguíneo al lecho capilar.

CAPILARES

Los capilares son vasos microscópicos que comunican las arteriolas con las vénulas. Se sitúan entre las células del organismo en el espacio intersticial para poder facilitar el intercambio de sustancias entre la sangre y las células. Las paredes de los capilares son muy finas para permitir este intercambio. Están formadas por un endotelio y una membrana basal. Los capilares forman redes extensas y ramificadas, que incrementan el área de superficie para el intercambio rápido de materiales. Los capilares nacen de las arteriolas terminales y en el sitio de origen presentan un anillo de fibras de músculo liso llamado esfínter precapilar, cuya función es regular el flujo sanguíneo hacia los capilares.

VENAS Y VÉNULAS

La unión de varios capilares forma pequeñas venas denominadas vénulas. Cuando la vénula aumenta de calibre, se denomina vena. Las venas son estructuralmente muy similares a las arterias aunque sus capas interna y media son más delgadas. Las capas muscular y elástica son mucho más finas que en las arterias porque presentan una menor cantidad de fibras tanto elásticas como musculares. La capa externa (adventicia) es más gruesa y contiene más tejido conjuntivo. Las venas de las extremidades inferiores presentan válvulas en su pared, que es una proyección interna del endotelio. La función de estas válvulas es impedir el reflujo de sangre y ayudar a dirigir la sangre hacia el corazón.

CICLO CARDIACO

Un ciclo cardíaco incluye todos los fenómenos eléctricos (potencial de acción y su propagación) y mecánicos (sístole: contracción; diástole: relajación) que tienen lugar durante cada latido cardíaco. El término sístole hace referencia a la fase de contracción y el término diástole a la fase de relajación. Cada ciclo cardíaco consta de una sístole y una diástole auricular, y una sístole y una diástole ventricular. En cada ciclo, las aurículas y los ventrículos se contraen y se relajan de forma alternada, moviendo la sangre de las áreas de menor presión hacia las de mayor presión. Los fenómenos que tienen lugar durante cada ciclo cardíaco pueden esquematizarse de la siguiente forma:

1. Sístole auricular: durante la sístole auricular las aurículas se contraen y facilitan el paso de un pequeño volumen de sangre a los ventrículos. La despolarización auricular determina la sístole auricular. En este momento los ventrículos están relajados.
2. Sístole ventricular: tiene una duración de 0,3 segundos durante los cuales los ventrículos se contraen y al mismo tiempo las aurículas están relajadas. Al final de la sístole auricular, el impulso eléctrico llega a los ventrículos y ocasiona primero la despolarización y posteriormente la contracción ventricular. La contracción del ventrículo ocasiona un aumento de la presión intraventricular que provoca el cierre de las válvulas auriculoventriculares (AV). El cierre de estas válvulas genera un ruido audible en la superficie del tórax y que constituye el primer ruido cardíaco. Durante unos 0,05 segundos, tanto las válvulas semilunares (SL) como las AV se

encuentran cerradas. Este es el periodo de contracción isovolumétrica. Al continuar la contracción ventricular provoca un rápido aumento de la presión en el interior de las cavidades ventriculares. Cuando la presión de los ventrículos es mayor que la presión de las arterias, se abren las válvulas SL y tienen lugar la fase de eyección ventricular, con una duración aproximada de 0,250 segundos.

3. Diástole ventricular: el inicio de la diástole ventricular es debida a la repolarización ventricular. La velocidad de eyección de la sangre va disminuyendo de forma progresiva, disminuye la presión intraventricular y se cierran las válvulas SL. El cierre de las válvulas aórtica y pulmonar genera el segundo ruido cardiaco. Las válvulas semilunares impiden que la sangre refluya hacia las arterias cuando cesa la contracción de miocardio ventricular. El ventrículo es una cavidad cerrada, con las válvulas AV y SL cerradas. El ventrículo tiene un volumen constante, se relaja de forma progresiva y disminuye la presión intraventricular. Cuando la presión ventricular disminuye por debajo de la presión auricular, se abren las válvulas auriculoventriculares y se inicia la fase de llenado ventricular. La sangre fluye desde las aurículas a los ventrículos siguiendo un gradiente de presión.

FISIOLOGÍA DE LA CIRCULACIÓN SANGUÍNEA

CIRCULACIÓN:

En cada latido, el corazón bombea sangre a dos circuitos cerrados, la circulación general o mayor y la pulmonar o menor. La sangre no oxigenada llega a la aurícula derecha a través de las venas cava superior e inferior, y el seno coronario. Esta sangre no oxigenada es transferida al ventrículo derecho pasando a través de la válvula tricúspide y posteriormente fluye hacia el tronco pulmonar, el cual se divide en arteria pulmonar derecha e izquierda. La sangre no oxigenada se oxigena en los pulmones y regresa a la aurícula izquierda a través de las venas pulmonares (circulación pulmonar). La sangre oxigenada pasa al ventrículo izquierdo donde se bombea a la aorta ascendente. A este nivel, la sangre fluye hacia las arterias coronarias, el cayado aórtico, y la aorta descendente (porción torácica y abdominal). Estos vasos y sus ramas transportan la sangre oxigenada hacia todas las regiones del organismo (circulación general).

FLUJO SANGUÍNEO

El flujo sanguíneo es el volumen de sangre que fluye a través de cualquier tejido por unidad de tiempo (ml/minuto). El flujo sanguíneo total es el gasto cardiaco. La distribución del gasto cardiaco entre las diferentes partes del cuerpo depende de la diferencia de presión entre dos puntos del sistema vascular y de la resistencia al flujo sanguíneo.

PRESIÓN ARTERIAL

La presión sanguínea es la presión hidrostática que ejerce la sangre contra la pared de los vasos que la contienen. Es máxima en la raíz de la aorta y arterias (presión arterial) y va disminuyendo a

lo largo del árbol vascular, siendo mínima en la aurícula derecha. La sangre fluye a través de los vasos conforme a un gradiente de presión entre la aorta y la aurícula derecha.

La presión arterial se genera con la contracción de los ventrículos. Durante la sístole ventricular la presión arterial adquiere su valor máximo (presión sistólica) y sus valores son aproximadamente de 120 mmHg. La presión mínima coincide con la diástole ventricular (presión diastólica) y su valor (60-80 mmHg) está en relación con la elasticidad de las arterias que transmiten la energía desde sus paredes a la sangre durante la diástole. La presión sistólica refleja la contractilidad ventricular izquierda, mientras que la presión diastólica indica el estado de la resistencia vascular periférica.

El valor de la presión arterial esta directamente relacionado con la volemia y el gasto cardiaco y con la resistencia vascular. De tal forma que la presión arterial es el producto de las resistencias periféricas totales y del gasto cardiaco ($PA = RPT \times GC$).

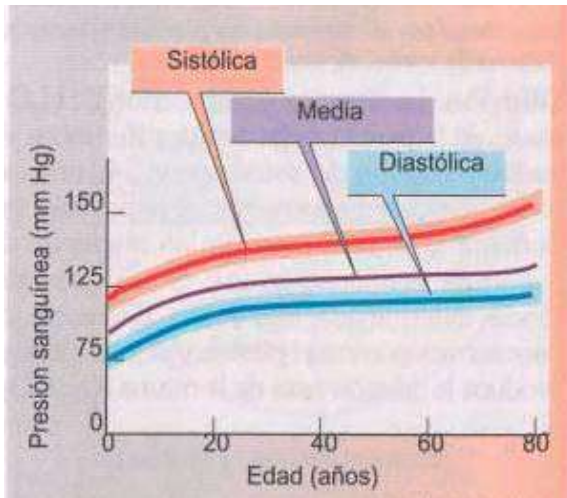


Figura 1.- Relación Edad-Presión Sanguínea.
Guyton- Hall. Tratado de Fisiología Médica. 10ª Edición. 2007.

Hasta los 45 años de edad los valores de presión arterial en reposo (sentado, tumbado) son 100-140 mm Hg de PS y 60-90 mm Hg de PD. Entre los 45 y 60 se consideran normales valores hasta 150 mmHg y en los mayores de 60 hasta 160 mmHg (figura 1.1). Mantener una presión arterial adecuada resulta fundamental para la irrigación tisular. Cuando disminuye la presión arterial (hipotensión) se puede producir shock, anoxia y destrucción tisular. También el aumento crónico de la presión arterial (hipertensión) puede producir lesiones (sobre todo cardíacas, encefálicas, renales y cutáneas).

El término presión sanguínea alude a la presión de la sangre arterial en la circulación sistémica. En la aorta se produce un aumento de la presión durante la fase de eyección sistólica hasta alcanzar un máximo, la presión sistólica (PS) y durante la fase de relajación (válvula aórtica cerrada) alcanza un valor mínimo, la presión diastólica (PD) (Esquema 1.2). La diferencia, PS - PD corresponde a la amplitud de la presión arterial, que depende del volumen sistólico (VS) y de la distensibilidad (distensión por volumen = dV/dP) de las arterias.

Para un valor concreto del VS y cuando se reduce la distensibilidad de los vasos, se produce un mayor aumento de la PS que de la PD, por lo que la amplitud aumenta (con frecuencia se produce durante el envejecimiento). El mismo fenómeno se produce cuando aumenta el VS para una distensibilidad determinada.

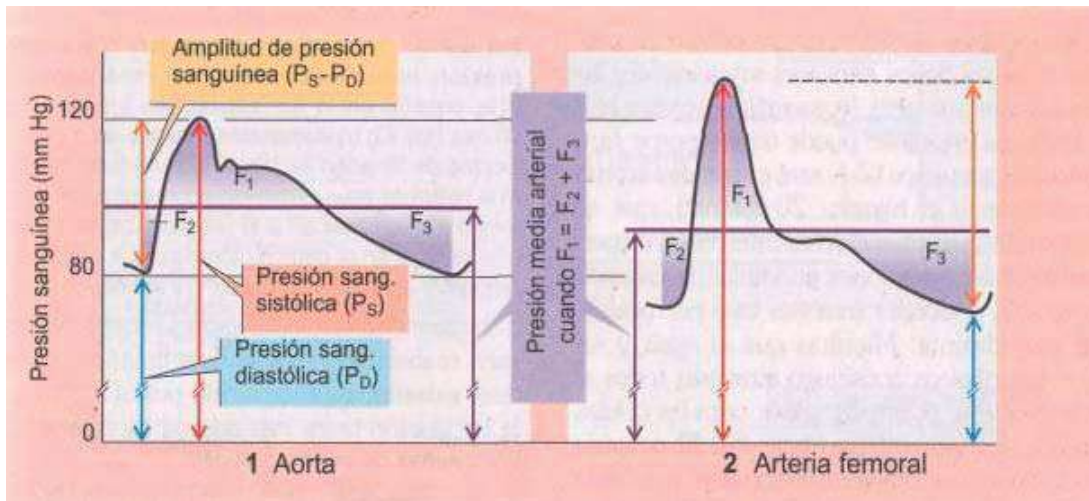


Figura 2.- Presión Sanguínea Arterial.

Fuente: Stefan

Silbernagl, AgamemnonDespopoulos. "Atlas de Bolsillo de Fisiología". 2001

REGULACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL

Para mantener unos valores de presión arterial que permitan la correcta irrigación de todos los órganos de nuestro organismo y adaptarse a sus necesidades energéticas es preciso un estricto control de los valores de la presión arterial y el flujo sanguíneo.

Existen distintos mecanismos implicados en el control de la presión arterial, los cuales pueden agruparse en:

1. Mecanismo de acción rápida: este mecanismo se inicia unos cuantos segundos después de que aumente o disminuya la presión arterial y su acción está relacionada con la actividad del centro cardiovascular y el sistema nervioso autónomo.

a) Los impulsos aferentes que informan al centro cardiovascular de cambios en los valores de la presión arterial pueden venir a través de receptores sensoriales periféricos (barorreceptores, quimiorreceptores y propioceptores) o impulsos cerebrales.

b) Los impulsos eferentes viajan desde el centro cardiovascular a través de nervios del sistema nervioso simpático y sistema nervioso parasimpático.

- El sistema nervioso simpático es la parte más importante del sistema nervioso autónomo para la regulación de la circulación. Los impulsos simpáticos en el corazón aumentan la frecuencia cardíaca y la contractilidad miocárdica. En los vasos, los nervios vasomotores simpáticos, pueden regular su diámetro modificando la resistencia vascular. En arteriolas, la vasoconstricción aumenta la resistencia vascular impidiendo la marcha rápida de la

sangre de las arterias en adelante, aumentando la presión arterial. En las venas, la vasoconstricción ocasiona un aumento del retorno venoso.

- El sistema nervioso parasimpático controla la función cardíaca por medio de fibras parasimpáticas que inervan el corazón a través de los nervios vagos o X par craneal. La estimulación parasimpática tiene como resultado principal una disminución marcada de la frecuencia cardíaca y un descenso leve de la contractilidad miocárdica.

2. Control reflejo: son mecanismos reflejos de retroalimentación negativa que mantienen de forma inconsciente los niveles de presión arterial dentro de los límites normales.

a) Reflejos barorreceptores: su acción en el mantenimiento de la presión arterial es muy importante ante cambios de la postura corporal. Cuando una persona que está acostada se sienta o se pone de pie, se produce una disminución de la presión arterial de la cabeza y la parte superior del cuerpo. Esta disminución estimula los barorreceptores de los senos carotídeos y aórticos, los cuales desencadenan de forma refleja una descarga simpática que normaliza la presión arterial.

- El reflejo de los senos carotídeos ayuda a mantener los valores de presión arterial dentro de la normalidad en el cerebro. Se activa por estimulación de barorreceptores de las paredes de los senos carotídeos, situados en la bifurcación carotídea. El aumento de la presión sanguínea estira la pared de estos senos, con lo que se estimulan los barorreceptores. Los impulsos nerviosos se propagan al centro cardiovascular el cual, a través del sistema nervioso parasimpático envía estímulos para disminuir la presión arterial. El reflejo aórtico ayuda a mantener la presión sanguínea global en la circulación general.
- Reflejos quimiorreceptores: los quimiorreceptores son células sensibles a la pO_2 , pCO_2 y H^+ . Se localizan en la bifurcación carotídea y en el cayado aórtico. Cuando disminuye la presión arterial, el flujo sanguíneo es más lento y se acumula exceso de CO_2 y H^+ y disminuye la pO_2 . Ello estimula los quimiorreceptores los cuales de forma refleja ocasionan un aumento de la presión arterial. Este reflejo solo se estimula ante disminuciones muy importantes de la presión arterial.

4. Mecanismo hormonal: es un mecanismo de acción más lento para el control de la presión arterial que se activa al cabo de horas. Implica la secreción de hormonas que regulan el volumen sanguíneo, el gasto cardíaco y las resistencias vasculares.

a) Sistema renina-angiotensina-aldosterona: al disminuir la volemia o el flujo renal, las células del aparato yuxtaglomerular de los riñones liberan más renina a la sangre. La renina y la enzima convertidora de angiotensina (ECA) actúan en sus respectivos sustratos para que se produzca angiotensina II (la forma activa) la cual aumenta la presión arterial por dos mecanismos:

- Vasoconstricción arteriolar, que ocasiona aumento de las resistencias periféricas.
- Estimula de la secreción de aldosterona, que aumenta la reabsorción renal de Na^+ y agua y ocasiona un aumento de la volemia.

b) Adrenalina y noradrenalina: estas hormonas se liberan en la médula suprarrenal por activación del sistema nervioso simpático. Ocasionan un aumento del gasto cardíaco al aumentar la contractilidad y la frecuencia cardíaca. También aumentan las resistencias periféricas al producir vasoconstricción arteriolar. Además, inducen vasoconstricción venosa en la piel y vísceras abdominales, aumentando el retorno venoso. Asimismo, la adrenalina produce vasodilatación arterial en el miocardio y los músculos esqueléticos.

c) Hormona antidiurética (ADH): esta hormona hipotalámica se libera en la hipófisis al disminuir la volemia y estimula la reabsorción de agua en el riñón y la vasoconstricción arteriolar.

d) Péptido natriurético auricular: se libera en las células auriculares cardíacas y disminuye la presión arterial al ocasionar vasodilatación y aumentar la excreción de iones y agua en el riñón.

Debido a que por la naturaleza del protocolo experimental y los resultados obtenidos a continuación se hablará del efecto de la estimulación simpática en el control de la presión arterial.

2.7.1.1.2.- CONTROL SIMPÁTICO Y PARASIMPÁTICO DE LA PRESIÓN ARTERIAL

El Sistema Nervioso Autónomo (SNA) está compuesto por el Sistema Nervioso Simpático y Parasimpático (SNPS).

El Sistema Nervioso Simpático (SNS) se caracteriza por tener una cadena ganglionar paravertebral cuyas aferencias nerviosas, de origen central, emergen a nivel toraco-lumbar. Estos nervios preganglionares son de extensión corta y hacen sinapsis en los ganglios antes mencionados. De ellos emergen las fibras nerviosas postganglionares que son largas y terminan haciendo sinapsis en cada uno de los órganos efectores. El neurotransmisor que utilizan es fundamentalmente la noradrenalina y los receptores responsables de sus efectos son del tipo alfa (vasoconstrictor, inhibición de la secreción de insulina, etc.) o beta (taquicardia, inotropismo positivo, aumento de la velocidad de conducción, aumento de la secreción de insulina, broncodilatación, secreción de renina, etc.). En este punto es importante recordar que la médula adrenal se comporta como un órgano endocrino en lugar de hacerlo como un ganglio paravertebral, ya que en vez de tener fibras postganglionares, libera en forma directa y esencialmente adrenalina al torrente sanguíneo y, en menor cuantía noradrenalina o dopamina, esta última en cantidades mucho menores.

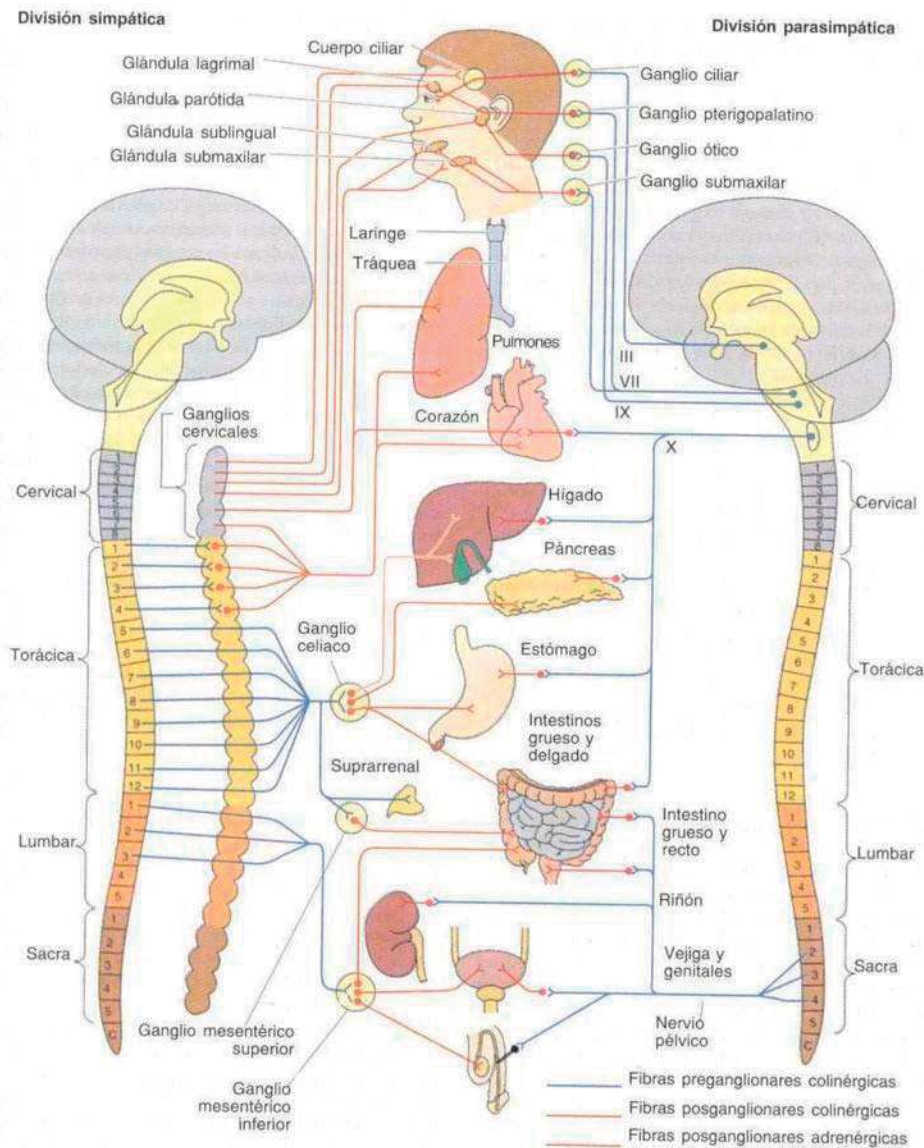


Figura 3.- División del Sistema Nervioso Autónomo.

División simpática izquierda, parasimpática derecha. (Suárez, 2008)

La Presión Arterial (PA) es el resultado de la relación entre el volumen por minuto cardíaco (VMC) y la resistencia periférica (RP), pudiendo expresarse matemáticamente de la siguiente forma: $PA = VMC \times RP$. Donde el VMC es el resultante del producto del volumen sistólico (VS) por la frecuencia cardíaca (FC): $VMC = VS \times FC$, mientras que la resistencia periférica resulta principalmente de la magnitud del radio arterial según fuera descrito en la ley de Poiseuille, donde:

$$R = \frac{8 L \eta}{\pi r^4}$$

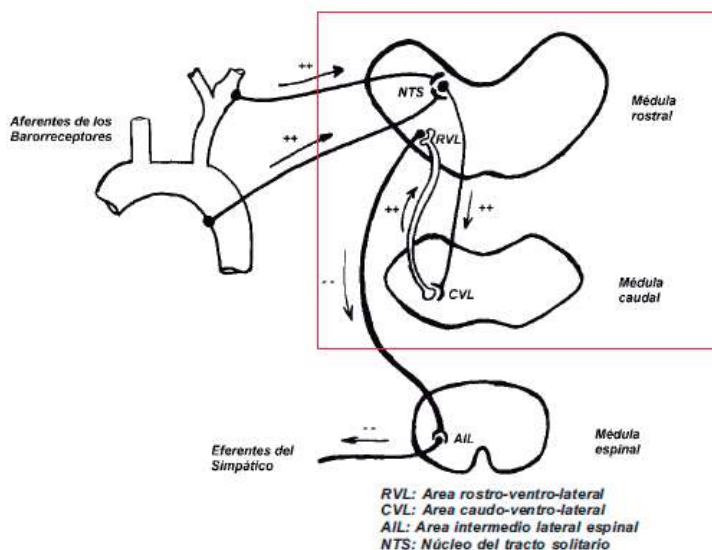
En la cual L representa la longitud del tubo (que en el caso del árbol vascular es constante), η es la viscosidad de la sangre, que tiende a ser constante y π es también una constante, siendo la única

variable el radio vascular. Así queda claro porqué la resistencia periférica depende fundamentalmente del radio del vaso, ya que su valor, al estar a la cuarta potencia indica que pequeños cambios en el radio tienen un enorme impacto en la resistencia periférica. (Baglivo et al, 2003).

En cada latido cardíaco la presión arterial tiende a aumentar durante la sístole y disminuir durante la diástole. Ello sucede así dado que la resistencia periférica antagoniza el vaciado cardíaco y el corazón debe desarrollar un trabajo, durante la contracción, para permitir su vaciado y que el flujo de sangre se mantenga constante dentro del árbol arterial. Sin embargo, toda la energía generada no es utilizada para hacer circular la sangre, sino que parte de ella, aprovechando la elasticidad de la arteria aorta, se acumula como energía potencial. Durante la diástole, esta energía se transforma en cinética luego de producirse el cierre de las válvulas aórticas que permitirán el llenado ventricular y evitarán el reflujo de sangre hacia el ventrículo para mantener el flujo vascular. Esto sucede así ya que la tensión ejercida por la pared aórtica hará que se genere una presión mantendrá el flujo en forma centrífuga hasta tanto recomience la sístole ventricular. Por lo tanto, es fácil comprender que la RP no puede mantenerse constante durante todo el ciclo cardíaco y que debe existir algún sistema de control para mantener la coordinación entre el trabajo cardíaco y la resistencia periférica. (Best y Taylor, 1985). Para ello existe en nuestro organismo un sistema denominado barorreflejo que es el responsable de censar los cambios de la PA durante el ciclo cardíaco y ajustar en un trabajo coordinado no solo la RP sino también el VMC con el objeto de mantener lo más constante posible el valor de la presión arterial.

Sistema de Control Barorreflejo.

Este sistema, como su nombre lo indica, está formado por un circuito reflejo capaz de sensar los cambios de la PA (baro=presión) y, modulando los valores de FC y RP, controlar los cambios de PA dentro de un rango de normalidad (variabilidad). El circuito barorreflejo está formado por un grupo de receptores o transductores, capaces de sensar los cambios de la PA (barorreceptores), generar potenciales de acción y enviar esa señal al sistema nervioso central (vías aferentes). Allí se interpreta la señal y, a través de las vías eferentes (SNA), se modula FC y la RP (efectores: corazón y arterias). De esta forma podemos representar el control barorreflejo de la siguiente manera:



Esquema 4.- Control Barorreflejo. Fuente: *Perspectives en cardiovascular research*. 1981.

Se puede observar que la información proveniente a través de las vías aferentes hacen su primera estación de relevo en el núcleo del tracto solitario (NTS), en el tallo encefálico, y de allí la información se integra para dirigirse, cursando por el asta intermedio-lateral de la medula espinal, a hacer sinapsis con los cuerpos neuronales de las vías preganglionares simpáticas para modular la RP. Asimismo, también se dirigen hacia el núcleo motor del vago para modular la FC. Cabe mencionar también que existe participación de estructuras superiores (hipotálamo), las cuales no solo colaborarían en la modulación refleja de los valores de la presión arterial, sino que exteriorizan su actividad propia, como se observar en la reacción de ataque- Huída. Es en esta situación, donde, para expresar su actividad, deben inhibir al barorreflejo y poder, de esa forma, aumentar la presión arterial, la frecuencia cardíaca, la disponibilidad de glucosa y derivar el flujo sanguíneo hacia el área muscular, cerebral y cardíaca, fundamentalmente. Por lo tanto, podríamos resumir que, ante un aumento de la PA, en forma casi inmediata se activan los barorreceptores. Estos aumentan la frecuencia de descarga de las neuronas aferentes al sistema nervioso central que se encarga de reducir la FC y la RP (a través de la activación vagal y la reducción de la actividad simpática periférica). Con ello logra compensar y controlar el aumento de la PA. Algo similar pero de diferente dirección se observa cuando la PA disminuye.

RECEPTORES.

Los receptores adrenérgicos pueden ser activados por la adrenalina (adrenérgicos) o por la noradrenalina (noradrenérgicos). Los receptores adrenérgicos son de dos tipos: los alfa (α) y los beta (β). Estos receptores a su vez se subdividen en subtipos: α_1 , α_2 , β_1 y β_2 , de acuerdo a la respuesta que producen y a la activación de diferentes medicamentos. Salvo contadas excepciones, los receptores α_1 y β_1 producen excitación; α_2 y β_2 , inhibición. La noradrenalina estimula más intensamente los alfa que los beta, mientras que la adrenalina los estimula ambos

de una manera potente. Las neuronas adrenérgicas producen acciones más persistentes en la hendidura sináptica que las colinérgicas.

Receptor	Sitios Principales	Efectos
COLINÉRGICO	Proteínas de la membrana postsináptica. Los activa la acetilcolina	
Nicotínico	Dendritas de las neuronas postganglionares simpáticas y parasimpáticas	Excitación -> Impulsos en neuronas Postganglionares
Nn	Ganglios autónomos, medula suprarrenal, neuronas del SNC.	Despolarización de células, músculo esquelético.
Nm	Unión neuromuscular	Despolarización de fibras pre-sinápticas.
Muscarínico	Efectores postganglionares parasimpáticos	Excitación o inhibición
M1 (Gástrico)	Neuronas del SNC, célula parietal de la mucosa gástrica, neuronas ganglionares del sistema vegetativo.	Aumenta: IP3, Calcio Libera: HCl, Pepsina
M2 (Cardíaco)	Miocardio	Bradycardia (disminuye el AMPc)
M3 (Muscular Liso)	Células musculares lisas (gastrointestinales)	Inhibe: adenilciclase (AMPc)
M4 (Glandulares)	Glándulas exocrinas, páncreas exocrino	Incrementa hidrólisis de fosfodilinositol. Movilización de Ca++
ADRENÉRGICO	Proteínas de membrana postsináptica. Activadas por adrenalina o noradrenalina.	
α_2	Músculo liso de los vasos sanguíneos de glándulas salivales, piel, mucosas, riñones y vísceras abdominales, músculo	Excitación -> contracción.
α_1	Fibras de músculo liso de los vasos sanguíneos	Inhibición -> relajación, vasodilatación.
	Islotes de Langerhans (páncreas)	Inhibición producción de insulina
β_1	Fibras del miocardio	Agregación -> coagulación
	Células yustaglomerulares del riñón	Excitación -> aumento de la frecuencia y fuerza de contracción del corazón
	Lóbulo posterior de la hipófisis	Secreción hormona antidiurética
	Células adiposas	Desdoblamiento de triglicéridos y liberación de ácidos grasos libres
β_1	Músculo liso de vías respiratorias; vasos sanguíneos que van al corazón, músculo esquelético, tejido adiposo, hígado y vísceras	Inhibición -> relajación -> broncodilatación, vasodilatación.
	Hepatocitos (Hígado)	Desdobla glucógeno -> glucosa (glucogenolisis)

Tabla 2.- Localización y respuestas de los receptores adrenérgicos y colinérgicos. (Suárez, 2008)

El SNPS, a diferencia del SNS, posee las emergencias de sus fibras preganglionares a nivel craneo-sacro y sus ganglios dentro de la pared de los órganos efectores. Es por ello que, a diferencia del SNS, sus fibras preganglionares son más largas mientras que las postganglionares son mucho más cortas (ejemplo típico es el plexo intestinal de Auerbach). El neurotransmisor que utiliza es la acetilcolina, la cual activa receptores del tipo muscarínico (bradicardia, inotropismo negativo, disminución de la velocidad de conducción, broncoconstricción) o nicotínico (transmisión muscular, transmisión ganglionar, etc.).

El sistema nervioso simpático y parasimpático actúa a nivel del corazón por medio del nervio cardiaco a través del sistema nervioso simpático y el décimo par craneal, de forma que el sistema nervioso parasimpático va a producir una disminución de la presión arterial. La acetilcolina deprime la Presión Arterial basal, mediante los mecanismos de Cronotropismo negativo e Inotropismo negativo, es decir deprime la presión arterial gracias a su acción cardiodepresora, además se debe de considerar como causa adicional la vasodilatación generalizada.

Ante un aumento del metabolismo celular, siempre hay un aumento del flujo sanguíneo y de la presión arterial, este aumento del flujo sanguíneo se realiza por medio de sustancias vasoactivas, estas sustancias vasoactivas van a ser producidas por leucocitos, plaquetas, fibroblastos, macrófagos y células musculares, y siendo las principales sustancias vasoactivas el óxido nítrico con efecto vasodilatador, el ácido láctico vasodilatador y la adenosina con efecto vasodilatador. Las principales sustancias vasoconstrictoras son los radicales libres producidos en el estrés oxidativo de las células.

El endotelio sintetiza y libera sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras que tienen que ver con el tono y la estructura cardiovasculares. De allí su importancia actual en la patogenia de la arterioesclerosis y la hipertensión arterial.

Las células endoteliales producen tres sustancias principales con acción vasodilatadora:

1) EDHF, factor hiperpolarizante relajador del endotelio. Esta sustancia es importante en los vasos de pequeño calibre. Aún no está identificada químicamente, pero se sabe que actúa hiperpolarizando la membrana del músculo liso vascular, produciendo vasorelajación a través de la apertura de los canales de potasio

2) PG12, prostaciclina. Actúa a través del aumento del AMPC en sinergia con el NO, a nivel del músculo liso vascular y plaquetas

3) Óxido Nítrico (NO).

El NO se sintetiza en la célula endotelial a partir de la acción de la NOS (óxido nítrico sintetasa constitutiva), sobre el aminoácido L-Arginina. Una vez liberado, su tiempo de vida es muy corto, apenas 3 a 5 seg., transformándose en formas inactivas como el nitrito y el nitrato, siendo la oxihemoglobina y los radicales libres del O₂ las principales moléculas que catalizan esta reacción. Esta es la razón por la que el NO no puede actuar a distancia y solo lo hace a nivel local (acción paracrina). A su vez actúa sobre la propia célula endotelial generadora, limitando su formación (acción autocrina) en un típico mecanismo autoregulatorio de feed-back negativo. Al ser muy lipofílico ejerce su acción sobre el músculo liso adyacente, aumentando el GMP cíclico (GMPc) y produciendo relajación. Las principales acciones del NO son GMPc dependientes: a) vasodilatación al relajar el músculo liso vascular, b) antiagregante plaquetario, c) relajación del músculo liso bronquial, el músculo liso de la pared del intestino y del útero, a través de la neurotransmisión

NANC (no adrenérgica no colinérgica), actuando el NO como neurotransmisor, y d) inhibición de la proliferación celular sobre todo del músculo liso adyacente.

Se sabe que la Acetil-colina (Ach) y otras sustancias vasomotoras actúan sobre el endotelio, y necesitan del él para producir sus efectos vasodilatadores y/o vasoconstrictores. Del equilibrio de estos efectos VD y VC depende el tono vasomotor y más aún, el desbalance entre las respuestas vasoactivas resultará en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión arterial, la arterioesclerosis y la insuficiencia cardíaca.

La acetilcolina es un éster de colina y ácido acético que funciona como neurotransmisor. Cuando un impulso nervioso llega al teledendrón del axón, los canales de calcio ubicados en la membrana del axón se abren para permitir el paso de iones de calcio, lo que provoca que cientos de vesículas sinápticas se fusionen con la membrana celular y expulse la acetilcolina hacia el espacio sináptico. Este neurotransmisor afecta varios sistemas del cuerpo como ser el sistema cardiovascular (desacelera los latidos del corazón y la fuerza de contracción del mismo, dilatando los vasos sanguíneos)

El nitroprusiato sódico es un vasodilatador venoso y arterial que disminuye tanto la postcarga como la precarga. Forma parte de los compuestos precursores de óxido nítrico. Esta cualidad es el resultado de sufrir un proceso de reducción en las membranas celulares, como las de músculo liso y las de los eritrocitos. El mecanismo de acción de esta droga es por reacción con la cisteína para formar nitrocisteína. Esta última activa la guanilato ciclasa la cual, a su vez, estimula la formación de GMP cíclico (GMPc) que relaja el músculo liso.

2.7.1.2.- PREVALENCIA

La prevalencia de la hipertensión ha aumentado del 23,8% en 1993 a 30,7% en 2000 (Barquera, et al. 2008) y al 43,2% en 2006 (Barquera, et al. 2010). Los incrementos son equivalentes a 1.5 pp / año durante los últimos 13 años. Esta tendencia no tuvo diferencias de género: (25,1, 32,6 y 40,3% para los hombres) y (22,9, 29,0 y 47,3% para las mujeres). Sin embargo, la prevalencia tiende a ser mayor en hombres que en mujeres. La presión arterial sistólica media disminuyó de forma no significativa de 129 en 1993 a 122 mm Hg en el año 2006. Una tendencia significativa similar, pero no se observó a partir de 83,9 en 1993 a 77,9 mmHg en el 2006.

	ENEC 1993	ENSA 2000	ENSANUT 2006
Overall hypertension (%)	23.8	30.7	43.2
Male (%)	25.1	32.6	40.3 (95%C.I. 45.9 - 48.8)
Female (%)	22.9	29.0	47.3 (95%C.I. 39.2, 41.4)
Blood pressure (mmHg), (mean (SD))			
Systolic	129.6 (17.5)	122.8 (16.7)	122 (95%C.I. 121.6, 122.3)
Diastolic	83.9 (13.2)	80.2 (11.4)	77.9 (95%C.I. 77.7 - 78.2)

Tabla 3.- Tendencia en la Prevalencia de Hipertensión arterial en la Población Mexicana mayor de 20 años.

Fuente: ENEC, 1993. ENSA, 200. ENSANUT, 2006.

Quizás el hallazgo más sorprendente viene de la encuesta de 2006, donde casi el 60% de los casos con hipertensión arterial no diagnosticados previamente. Estas cifras ponen de urgentes acciones preventivas para reducir el riesgo de hipertensión arterial. Esto ayudará a reducir la morbilidad y mortalidad cardiovascular.

La presión arterial es la resultante del volumen minuto cardíaco (volumen de sangre que bombea el corazón hacia el cuerpo en un minuto) por la resistencia arteriolar periférica, esta última determinada por el tono y estado de las arteriolas. En la medida que el tono muscular de estas pequeñas arterias aumenta, eleva la presión arterial como consecuencia del aumento de la resistencia periférica.

2.7.1.3.- TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LOS PACIENTES DIABÉTICOS CON HIPERTENSIÓN:

No toda la diversidad farmacológica, que en el momento actual es efectivo para el tratamiento de la hipertensión arterial, es aplicable al paciente diabético, bien porque parte de los fármacos pueden empeorar algunos de los trastornos metabólicos (Teuscher & Weidmann, 1997) asociados a la diabetes o bien porque algunos fármacos específicos además de tener una acción hipotensora adecuada, tienen un efecto renoprotector evidente, que puede incluso en algunas fases, desacelerar la progresión de la nefropatía aun cuando esté establecida. Junto con el estricto control metabólico de la diabetes, el tratamiento de la hipertensión arterial es la única arma terapéutica para el tratamiento de la nefropatía. Atendiendo a las recomendaciones del Documento-Consenso, estas son las guías para la elección del hipotensor adecuado:

En la Diabetes tipo 1:

- Elección inicial de un IECA a dosis progresivamente crecientes, hasta conseguir los efectos deseados (control de la presión arterial y reducción de la microalbuminuria si es factible en un 50%).
- Si no se consiguen los objetivos anteriores, se podrá asociar otros hipotensores (calcioantagonistas no hidropiridínicos tales como el diltiazem y verapamil ó alfabloqueantes). La asociación IECA-Calcioantagonistas suele ser útil en casos de hipertensión rebelde (Backvis& White, 1997).
- Los alfabloqueantes pueden ser útiles como tratamiento de segunda línea, teniendo presente que pueden producir hipotensión ortostática sobre todo en pacientes con neuropatía autonómica.

En la Diabetes tipo 2:

Las recomendaciones son similares a las realizadas para el tipo 1. No obstante y dado que en el diabético tipo 2 no existe tanta evidencia de que los IECA tengan una indicación tan específica como en el tipo 1, podrán utilizarse también otro tipo de hipotensores o diuréticos (hidroclorotiazida a dosis bajas, furosemida, indapamida, o torasemida).

A continuación se pormenorizan algunos aspectos de los fármacos mayormente utilizados en el paciente portador de hipertensión y/o nefropatía:

Inhibidores de la Enzima de Conversión de la Angiotensina (IECA)

Estos fármacos son capaces de disminuir la proteinuria y/o la microalbuminuria, tanto a corto como a largo plazo. Este efecto se ha demostrado en diabéticos tipo 1 con nefropatía (proteinuria persistente) e hipertensión arterial, normotensos con nefropatía establecida, con hipertensión arterial y microalbuminuria, con presión arterial normal, así como en diabéticos tipo 2, hipertensos con nefropatía establecida y normotensos con microalbuminuria, independientemente de que se haya logrado o no el efecto hipotensor. En estudios realizados a largo plazo, el IECA más experimentado por el ser primero en descubrirse ha sido el captopril y en menor medida por falta de perspectiva de tiempo el enalapril y lisinopril. De todos estos estudios se ha llegado a las siguientes conclusiones:

- Que la inhibición farmacológica de la ECA puede retardar el desarrollo de la nefropatía diabética.
- Que este tratamiento se ha demostrado más efectivo a la hora de disminuir la microalbuminuria/proteinuria, que otros fármacos con similar efecto hipotensor.
- Que el efecto renoprotector está presente en todo tipo de diabéticos, tengan o no hipertensión arterial.

Los IECA son capaces de actuar a través de diversos mecanismos(50): a) Disminuyendo la presión intraglomerular por dilatación de las arteriolas glomerulares eferentes, b) Disminuyendo la presión arterial sistémica, c) Retardando el engrosamiento de la membrana del glomérulo.

Calcioantagonistas

Los Calcioantagonistas tienen efectos diversos sobre la microalbuminuria/proteinuria en pacientes diabéticos, pues mientras algunos la disminuyen (diltiazem, nifedipino, verapamil y amlodipino), otros no tienen efecto alguno o la incrementan como es el caso de nifedipino y nitrendipino. El que alguno de estos fármacos carezcan de efecto o incrementen la proteinuria, se debe a su acción relajante sobre las arteriolas aferentes del glomérulo, fenómeno que provoca un aumento de la presión intraglomerular.

En consecuencia algunos de los citados (calcioantagonistas no hidropiridínicos), tienen un lugar en el tratamiento de la HTA en el diabético, si bien son necesarios estudios a largo plazo y con un mayor número de pacientes, para ver si tienen un efecto renoprotector similar al demostrado por alguno de los IECA.

Diuréticos tiazídicos

La hidroclorotiazida a dosis de 12,5-25 mg/día es un fármaco efectivo a la hora de disminuir la presión arterial, habiéndose demostrado que reduce la morbimortalidad cardiovascular en estudios randomizados a largo plazo. Sus desventajas radican en el hecho de que producen dislipemia, alteran el metabolismo hidrocarbonado con aparición de hiperinsulinismo y son capaces de generar hipokaliemia, hipomagnesemia e hiperuricemia en algunos pacientes.

β -bloqueantes Han demostrado reducir la morbimortalidad cardiovascular (Sawicki, et al., 1997) de forma similar a los fármacos referidos en el apartado anterior. Pero dado que tienen efectos adversos sobre los lípidos plasmáticos y el control de la glucemia, enmascarando además los síntomas de hipoglucemia en el paciente, no son recomendados como fármacos de primera línea en el tratamiento de la hipertensión arterial.

Bloqueantes de los receptores α -1

Tienen efecto beneficioso sobre los lípidos plasmáticos mejorando además la sensibilidad a la insulina. Sin embargo pueden producir hipotensión ortostática, sobre todo en pacientes afectos de disfunción autonómica.

La relativamente reciente aparición de otros fármacos hipotensores, como son los antagonistas de los receptores de Angiotensina II (Nielsen, et al., 1997), plantean nuevas posibilidades

terapéuticas, que deberán ser confirmadas después de un período de tiempo adecuado en la persona portadora de DM.

III.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL

3.1.- ANTECEDENTES

3.1.1.- Actividad de los diferentes tipos de extractos del Neem:

Menakshi Bhat y Colaboradores, utilizando un modelo murino de diabetes *in vivo*, se estudiaron los extractos de cloroformo, metanol y acuoso de *A. indica* y *B. spectabilis* en los parámetros bioquímicos importantes para control de la diabetes. Para tratamiento con extractos de plantas, los extractos de plantas (100 µg/200 l) reconstituido en agua destilada con el 0,5% de DMSO se inyectaron por vía intraperitoneal a los ratones experimentales durante 21 días. Seis animales fueron mantenidos en cada grupo y el control no diabéticos y control de la diabetes recibió vehículo (agua destilada + 0,5% de DMSO) sólo. Después de 21 días del tratamiento, los animales fueron sacrificados, los órganos se retiraron, se lavaron con PBS y se almacenó a -20 ° C para uso posterior. Se encontró que el extracto de cloroformo de *A. indica* y el extracto acuoso de *B. spectabilis*, así como sus extractos metanólicos mostraron una buena tolerancia a glucosa oral y reduce significativamente la actividad glucosidasa intestinal. De manera relevante, el extracto en cloroformo de *A. indica* y el extracto acuoso de *B. spectabilis* mostraron un aumento significativo en la actividad hepática y de la deshidrogenasa de glucosa-6-fosfato, y el contenido de glucógeno después de 21 días de tratamiento en el músculo esquelético. En el análisis inmunohistoquímico, se observó una regeneración de las células productoras de insulina y el correspondiente incremento de insulina en plasma y los niveles de péptido C con el tratamiento del extracto en cloroformo de *A. indica* y de los extractos acuoso y metanólico de *B. spectabilis*, concluyendo que ambos tratamientos son buenos candidatos para el desarrollo de fármacos nuevos para el tratamiento de la diabetes.

3.1.2.- Actividad Antihiperglucemica:

- Shradha Bisht y colaboradores, sugieren una actividad anti-hiperglucemica del extracto alcohólico del neem. Este estudio se llevó a cabo para dilucidar si el tratamiento de

Azadirachta indica extracto de hoja después de la diabetes inducida por estreptozotocina (STZ) tiene o no una acción anti-hiperglucémicas y anti-dislipidémicas. El experimento consistió en cuatro grupos de ratas: (1) un grupo fue el grupo de control, (2) control de la diabetes (0.5 ml de Tween 80 al 5%), (3) grupo de diabéticos que recibió extracto alcohólico de Azadirachta indica (200 mg/kg, diluido en 0.5 ml de Tween 80 al 5%) y (4) ratas diabéticas que recibieron glibenclamida (500 µg/kg, diluido en 0.5 ml de Tween 80 al 5%) como estándar de referencia. La Prueba de la tolerancia a la glucosa se realizó antes de la inducción de la diabetes. La sangre para la estimación de la glucosa y para evaluar los niveles de triglicéridos, colesterol total, HDL-colesterol, LDL-colesterol se recogió por punción retro-orbital. El nivel de glucosa en sangre, así como los parámetros del perfil de lípidos como colesterol total, triglicéridos, de baja densidad y las lipoproteínas de muy baja densidad de la lipoproteína colesterol también fueron elevados, mientras que el nivel de alta densidad lipoproteína-colesterol se redujo significativamente ($P < 0,05$) en las ratas diabéticas. El extracto etanólico de A.indica normalizó el nivel de glucosa y el perfil lipídico después la inducción de la diabetes. Concluyendo que la hiperglucemia inducida por la STZ (50 mg/kg i.v.) puede ser mejorado por el tratamiento con extracto etanólico del extracto etanolico de A.indica después de la inducción diabética, además también se invierte la dislipidemia.

- Además, Chattopadhyay y colaboradores señalan que el extracto acuoso de hojas de neem reduce significativamente el nivel de glucosa en la sangre. El extracto acuoso de las hojas administrado por vía oral también produce hipoglucemia en ratas normales y disminución de la glucemia en ratas con diabetes mellitus inducida experimentalmente. El extracto acuoso de hoja también reduce la hiperglucemia en diabetes inducida por estreptozotocina y el efecto se debe posiblemente a presencia de un flavonoide, la quercetina. Los posibles mecanismos que subyacen a la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de la hoja también se han discutido (Chattopadhyay, 1996).

3.1.3.- Efecto Hipoglucemiante y Influencia sobre el Peso Corporal

M. W. Rahman y colaboradores, sugieren que el Neem, además de una actividad hipoglucemiante influye sobre el peso corporal. Los experimentos se realizaron para comparar la eficacia hipoglucemiante del Neem, Karala y Noyantara con la de Glibenclamida en la rata normal. Además de que el experimento se realizó para comparar los efectos sobre el peso corporal de la rata después de la administración de estos fármacos. Se hizo después de la observación de 14 días durante el tratamiento con estos medicamentos. (1) Neem cuando se administra por vía oral 500 mg / kg disminuye de forma significativa ($p > 0,01$) el nivel de glucosa en sangre (7,52 a 3,98 mol / L) y el peso corporal también de forma significativa ($p > 0,01$) mayor (153,20 a 155,80 mg / kg) (2) Karala cuando se administra por vía oral 200 mg / kg disminuye de forma significativa ($p > 0,01$) el nivel de glucosa en sangre (8,96 a 4,82 mol / L) y el peso corporal también de forma significativa ($p > 0,01$) mayor (169,20 a 177,20 mg / kg) (3) Noyantara cuando se administra oralmente 500 mg / kg disminuye significativamente ($p > 0,01$) el nivel de glucosa en sangre (6,80 a 4,44 mol / L) y peso

corporal también de forma significativa ($p > 0,01$) mayor (120,40 a 140,40 mg / kg) y cuando se administra Glibenclamida por vía oral de 0,25 mg / kg, disminuye de forma significativa ($p > 0,01$) el nivel de glucosa en sangre (7,20 a 6,61 mol / L) y el peso corporal también de forma significativa ($p > 0,01$) mayor (164,00 a 171,40 mg / kg). De este experimento se concluye que el Neem (*Azadirachta indica*), Karala (*Momordica charantia*) y Nayantara (*Catharanthus roseus*) son un potente agente hipoglucemiante tanto como la glibenclamida.

3.1.4.- Efectos Cardiovasculares.

- Emmanuel B. Thompson (1977) y Comfort C. Anderson estudiaron un extracto liofilizado que fue administrado tanto a cobayos como conejos, los resultados de este estudio sugieren que el neem tiene efectos a nivel cardiovascular. El extracto se realizó con tres litros de agua destilada en un aparato Soxhlet durante una semana, el extracto final se congeló y se liofilizó para su posterior utilización. Los animales fueron preparados quirúrgicamente bajo anestesia registrando la presión arterial por la arteria femoral y la administración de fármacos (extracto liofilizado de *A. indica* en dosis de: 5,10,20,40,80,100, y 200 mg/kg) por vía intravenosa por métodos convencionales, administrando los fármacos cada 30 minutos a dosis crecientes del extracto y las medidas de presión arterial cada 5 minutos. El efecto hipotensor del extracto fue relacionado con la dosis y fue mucho mayor en la diastólica que la presión sistólica. Cada nivel de dosis del extracto aumentó el ancho de pulso arterial en estos animales, mientras que disminuye la frecuencia del pulso. Dando como resultados un efecto hipotensor en todas las dosis.

En el perro anestesiado, la administración intravenosa del extracto produjo un aumento inicial en la presión arterial, seguida por una prolongada caída por debajo del nivel normal. (Arigbadu & Don-Pedro, 1971).

El aumento de la presión arterial observado en cobayas causada por bajas dosis del extracto apoya la sugerencia (Arigbadu & Don-Pedro, 1971) que el extracto puede tener un efecto bifásico sobre la presión arterial. En ambas especies, la caída de la presión arterial se acompañó por un aumento en la anchura de pulso. Esta observación también confirma hallazgos previos y sugiere que la caída prolongada de la presión arterial se debe al efecto del extracto sobre el músculo liso vascular, probablemente dando lugar a una vasodilatación algo persistente debido a una reducción en el tono de las arteriolas.

La frecuencia cardíaca se mantuvo casi constante en el conejillo de indias, mientras que fue una disminución ligera pero progresiva en el conejo. Estos datos indican diferencias entre especies en el efecto del neem. Una acción de depresión directa del compuesto es una explicación del mecanismo insostenible de desaceleración cardíaca en vista de los aumentos observados en la anchura de pulso, que puede ser evidencia de un efecto inotrópico positivo.

Los experimentos actuales no proporcionan una explicación satisfactoria de los mecanismos implicados, pero el efecto cronotrópico negativo de la droga parece ser beneficioso en este respecto.

- R. R. Chattopadhyay, estudió el efecto cardiovascular del extracto hidroalcohólico del Neem en gatos. Los gatos machos ($n = 14$) con un peso 2.5-3.0 kg fueron seleccionadas para los experimentos. Bajo anestesia con éter, el gato se mantuvo sobre la mesa experimental y fue canulada la vena femoral con una cánula de polietileno. Esta cánula se utilizó posteriormente para toda la administración del fármaco. Cloralosa (60 mg/kg I.V.) se inyectó por mantenimiento de la anestesia. Una incisión central se hizo en la parte delantera del cuello. La tráquea y las arterias carótidas comunes fueron disecadas. Una cánula traqueal se introdujo en la tráquea y una cánula arterial llena con anticoagulante (heparina) fue atada en la arteria carótida común. La presión arterial se registró a través de un manómetro en una quimógrafo en movimiento.

La estabilidad de la preparación se ensayó con dosis estándar de agonistas conocidos, por ejemplo acetilcolina ($1 \mu\text{g} / \text{kg}$) y adrenalina ($1 \mu\text{g}/\text{kg}$). Dosis graduales de extracto de hoja (25, 50, 100, 200 y 400 mg/ kg) se administraron a través de la vena femoral y los efectos sobre la presión arterial media se registraron.

Para estudiar el efecto del extracto de hojas de *A. indica* sobre el alfa y beta adrenérgico, los receptores colinérgicos e histaminérgicos, se administró una dosis de 200 mg/kg de extracto de la hoja dos minutos antes de cada uno de los siguientes medicamentos: nitrato de noradrenalina (NA) ($2 \mu\text{g}/\text{kg}$), isoprenalina ($2 \mu\text{g} / \text{kg}$), la acetilcolina (ACh) ($1 \mu\text{g}/\text{kg}$) y la histamina ($2 \mu\text{g}/\text{kg}$), respectivamente.

En otra serie de experimentos, fue administrada sulfato de atropina (1,5 mg/kg) para bloquear la respuesta muscarínica de los receptores ACh, y se administró después el extracto de hoja de *A. indica* (200 mg/kg). Se administró también, en experimentos por separado, Maleato feniramina (7,5 mg/kg), un antagonista potente de la histamina, para bloquear la caída de histamina inducida por la presión de la sangre antes de la administración de extracto de hoja de *A. indica*. Para determinar la posibilidad de la activación del receptor beta-adrenérgico, se inyecta propanolol (2 mg/kg) antes de la administración del extracto de la hoja de *A. indica* (200 mg/kg).

Mediante estos experimentos obtuvo como resultados que el extracto de *A. indica* hoja extracto produce una fuerte caída, y de poca duración, de la presión sanguínea con un aumento progresivo de la dosis. La presión arterial volvió al nivel normal dentro de 2-3 minutos. Además de que, el extracto de hoja de *A. indica* (200 mg/kg) no altera la sensibilidad de los receptores alfa y beta adrenérgico, colinérgicos o histaminérgicos. Y que un antagonista del receptor de alta, bloqueador beta y atropina no tuvo efecto sobre el efecto hipotensor del extracto de *A. indica*. Presumiendo que los flavonoles-O-glucósidos parte de los componentes del extracto, pueden ser responsables de la cardio-depresión y de la actividad hipotensora. Y que el mecanismo aún no puede ser explicado.

3.2.- JUSTIFICACIÓN

Alrededor del 8.2% de la población entre 20 y 69 años padece diabetes. En el 2010, se estimó que alrededor de 220 millones de personas eran diabéticas en el mundo y que llegarán a 370 millones en 2030 (OMS, 2010). En México se estima que 3.5 millones de personas sufren de DM (10% población adulta), cifra que se ha duplicado en las últimas dos décadas.

Una dieta controlada, terapia de insulina y fármacos hipoglucemiantes puede ser la manera de tratar la diabetes mellitus pero el uso prolongado de la terapia con insulina puede causar resistencia, de manera similar los agentes hipoglucemiantes no previenen todas las complicaciones de la diabetes. Por lo que resulta de gran importancia buscar otras alternativas.

La medicina a base de plantas ha sido conocida y utilizada por el hombre durante siglos para el tratamiento de múltiples padecimientos. La eficacia terapéutica de muchas plantas autóctonas ha sido descrita por los profesionales de la medicina tradicional. Plantas medicinales antidiabéticas se han utilizado para tratar la diabetes antes de la década de 1920 (Roberts). Shipro y Gong (2002) enumeró una serie de plantas para controlar el nivel de glucosa en la sangre, como Neem (*Azadirachta indica*) que es una planta autóctona de la India.

En la actualidad es impresionante la cantidad de pacientes que recurren a la medicina tradicional. En México, cerca del 62% de los pacientes diabéticos recurren a la Medicina Complementaria y Alternativa (MCA) y de estos el 94.2% prefieren medicina herbolaria (Argáez-López, et. al. 2003).

El neem es una planta que tiene múltiples propiedades, de las que destaca su actividad hipoglucemiante y no sólo eso sino también su capacidad para controlar de manera significativa la presión arterial, una de las tantas consecuencias de la DM que cobra la vida de muchas personas en el mundo.

Por lo anteriormente expuesto, es importante el estudio sistemático de las plantas medicinales en el tratamiento de distintas enfermedades. Específicamente, queda plenamente justificado el estudio del Neem para evaluar su utilidad, eficacia y acciones en las complicaciones de la diabetes mellitus como la propia hiperglicemia y las alteraciones cardiovasculares.

3.3.- HIPOTESIS

El extracto alcohólico de *Azadirachta Indica* reduce la hiperglicemia y disminuye las complicaciones cardiovasculares en un modelo de diabetes mellitus experimental.

3.4.- OBJETIVOS

3.4.1.- GENERAL

Determinar el efecto del extracto de hojas secas de *Azadirachta indica* en la hipertensión producida por la diabetes mellitus.

3.4.2.- PARTICULARES

1. Preparar extracto alcohólico de *Azadirachta indica*.
2. Evaluar la eficacia de la inducción de la *diabetes mellitus*.
3. Corroborar la eficacia hipoglucemiante que tiene el extracto de hojas secas de *Azadirachta indica* en el modelo de *diabetes mellitus*.
4. Determinar el efecto de la diabetes mellitus sobre la presión arterial.
5. Evaluar el efecto del extracto alcohólico y de glibenclamida sobre los cambios de presión arterial inducidos por la *diabetes mellitus*.
6. Analizar el efecto del extracto o de la glibenclamida sobre los cambios de presión arterial inducidos por la fenilefrina, acetilcolina y el nitroprusiato de sodio.

IV.- METODOLOGIA

4.1.- OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ALCOHOLICO

Las hojas frescas maduras se obtuvieron del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) del Valle de Apatzingán, durante Mayo y Junio de 2011 y el árbol fue identificado botánicamente en el Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas en el Laboratorio de Fitoquímica. Las hojas se dejaron secar a la sombra y al aire libre durante 3 días, después de los cuales se procedió a molerlas en un mortero, reduciendo lo más posible el tamaño de las mismas. Las hojas molidas se dejaron macerar en alcohol etílico al 96% en una proporción de 1 litro de alcohol por cada 100 g de hojas. Se filtró el macerado con algodón y el filtrado se concentró en un rotavapor a 45 °C. A partir del cual se diluye en solución isotónica para conseguir las diferentes concentraciones de las dosis a utilizar aforando a un mililitro (1, 10 y 310 mg/ml). (R. R. Chattopadhyay, 1997).

4.2.- ANIMALES

Se emplearon ratas macho de la cepa Wistar, (8 semanas de edad, 395.23 ± 13.84). Los animales se alojaron en cajas de acrílico a una temperatura ambiental de 25 ± 2 °C y entre 45 a 55% de

humedad relativa, con un ciclo luz-oscuridad de 12 × 12 horas, y alimentadas con agua y alimento *ad libitum* durante todo el estudio.

4.3.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Las ratas se dividieron en 8 grupos experimentales: (1) Grupo control (no diabético). (2) Grupo control diabético. (3) Grupos diabéticos tratados con Neem (1 mg/kg/día, 10 mg/kg/día y 310 mg/kg/día). (4) Grupos diabéticos tratados con Glibenclamida (0.31 mg/kg/día, 1 mg/kg/día y 3.1 mg/kg/día). Los tratamientos con neem o glibenclamida se aplicaron durante 3 semanas por la vía oral a la misma hora del día a partir de las 48 horas posteriores a la inducción de la diabetes con estreptozotocina. A los grupos control se les aplicó el volumen correspondiente de agua de beber. Cada 8 días los animales se pesaron y se le midió los niveles sanguíneos de glucosa.

4.4.- INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus se indujo mediante la aplicación intraperitoneal de 55 mg/kg de Streptozotocina (STZ). La STZ se disolvió en una solución buffer de citrato 0,1 M, pH 4.5 justo antes de la inyección (Akinola et al., 2009). Permitiéndoles a los animales el acceso al agua y el alimento después de la inyección. Los animales se consideraron diabéticos siempre y cuando estos desarrollaran glicemias ≥ 200 mg/dL a las 48 horas posteriores a la aplicación de la STZ. Una vez que se demostró tal situación, los animales se asignaron al azar a cada uno de los grupos experimentales.

4.5.- MEDICIÓN DE LA GLICEMIA.-

Para la determinación de la glicemia en sangre se utilizó un glucómetro (OneTouch Ultra), se obtuvieron muestras de sangre mediante punción del extremo distal de la cola de la rata justo antes de la aplicación de la STZ, 48 horas después de la inducción de la diabetes mellitus y a los 7, 14 y 21 días de iniciado el tratamiento con Neem o glibenclamida. Estos tratamientos se iniciaron a los 2 días de inducida la diabetes. Cada una de las muestras se colocaron en una tira reactiva que se colocó en el glucómetro para registrar la lectura correspondiente; los valores normales para glucosa en sangre por este método son de 75-110 mg/dl

4.6.- DETERMINACIÓN DE LA PRESIÓN ARTERIAL.

Al final del tratamiento con Neem o glibenclamida, las ratas se anestesiaron con pentobarbital sódico (55 mg/kg) vía intraperitoneal. Se colocaron en la cama de experimentación y se les realizó una traqueotomía con el objetivo de mantener permeables las vías aéreas y, en caso de ser necesario, dar respiración asistida (bomba de respiración; Hugo Basile 2cc/100g de peso del animal). Con la finalidad de evitar los reflejos vagales se hizo una vagotomía bilateral. Se prosiguió a canular la vena femoral por donde se administraron los diferentes fármacos y posteriormente la

arteria carótida derecha, empleando una cánula(PE 10) llena con solución de heparina 100 UI/mL(para evitar que la sangre se coagule en la cánula). Esta cánula se conectó a un transductor de presión (Grass), el cual se conectó a su vez a un amplificador de la marca Biopac y con la ayuda de una computadora y un software (AcKnowledge v. 3.9.0) nos permitió registrar en tiempo real la presión sanguínea

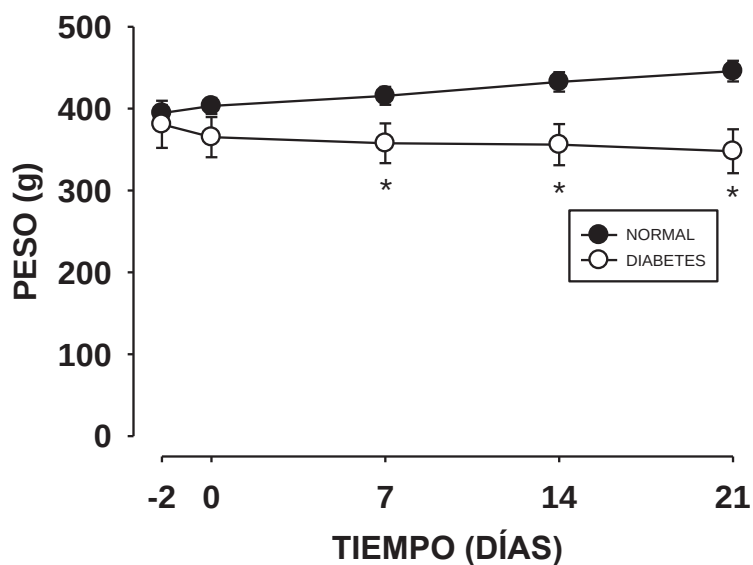
4.7.- CAMBIOS EN LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDOS POR LA FENILEFRINA, LA ACH Y EL NITROPRUSIATO DE SODIO.

Se realizaron curvas dosis respuesta a la fenilefrina (1 $\mu\text{g/kg}$ a 31 $\mu\text{g/kg}$), nitroprusiato de sodio (0.01 $\mu\text{g/kg}$ a 3.1 $\mu\text{g/kg}$) y a la Acetilcolina (0.01 $\mu\text{g/kg}$ a 3.1 $\mu\text{g/kg}$) Cada una de las dosis se administró a través de la cánula femoral, mediante el uso de soluciones de distintas concentraciones de cada uno de los agentes probados. La selección de la dilución dependió del tamaño de la dosis, de tal forma que se aplicara un bolo intravenoso de 0.1 mL por cada 100 g de peso corporal de la rata.

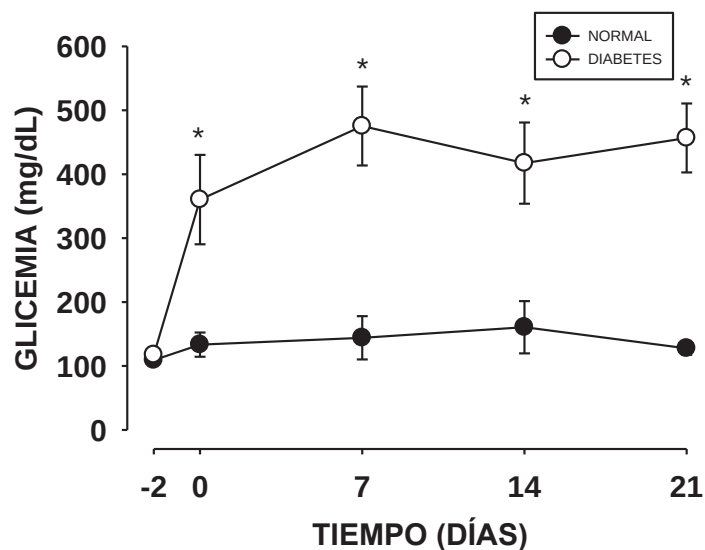
Los resultados fueron capturados y analizados con ayuda del programa AcqKnowledge 3.9.0. Se determinó la presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD) siendo ésta última de nuestro interés debido a que nos indica diferencia en la respuesta vascular periférica y de la cual se obtuvieron los incrementos para realizar las graficas correspondientes.

V.- RESULTADOS

5.1.- EFICACIA DE LA INDUCCIÓN DE LA *DIABETES MELLITUS* EXPERIMENTAL.



Gráfica 1.- Evolución del peso corporal de las ratas 2 días antes, el día de la inducción de la *diabetes mellitus* (tiempo 0) y a los 7, 14 y 21 días postinducción. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de la media de 6 ratas. * $p < 0.05$.



Gráfica 2. Evolución de la glicemia de las ratas 2 días antes, el día de la inducción de la *diabetes mellitus* (tiempo 0) y a los 7, 14 y 21 días postinducción. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de la media obtenida de 6 ratas. * $p < 0.05$.

De acuerdo con el protocolo experimental a cada una de las ratas se les midió la glucosa y se les pesó en el momento de la inducción de la diabetes y a las 48 horas después de ésta, así como a 7, 14 y 21 días de iniciado el tratamiento con vehículo, neem o glibenclamida. Los valores de los pesos y las glicemias de las ratas se resumen en las gráficas 6.1 y 6.2. Se aprecia en la primera gráfica que el tratamiento con estreptozotocina no solo evita la ganancia de peso que ocurre normalmente sino que induce una reducción del peso corporal de las ratas de manera tiempo dependiente a partir de la inducción de la diabetes mellitus y en forma significativa ($p<0.05$). Con respecto a la glicemia, la administración de la estreptozotocina la incrementa en forma significativa ($p<0.05$) desde el mismo día de la aplicación y se mantiene a lo largo del protocolo de estudio (hasta los 21 días).

Se observa claramente como la glicemia en ratas sanas tiene un nivel entre los rangos normales (90-120 mg/dl), mientras que las ratas diabéticas presentan un aumento desde la inducción de la enfermedad hasta el termino del experimento. Esto comprueba la efectividad de la DME que les ha sido inducida.

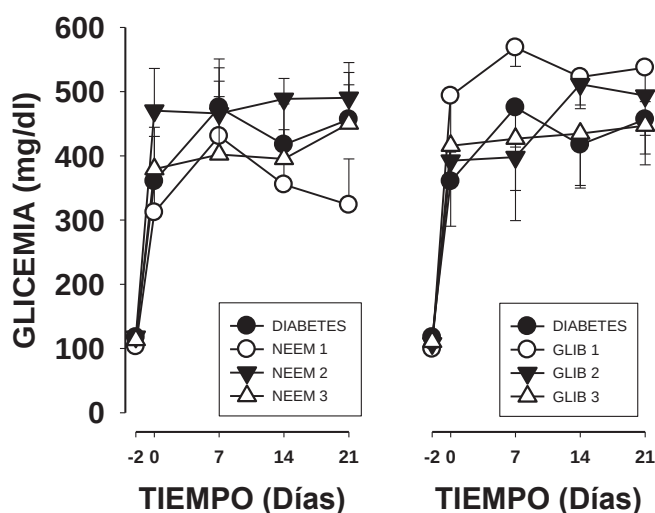
5.2.- EL EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL PESO CORPORAL DE LAS RATAS.

Tabla 4.- Efecto del tratamiento con distintas dosis de neem (1, 10 y 310 mg/Kg) o glibenclamida(0.31, 1, 3.1 mg/Kg) sobre el peso de las ratas control y diabéticas. Cada valor representa el promedio $\pm$ el error estándar de la media de 6 ratas. * $p<0.05$ vs grupo diabético (DM).

GRUPO	ANTES DEL TRATAMIENTO		DESPUÉS DEL TRATAMIENTO		PERDIDA O GANANCIA	P<0.05
	Media	E.E.	Media	E.E.	Diferencia	
CONTROL	394.5	9.95	445.80	12.69	51.30	si
DM	380.8	28.74	348.00	26.81	-32.80	no
NEEM (1 mg/Kg)	402.25	8.73	348.80	26.98	-53.45	no
NEEM (10 mg/Kg)	393	17.39	319.33	23.36	-73.67	si
NEEM (310 mg/Kg)	385.8	19.01	302.00	14.43	-83.80	si
GLIB (0.31 mg/Kg)	396.33	14.75	331.00	30.44	-65.33	no
GLIB (1 mg/Kg)	390.5	8.97	326.00	16.44	-64.50	si
GLIB (3.1 mg/Kg)	418.67	3.18	350.33	27.03	-68.64	no

En la anterior (tabla 4) se puede apreciar que en condiciones normales (grupo control) hay una ganancia en el peso corporal al comparar el peso justo antes del momento en que se aplicó los tratamientos contra el peso después de dichos tratamientos. En los grupos Neem 10 mg/kg, Neem 310 mg/kg y Glibenclamida 1 mg/kg presentan una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo sin tratamiento (DM).

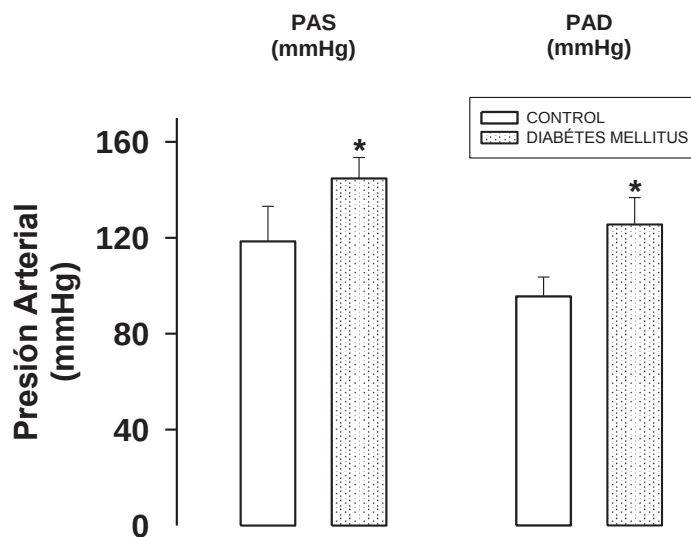
5.3.- EFECTO DEL EXTRACTO DE NEEM O LA GLIBENCLAMIDA SOBRE LA HIPERGLICEMIA INDUCIDA POR LA ESTREPTOZOTOCINA.



Gráfica 3.- Evolución de la glicemia de las ratas 2 días antes, el día de la inducción de la *diabetes mellitus* (tiempo 0) y a los 7, 14 y 21 días postinducción con tratamiento del extracto alcohólico de Neem a diferentes dosis (1, 31 y 310 mg/kg) y Glibenclamida (0.31, 1 y 3.1 mg/kg). Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de la media obtenida de 6 ratas. * $p < 0.05$.

En la gráfica 3 se aprecia el efecto del tratamiento con neem o glibenclamida sobre el curso temporal de la glicemia en ratas diabéticas. No existe un efecto hipoglucemiante en ninguna de las dosis en ningún día del tiempo de tratamiento.

5.4.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.



*Gráfica 4.- Efecto de la diabetes mellitus sobre la presión arterial sistólica y diastólicas. Cada punto representa el promedio $\pm$ el error estándar de 5 Experimentos. * $p < 0.05$*

La diabetes mellitus experimental da como resultado no sólo una reducción en el peso corporal y una hiperglicemia sino también un aumento en la Presión Arterial, tanto Sistólica como Diastólica (gráfica 4). Como es de esperar, se puede apreciar en la figura que las ratas control se encontraron en condiciones de normotensión (90-120 mmHg). Mientras que las ratas a las que les fue inducida la diabetes mellitus experimental tuvieron un aumento significativo ($p < 0.05$) de los valores de Presión Arterial tanto Sistólica como Diastólica.

5.5.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL INCREMENTO DE LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.

Tabla 5.- Promedio de Presiones Arteriales basales tanto Sistólicas (PAS) como Diastólicas (PAD) en los grupos control, DM, y diabéticos con los diferentes tratamientos. Cada valor representa el promedio $\pm$ el error estándar de 6 experimentos. * $p < 0.05$.

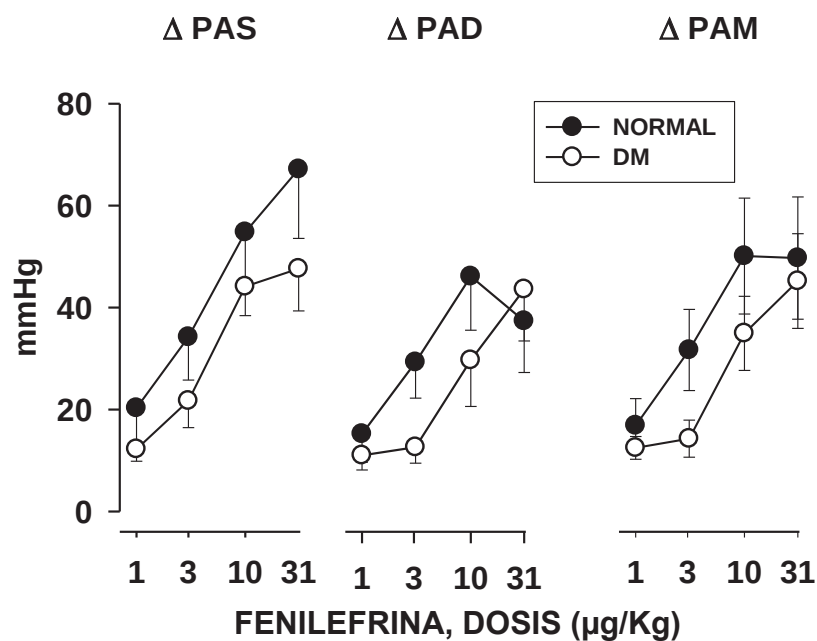
GRUPO	Presión Sistólica		P<0.05 vs DM	Presión Diastólica		P<0.05 vs DM
	Media	E.E.		Media	E.E.	
DM	144,75	8.71182147	-	125,5	11.2286835	-
Control	118,5	14.6144905	Sí	95,5	8.06742421	Sí
Neem (1 mg/Kg)	129,5	13.5061714	No	107,25	16.8985946	No
Neem (10 mg/Kg)	114,8	6.80734897	Sí	95,6	4.97594212	Sí
Neem (310 mg/Kg)	120,6	28.7595395	No	106,3	25.8736245	No
Glib (0.31 mg/Kg)	143,4	19.5642531	No	102,4	14.4416066	No
Glib (1 mg/Kg)	121,6	9.29838696	No	106	6.3007936	No
Glib (3.1 mg/Kg)	162,7	6.25	No	136	3.93700394	No

Durante la experimentación se dejó un tiempo considerable de 20-30 minutos para la estabilización de la Presión Arterial, cuyo valor tomamos como Basal. Los valores obtenidos nos muestran que el grupo control se mantiene dentro del rango de normotensión (90-120 mmHg) mientras que el grupo de ratas diabéticas sin tratamiento (DM) presentan hipertensión con valores por encima de los normales.

Las ratas que recibieron tratamiento con neem reducen de forma significativa y dependiente de la dosis el incremento de la presión arterial inducido por la diabetes.

En lo que concierne a los grupos de ratas tratados con glibenclamida se puede apreciar que este tratamiento no modifica significativamente el incremento de la presión arterial inducido por la diabetes. tanto en el grupo de Glib 1 (0.31 mg/kg) y Glib 3 (310 mg/kg) se encuentran por encima del rango de normotensión tanto en la PAS como en la PAD, mientras que el grupo de Glib 2 (1 mg/kg) arrojó un promedio de PAS dentro del rango normal y una PD por encima del mismo.

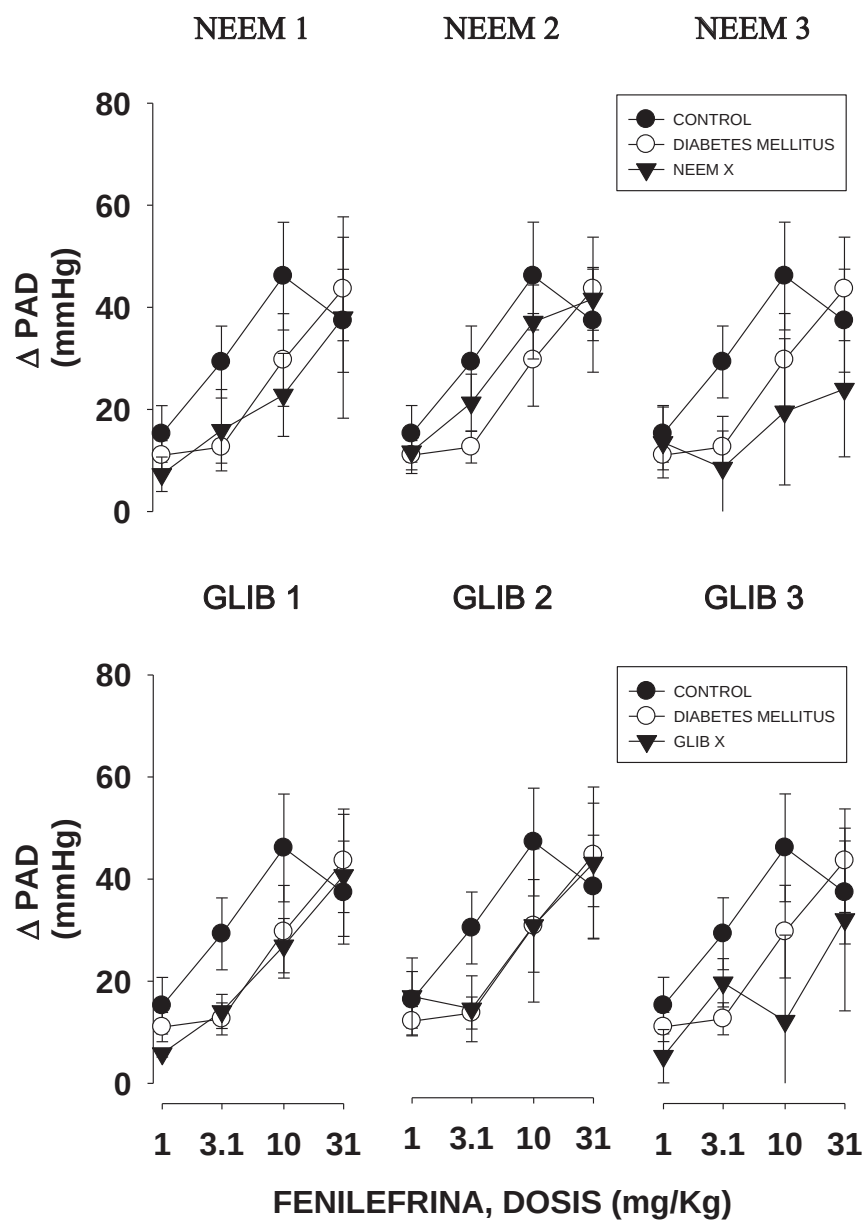
5.6.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA REACTIVIDAD A LA FENILEFRINA.



Grafica 5.- Valores de incrementos de Presión Arterial Sistólica, Diastólica y Mediaa diferentes dosis de Fenilefrina (1, 3.1, 10 y 31 mg/kg) en ratas control y ratas con diabetes mellitus inducida.

La reactividad a la fenilefrina se ve afectada de acuerdo a la presencia o ausencia de diabetes mellitus, puesto que esta patología provoca el deterioro de los vasos sanguíneos lo que trae como consecuencia una disminución en la reactividad a éste fármaco a 21 días de progreso de la enfermedad.

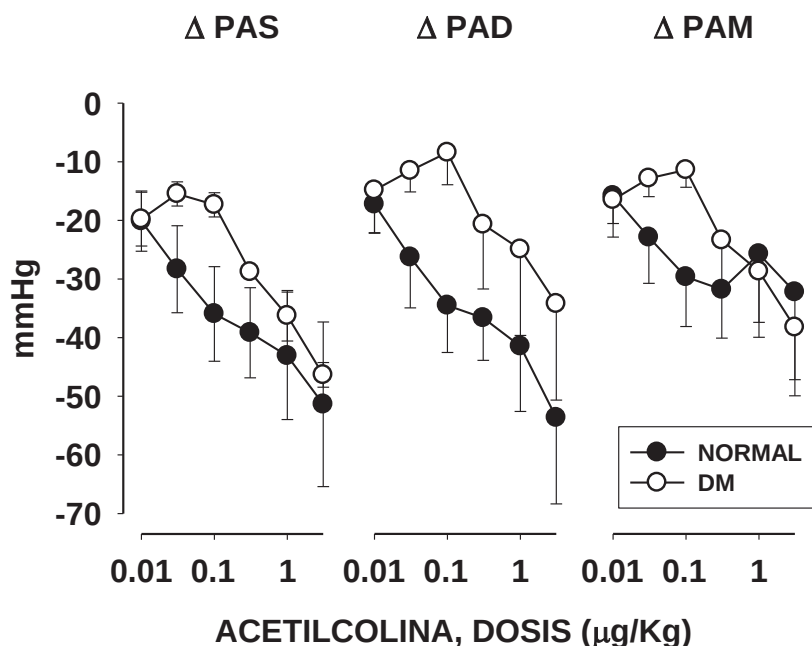
5.7.- EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE LA DISMINUCIÓN EN LA REACTIVIDAD A LA FENILEFRINA INDUCIDA POR LA DIABETES MELLITUS.



Gráfica 6.- Valores de incrementos de Presión Arterial Diastólica a diferentes dosis de Fenilefrina (1, 3.1, 10 y 31 mg/kg) en ratas Control, con Diabetes Mellitus inducida y las sometidas a los diferentes tratamientos Neem 1 (1 mg/kg), Neem 2 (10 mg/kg), Neem 3 (310 mg/kg), Glib 1 (0.31 mg/kg), Glib 2 (1 mg/kg) y Glib 3 (3.1 mg/kg).

La primera parte de esta gráfica, tratamiento con Neem, se muestra como las tratadas con Neem 1 (1 mg/kg) y Neem 3 (310 mg/kg) muestran una tendencia a no modificar de manera considerable la reactividad a fenilefrina, mientras que los sometidos al tratamiento con Neem 2 (10 mg/kg) puede apreciarse que, comparada con las que no fueron sometidas a tratamiento, la reactividad a la fenilefrina se eleva notoriamente. En la segunda parte de esta gráfica, tratamiento con glibenclamida, se muestra como la glibenclamida en sus dosis 1 (0.31 mg/kg) y 2 (1 mg/kg) no muestran diferencias significativas en cuestión de la reactividad, mientras que la dosis 3 (3.1 mg/kg) de éste fármaco provoca una ligera variación en dicha reactividad.

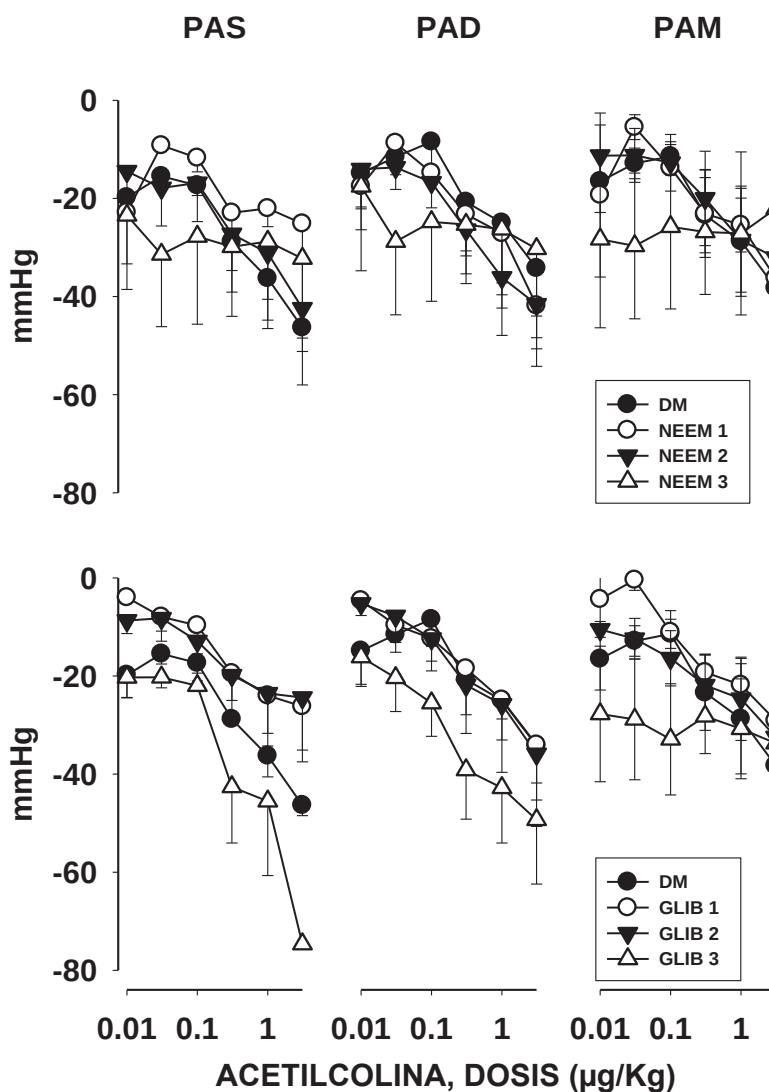
5.8.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LOS CAMBIOS EN LA REACTIVIDAD VASCULAR INDUCIDOS POR LA ACETILCOLINA.



Gráfica 7.- Valores Incrementos de Presión Arterial Sistólica, Diastólica y Media de Ratones Control y Ratones con Diabetes Mellitus Experimental a diferentes Dosis de Acetilcolina (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1 mg/kg).

Tanto la presión arterial Sitólica y Media no se aprecia diferencia significativa comparando el grupo de ratas diabéticas y ratas control, aunque se puede observar un leve incremento en la reactividad de la Acetilcolina. Es en la Presión Arterial Diastólica donde se observa una diferencia significativa entre ambos grupos, produciendo valores de presión superiores en el caso del grupo de ratas control comparado con el grupo de diabetes mellitus.

5.9.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LA ACETILCOLINA INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS.

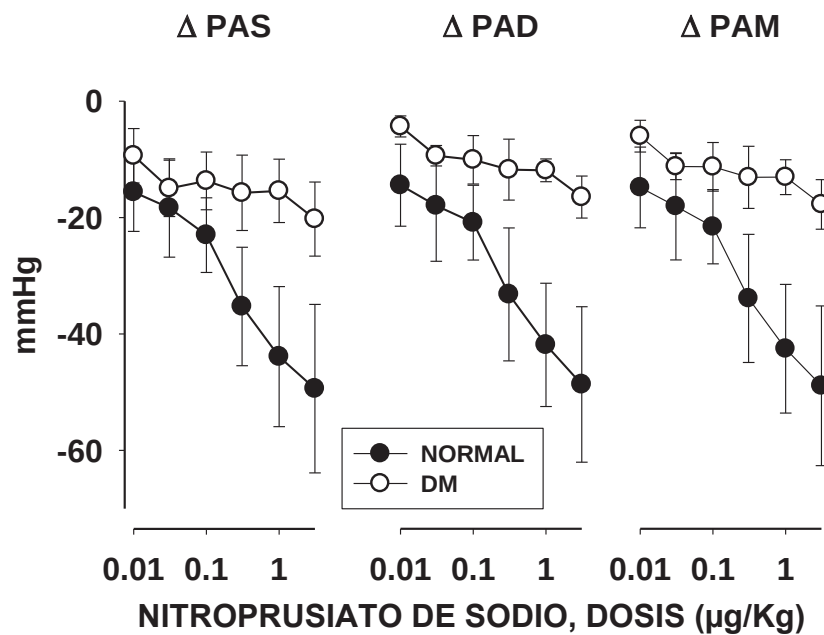


Gráfica 8.- Incrementos de Presión Arterial Sistólica, Diastólica y Media de los grupos de ratas con tratamiento (Neem y Glibenclamida) vs Diabetes Mellitus, a diferentes dosis de Acetilcolina (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1 y 3.1 mg/kg)

La primera parte (tratamiento con Neem), en las tres presiones (PAS, PAD Y PAM) no se aprecia una diferencia notoria en comparación las del grupo con Diabetes Mellitus, en la PAS son prácticamente iguales solo con una pequeña diferencia las tratadas con Neem 3, mientras que en la PAD y PAM son también la tratadas con Neem 3 quienes presentan una diferencia con respecto a las control negativo, con un aumento a la reactividad a Acetilcolina.

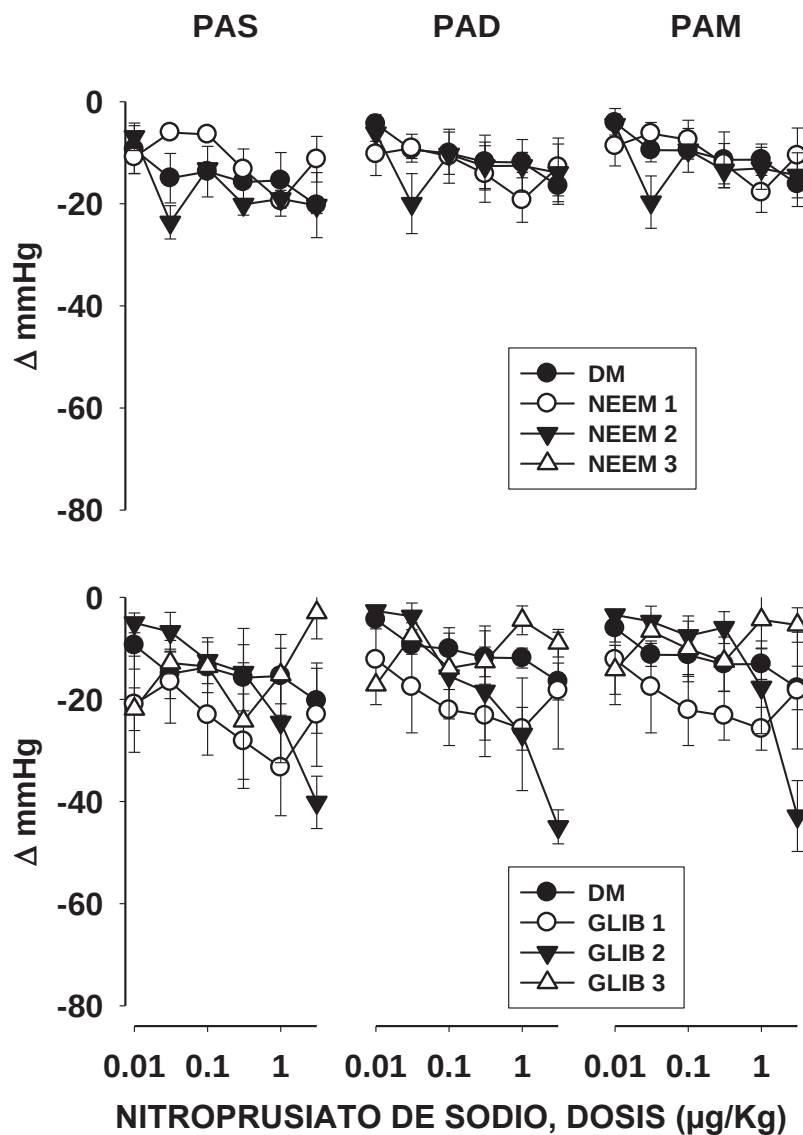
Por otra parte, las tratadas con glibenclamida (segunda parte de la grafica 6.8), no se observan diferencias significativas salvo las tratadas con Glibenclamida 3 (3.1 mg/kg) quienes presentan una mayor reactividad al fármaco en cuestión.

5.10.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE EL EFECTO HIPOTENSOR INDUCIDO POR EL NITROPRUSIATO DE SODIO.



Gráfica 9.- Valores Incrementos de Presión Arterial Sistólica, Diastólica y Media de Ratras Control y Ratras con Diabetes Mellitus Experimental a diferentes Dosis de Nitroprusiato (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1, 3.1 mg/kg).

5.11.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DEL NITROPRUSIATO DE SODIO INDUCIDA POR LA DIABETES MELLITUS.



Gráfica 10.- Incrementos de Presión Arterial Sistólica, Diastólica y Media de los grupos de ratas con tratamiento (Neem y Glibenclamida) vs Diabetes Mellitus, a diferentes dosis de Acetilcolina (0.01, 0.031, 0.1, 0.31, 1 y 3.1 mg/kg)

VI.- DISCUSIÓN

6.1.- EFICACIA DE LA INDUCCIÓN DE LA DIABETES MELLITUS:

Como se mostró en las gráficas 1 y 2, la diabetes mellitus experimental generada por la inducción de una sola dosis de Estreptozotocina (STZ) genera tanto hiperglicemia como una pérdida de peso considerable. La STZ al destruir las células β del páncreas y con ello producir una diabetes tipo 1 (González, 2002), en éste tipo de diabetes el cuerpo deja de producir la hormona insulina, necesaria para utilizar glucosa, la forma principal de azúcar en la sangre. Como se sabe, la glucosa proviene de los alimentos que se consumen y es la fuente principal de energía necesaria para estimular las funciones del cuerpo humano. Y debido a que el organismo no puede utilizar la glucosa apropiadamente ésta la deshecha en la orina lo que origina la pérdida de peso y una hiperglucemia sanguínea.

De esta manera corroboramos que el método utilizado es efectivo para la inducción de diabetes mellitus experimental, ya que produce las consecuencias características de este padecimiento y del tipo 1.

6.2.- EL EFECTO DEL EXTRACTO ALCOHOLICO DE NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL PESO CORPORAL DE LAS RATAS.

En el modelo empleado el Neem carece de influencia sobre el peso corporal de las ratas diabéticas. Según lo reportado por M.W. Rahman y colaboradores, el extracto es capaz de producir un aumento de peso en ratas normales pero tal parece que la inducción de la DME evita dicha ganancia de peso obtenido en condiciones normales pues según lo observado en nuestro protocolo no lo hacen en ratas diabéticas.

Según los datos obtenidos, tabla 2, las ratas con tratamiento en donde se aprecia diferencia con respecto a las que no recibieron tratamiento fueron las tratadas con Neem 10 mg/kg, Neem 310 mg/kg y Glibenclamida 1 mg/kg, teniendo estos grupos una mayor pérdida de peso que el grupo de ratas que no recibió ningún tipo de tratamiento. Teniendo como referencia que la STZ tiende a producir una reducción de peso corporal producto de la insuficiencia insulínica, el citado efecto no es revertido por la administración del tratamiento con Neem y tampoco con Glibenclamida.

6.3.- EFECTO DEL EXTRACTO DE NEEM O LA GLIBENCLAMIDA SOBRE LA HIPERGLICEMIA INDUCIDA POR LA ESTREPTOZOTOCINA.

La STZ, como ya explicó, es capaz de destruir gran parte de las células beta del páncreas y éstas al ser las encargadas de producir la insulina traerán como consecuencia una hiperglicemia puesto que la insulina es quien hace posible el aprovechamiento de la glucosa al interior de las células.

Con el método de diabetes mellitus experimental que usamos y el protocolo que seguimos, el Neem y la Glibenclamida carecen de efecto hipoglucémico considerable. No hay diferencia estadísticamente significativa entre los valores de glicemia de las ratas sometidas a tratamiento (Glibenclamida y Neem) y las ratas sin tratamiento.

Shradha Bisht y colaboradores sugieren que el Neem tiene esta actividad anti-hiperglucémica usando STZ (50 mg/kg), pero con un tratamiento más prolongado de 40 días. En nuestro trabajo no fue posible visualizar dicho efecto quizá debido a las diferencias en el planteamiento del protocolo experimental tanto los días de tratamiento como las dosis usadas.

6.4.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA PRESIÓN ARTERIAL.

Como ya se dijo anteriormente, con la administración de STZ se produce una DM tipo 1 en la que la elevación de la presión arterial suele aparecer después del establecimiento de la microalbuminuria. Es necesario asumir que aproximadamente el 50% de los diabéticos tipo 1 desarrollarán un cuadro de nefropatía. La elevación de la presión arterial, en estos casos de nefropatía establecida; se observa un 15-25% de los pacientes con microalbuminuria y alcanzan hasta el 75-85% de los pacientes con insuficiencia renal, está condicionada fundamentalmente por dos alteraciones: a) Por el aumento en la retención de sodio y en consecuencia por el incremento del volumen plasmático, ambos fenómenos secundarios a la disminución de la función renal. b) Por una elevación de la resistencia periférica secundaria al proceso de arteriosclerosis que se desarrolla de forma paralela a la progresión de la nefropatía. La dislipidemia es el 2do factor más importante definida por la presencia de hipertrigliceridemia, aumento de VLDL, disminución de HDL y aumento de LDL con elevación en el territorio circulatorio de partículas (LDL pequeñas y densas), no reconocidas por el receptor LDL-hepático y captadas por los macrófagos facilitando el desarrollo de células espumosas en la placa de ateroma. En la DM tipo 1 es frecuente que las alteraciones lipídicas se regularicen una vez controlada la hiperglucemia con la insulina. Por ello las concentraciones séricas de lípidos son similares a la de los individuos no diabéticos. (M. Serrano Ríos, 2004).

Esto básicamente nos habla de que son diversas las causas por las que se presenta la HTA en la patología de DM y que ésta incrementa 4 veces el riesgo de esta alteración cardiovascular. Y con este modelo se puede apreciar cómo es que la presión se eleva al cabo de 21 días postinducción, lo que nos habla que es un modelo de diabetes mellitus que produce hipertensión.

6.5.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O GLIBENCLAMIDA SOBRE EL INCREMENTO DE LA PRESIÓN ARTERIAL INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL.

Las ratas sometidas a tratamiento con Neem pudieron conservar valores de presión arterial basal dentro de los normales (90-120 mmHg), apreciando una disminución mayor en los valores de PAD que en la PAS comparados con los obtenidos en el grupo de ratas diabéticas que no recibieron tratamiento, lo que corrobora los resultados obtenidos por Emmanuel B. Thompson y Comfort C.

Anderson que sugerían que el extracto de Neem tenía efectos a nivel cardiovascular y que tenía una influencia mayor sobre la presión arterial diastólica.

Otro dato interesante es que estos valores de las ratas diabéticas tratadas con Neem, las tratadas con la dosis de 10 mg/kg fueron quienes tienen una diferencia estadísticamente significativa con respecto a las que no recibieron ningún tipo de tratamiento lo que nos habla que es en esta dosis donde se produce un mejor efecto anti-hipertensivo.

Este modelo, como ya se mencionó, produce hipertensión en las ratas con DME, este efecto es revertido con el tratamiento de Neem pero no con Glibenclamida, lo que es un resultado muy interesante.

6.6.- EFECTO DE LA DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL SOBRE LA REACTIVIDAD A LOS DIFERENTES FÁRMACOS USADOS.

Los efectos de la **fenilefrina** (gráfica 5) nivel cardiovascular son principalmente en los vasos sanguíneos, lo que provoca un incremento en las resistencias vasculares periféricas y por lo tanto un aumento de la presión arterial. En este sentido, el valor de la PAD se relaciona con las resistencias periféricas. Por esta razón, no es raro que la DM afecte más importantemente a la PAD.

En el caso de la **ACh** (gráfica 7), la administración de esta trae como consecuencia tanto efectos cardíacos como vasculares. A nivel de corazón, reduce tanto la fuerza como la frecuencia lo que provoca una reducción del gasto cardíaco; a nivel de vasos, ejerce un efecto vasodilatador indirecto a través del endotelio vascular y del óxido nítrico liberado por este tejido. Por esta razón, es importante aquí analizar tanto la PAS (que refleja la fuerza contráctil del corazón y es un reflejo del gasto cardíaco) como la PAD (como se mencionó anteriormente es un reflejo de las resistencias periféricas). Por lo tanto, la administración de la ACh provoca una disminución de la presión arterial por reducir tanto el gasto cardíaco como las resistencias periféricas. La DM inducida provoca también una disminución a la reactividad a la Acetilcolina.

El **Nitroprusiato de Sodio** (gráfica 9) actúa relajando la fibra muscular de los vasos de resistencia y capacitancia. Es metabolizado en la propia célula a óxido nítrico, que activa la guanilato ciclasa lo cual genera formación de GMPc y en consecuencia vasodilatación. Dilata tanto las arteriolas como vénulas, desencadena taquicardia refleja, sin aumento del gasto cardíaco, ya que la venodilatación, disminuye el retorno venoso. En general conservan el flujo sanguíneo renal y la filtración glomerular, y aumenta la actividad de renina plasmática. A nivel coronario, puede generar robo coronario. No obstante, es útil en la insuficiencia cardíaca del infarto agudo de miocardio con hipertensión.

Se aprecia a simple vista, que en la reactividad de los tres fármacos hay una diferencia considerable comparando las ratas diabéticas que recibieron tratamiento (neem o glibenclamida) con las que no recibieron ningún tipo de tratamiento, pero estadísticamente no hay diferencia lo

que nos habla que la DM inducida no afecta la reactividad a estos fármacos lo que quiere decir que no afecta la sensibilidad de estos receptores.

6.7.- EFECTO DEL TRATAMIENTO CON NEEM O CON GLIBENCLAMIDA SOBRE LA REDUCCIÓN DEL EFECTO HIPOTENSOR DE LOS DIFERENTES FÁRMACOS INDUCIDO POR LA DIABETES MELLITUS.

Con respecto a las ratas control, las tratadas con Neem y Glibenclamida, en sus diferentes dosis, no evitan la disminución de la reactividad a **fenilefrina** provocada por la DM (gráfica 6). Sólo en la dosis de Neem 10 mg/kg se nota una leve resistencia al cambio de reactividad colocándose por encima de los valores que arrojan las ratas diabéticas sin tratamiento pero ligeramente por debajo de las ratas control.

El tratamiento con Neem en dosis de 1 mg/kg y 10 mg/kg no presentaron diferencias notables en la reactividad a la **Ach** (gráfica 8) en comparación con las diabéticas sin tratamiento, pero la dosis de 310 mg/kg se aprecie un ligero cambio en cuestión de la reactividad incrementándola lo que nos podría sugerir que además de actuar sobre los vasos sanguíneos, también se ve involucrado a nivel de corazón. Lo mismo sucede con la dosis más alta de glibenclamida (3.1 mg/kg) que evita de manera considerable la disminución a la reactividad a la Ach provocada por la diabetes mellitus.

Las dosis de Neem 10 mg/kg y Glibenclamida 0.31 mg/kg y 1 mg/kg, generan una ligera resistencia al cambio de reactividad a **Nitroprusiato** (gráfica 10). Por lo que se puede sugerir que la regulación de presión arterial pudiera estar dada por la liberación de óxido nítrico.

El extracto de A. Indica no altera la sensibilidad de los receptores adrenérgicos y colinérgicos. Estos resultados obtenidos nos comprueban lo que R. R. Chattopadhyay concluyó en sus estudios realizados.

VII.- PERSPECTIVAS DEL TRABAJO.-

Usando el mismo modelo experimental, rata anestesiada, podría estudiarse cuál es el efecto que produce el extracto alcoholico de *Azadirachta indica* cuando se administra de manera directa sobre la vena femoral, diluyéndolo en solución salina para facilitar la distribución. Administrando diferentes dosis del extracto y 30 minutos después administrar algunos agonistas como la Fenilefrina, Ach y Nitroprusiato. Las ratas a utilizar podrían ser diabéticas de manera previa o en el momento de la experimentación administrar mediante infusión una carga de glucosa para hacer la comparación de cómo es que la glucosa influye sobre el efecto directo del extracto alcoholico del Neem.

Sería conveniente de igual manera poder hacer unas leves modificaciones al protocolo poniendo por ejemplo una infusión de hojas del Neem en el agua de beber de las ratas, previamente con diabetes inducida con STZ. Y medir la glicemia mínimo dos veces al día, además de monitorear también el peso y al final de los 21 días de tratamiento someterlas al mismo montaje experimental para medir su presión arterial.

Además también, para dilucidar cómo es que el extracto de *Azadirachta indica* produce el efecto, inducir la DME con la dosis mínima necesaria. De tal manera que queden células β del páncreas sin destruir y otras más con una dosis mayor que garantice que se han destruido por completo. Pues una de las sugerencias es que el Neem actúa regenerando dichas células pero habría que comprobarlo.

Y una vez estudiado el mecanismo por el cual produce sus efectos a nivel cardiovascular e hipoglucemicos, trabajar de manera química para poder aislar cada uno de sus componentes para estudiarlos por separado y ver cuál de ellos es el que produce uno u otro efecto, ya que en la literatura está sugerido que es un compuesto que le denominaron *nimbina* el que produce el efecto hipoglucemiante, pero esto habría que comprobarlo y también hacer los estudios pertinentes para descubrir cuál de sus componentes van sobre el sistema cardiovascular.

Al ser una planta muy estudiada pero sin tanto sustento científico, es pertinente al abundar mucho más en su estudio ya que como se puede apreciar hay mucho trabajo por recorrer para poderla considerar como una alternativa segura para el tratamiento de la DM en los humanos.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

- Adolfo Andrade-Cetto a, Helmut Wiedenfeld. "Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 78, No. 1. México. 2001. Pp. 145-149.
- Adolfo Andrade-Cetto A. Helmut Wiedenfeld. "Hypoglycemic effect of *Acosmium panamense* bark on streptozotocin diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 90. No. 1. México. 2003. Pp. 217-220.
- Adolfo Andrade-Cetto, Cristina Revilla-Monsalve, Helmut Wiedenfeld. "Hypoglycemic effect of *Tournefortia hirsutissima* L., on n-streptozotocin diabetic rats". *Journal of Ethnopharmacology*. Vol. 112. No. 1. México. 2007. Pp. 96-100.
- Adolfo Andrade-Cetto, Michael Heinrich. "Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes". México. 2005.
- Agustín Lara, Martín Rosas, Gustavo Pastelín, Carlos Aguilar, Fause Attie, Óscar Velázquez Monroy. "Hipercolesterolemia e hipertensión arterial en México. Consolidación urbana actual con obesidad, diabetes y tabaquismo". *Archivos de cardiología en México*. Vol. 74. No. 3. México. 2004. Pp. 231-245.
- Anita Kochhar, Neha Sharma and Rajbir Sachdeva. "Effect of Supplementation of *Tulsi* (*Ocimum sanctum*) and *Neem* (*Azadirachta indica*) Leaf Powder on Diabetic Symptoms, Anthropometric Parameters and Blood Pressure of Non Insulin Dependent Male Diabetics". India. 2009.
- Backvis G, White D. "Effects on ACE inhibitor combined with a calcium channel blocker on progression of diabetic nephropathy". *J Hum Hypertens* 1997; 11: 35-38.
- Barbería Layana Juan José; Hipertensión arterial y diabetes mellitus. *ANALES Sis San Navarra*. 1998. 21 (supl. 1): 79-89.
- Barquera S, Campos-Nonato I, Hernández L, Villalpando S, Rodríguez-Gilabert C, Durazo R, et al. Hipertensión en adultos mexicanos: resultados de la Encuesta Nacional de Nutrición y Salud 2006. *Salud Publica Mex* 2010; 52 suppl 1:S63-S71.
- Barquera S, Durazo-Arvizu RA, Luke A, Cao G, Cooper RS. Hypertension in Mexico and among Mexican Americans: prevalence and treatment patterns. *J Hum Hypertens* 2008, 22:617-626.
- Boger-Megiddo I, Heckbert SR, Weiss NS, McKnight B, Furberg CD, Wiggins KL, et al. Myocardial infarction and stroke associated with diuretic based two drug antihypertensive regimens: population based case-control study. 2010. 340.
- Champagne, D. E., Koul, O., Isman, M. B., Scudder, G. G. E. and Towers, G. H. N., *Phytochemistry*, 1992, 31, 377–394
- Cristovao F. Lima†, Marisa F. Azevedo†, Rita Araujo†, Manuel Fernandes- Ferreira, Cristina Pereira-Wilson: "Metformin-like effects of *Salvia officinalis*: useful in diabetes prevention". 3-12
- Edge L, Ye X, Zheng D, Silverstein M: The prevalence and pattern of complimentary and alternative medicine use in individuals with diabetes. *Diabetes Care* 25:324– 329, 2002

- Emmanuel b. Thompson and comfort c. Anderson. "Cardiovascular Effects of Azadirachta indica Extract". Journal Pharmaceutical Sciences. Vol. 67. No. 10. E.U.A. 1977. Pp. 1476-1478.
- Emmanuel B. Thompson and Comfort C. Anderson. Cardiovascular Effects of Azadirachta indica Extract. Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 67 No. 10. 1978. 1476-1478.
- Erwin Chiquete, Patricia Nuño González, Arturo Panduro Cerda. "Perspectiva Histórica de la Diabetes Mellitus. Comprendiendo la enfermedad". Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. Volumen 3. 2001. Pp. 5-10.
- F.A. MANSOUR, K.R.S. ASCHER And N. OMARI. "Toxicity Of Neem (Azadirachta Indica) Seed Kernel Extracts Prepared With Different Solvents, On The Spider Chira Canthium Mildei". Phytoparasitica, volume 14. Israel. Pp. 73-76.
- Frati A, Xilotl Diaz N, Altamirano P, Ariza R, Lopez-Ledesma R: The effect of two sequential doses of Opuntia streptacantha upon glycemia. Arch Invest Med 22:333– 336, 1991
- Girish K. & Shankara Bhat S. "Neem. A Green Treasure". Electronic Journal of Biology, 2008, Vol. 4. India. Pp. 102-111.
- Gloria Y. Yeh, Md, Mph; David M. Eisenberg, Md; Ted J. Kaptchuk, Omd; Russell S. Phillips, Md: "Systematic Review of Herbs and Dietary Supplements for Glycemic Control in Diabetes" 1277-1280.
- González Élide. 2002. Diabetes Mellitus Experimental: Etiología De Las Malformaciones Congénitas En Descendientes De Ratas Diabéticas. Argentina. Revista Cubana de Endocrinología. 53-63.
- Gori M, Campbell R. Natural products and diabetes treatment (Review Article). Diabetes Educ 24:201–202, 1998
- Ignacio Conget. Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. Revista Española de Cardiología. Volumen 55, No. 5. España. 2002. Pp. 528-535.
- Juan F. Ascaso. "Diabetes Mellitus y Enfermedad Cardiovascular". Ed. Mayo. España. Pp. 5-40.
- Kausik Biswas, Ishita Chattopadhyay, Ranajit K. Banerjee and Uday Bandyopadhyay. "Biological activities and medicinal properties of neem (Azadirachta indica). Review Article". Current science, vol. 82, no. 11, 10 june 2002. India. Pp. 1336-1345.
- Kausik Biswas, Ishita Chattopadhyay, Ranajit K. Banerjee and Uday Bandyopadhyay "Biological activities and medicinal properties of neem (Azadirachta indica)". India. 2002.
- Kausik Biswas, Ishita Chattopadhyay, Ranajit K. Banerjee and Uday Bandyopadhyay. Biological activities and medicinal properties of Azadirachta indica (Review Article). Current science, vol. 82, no. 11, 10 june 2002. 1336-1345.
- Luis Fernando Ospina G. ; Roberto Pinzón Serrano . "Plantas usadas como antidiabéticas en la medicina popular colombiana". Colombia. 1995.

- LuscherTF ;Vanhoutte PM : Mechanisms of althered endothelium dependent responsos in hypertensive blood vessels. Vanhoutte PM De.Relaxing and Contracting Factors.Humane Press.Ciifton NJ 1988 : 495-509.
- M. Serrano Ríos. “Factores de Riesgo Cardiovascular en el Paciente Diabético”. Ed. Sociedad Española de Medicina Interna. España. 2004. Pp. 9-157.
- M.W. Rahma, M. Mostofa, S.A. Sardar, M.R. Sultana, M.M. Haque and M.E. Choudhury. “Investigation of Comparative Hypoglycemic Effect of Neem (*Azadirachta indica*), Karala (*Momordica charantea*) and Nayantara (*Cathranthus roseus*) with Glibenclamide on Rat”. International Journal of Pharmacology. Vol. 1, No. 3. Bangladesh. 2005. Pp. 257-260.
- M.W. Rahman, M. Mostofa, S.A. Sardar, M.R. Sultana, M.M. Haque and M.E. Choudhury. Investigation of Comparative Hypoglycemic Efect of Neem (*Azadirachta indica*), Karala (*Momordica charantea*) and Nayantara (*Catranthus roseus*) with Glibenclamide on rat. 2005.Bangladesh. International Journal of Pharmacology. Pp. 257-260.
- Menakshi Bhat, Sandeepkumar K. Kothiwale, Amruta R. Tirmale, Shobha Y. Bhargava, and Bimba N. Joshi. “Antidiabetic Properties of Azardiracta indica and Bougainvillea spectabilis : In Vivo Studies in Murine Diabetes Model”. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2008. India. Pp. 1-9.
- Menakshi Bhat, Sandeepkumar K. Kothiwale, Amruta R. Tirmale, Shobha Y. Bhargava and Bimba N. Joshi. “Antidiabetic Properties of Azardiracta indica and Bougainvillea spectabilis: In Vivo Studies in Murine DiabetesModel”. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. India. 2011. Pp. 1-9.
- Nicolas Argáez-López, Md; Niels H. Wachter, Md, Msc; Jesus Kumate-Rodri’Guez, Md, Phd; Miguel Cruz, Phd; Juan Talavera, Md, Msc; Erika Rivera-Arce, Phd; Dr. Xavier Lozoya. The Use of Complementary and Alternative Medicine Therapies in Type 2 Diabetic Patients in Mexico.Diabetes Care, Volumen 26, Número 8. 2003. 2470-2472.
- Nosadini R, Brocco E. Relationship among microalbuminuria, insulin resistence and renal-cardiac complications in insulin and non insulin dependent diabetes. Exp. ClinEndocrinol Diabetes 1997;105 (Suppl 2):1-7
- Óscar Velázquez-Monroy, Martín Rosas Peralta, Agustín Lara Esqueda, Gustavo Pastelín Hernández, Grupo ENSA 2000,* Claudia Sánchez Castillo, Fause Attie y Roberto Tapia Conyer. “Prevalencia e interrelación de enfermedades crónicas no transmisibles y factores de riesgo cardiovascular en México: Resultados finales de la Encuesta Nacional de Salud (ENSA) 2000”. Archivos de Cardiología en México. Vol. 73. No. 1. México. 2003. Pp. 62-77.
- Palmer RMJ; Fenije AG; MoncadaS : Nitric oxide of altered release aaccounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. Nature 1987.327 524-526
- Patrick Ekong Ebong, Item Justin Atangwho, Eyong Ubana Eyong and Godwin Eneji Egbung. “The Antidiabetic Efficacy of Combined Extracts from Two Continental Plants: *Azadirachta indica* (A. Juss) (Neem) and *Vernonia amygdalina* (Del.)(African Bitter Leaf)”. American Journal of Biochemistry and Biotechnology. Vol. 4, No. 3. Nigeria. 2008. Pp. 239-244.
- Patrick EkongEbong, Item Justin Atangwho, EyongUbanaEyong and Godwin EnejiEgbung “The Antidiabetic Efficacy of Combined Extracts from Two Continental

Plants: *Azadirachta indica* (A. Juss) (Neem) and *Vernonia amygdalina* (Del.) (African Bitter Leaf)". Nigeria. 2008

- Poulsen PL, Hansen KW, Mogensen CE. Ambulatory blood pressure in the transition from normo to microalbuminuria. *Diabetes* 1994; 43: 1248-1253.
- R. R. Chattopadhyay. "Effect of *Azadirachta indica* Hydroalcoholic Leaf Extract on the Cardiovascular System". *Gen. Pharmac.* Vol. 28. No. 3. India. 1997. Pp. 449-451.
- R. R. Chattopadhyay. Effect of *Azadirachta indica* Hydroalcoholic Leaf Extract on the Cardiovascular System. *Gen. Pharmac.* Vol. 28, No. 3, 1997. India. Pp. 449-451.
- Rubén Marroquín - Segura, Maurilio Flores P., Martha Mercedes García B., José Luis Alfredo Mora G. "Efecto Antihiper glucémico de un extracto acuoso de *colubrina elliptica*". México. 2005.
- S. O. Arigbabu and S. G. Don-Pedro, *Afr. J. Pharmacol. Pharm. Sci.*, 114,181 (1971)
- Sawicki PT, Heise T, Berger M. "Antihypertensive treatment and mortality in diabetic patients. What is the evidence?" *Diabetologia* 1997; 40: S134-S137.
- SERAFIM GUIMARAES ES1 AND DANIEL MOURA. "Vascular Adrenoceptors: An Update". *PHARMACOLOGICAL REVIEWS*. Vol. 53, No. 2. Portugal. 2001. Pp. 319-451.
- Shradha Bisht, S.S.Sisodia. "Anti-Hyperglycemic And Antidyslipidemic Potential Of *Azadirachta indica* Leaf Extract In STZ- Induced Diabetes Mellitus". *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. Vol. 2, No. 10. Rajashtan. 2010. Pp. 622-627.
- Sodium Nitroprusside. In: McEvoy GK (Ed): *AHFS Drug Information*. Bethesda: American Society of Hospital Pharmacists, 1993:1089-92.
- Suárez Tejeda Gustavo Ramón. *Apuntes de la asignatura Conocimiento Corporal II. Sistema Nervioso Autónomo*. Medellín, Colombia. 2008. Pp 3-5.
- Teuscher AV, Weidmann PV. Requirements for antihypertensive therapy in diabetic patients: metabolic aspects. *J Hypertens* 1997 (Suppl 15): S67-S75.
- Villalpando Salvador, Shamah-Levy Teresa, Rojas Rosalba, Aguilar-Salinas Carlos A..Trends for type 2 diabetes and other cardiovascular risk factors in Mexico from 1993-2006. *Salud pública Méx*[revista en la Internet]. [citado 2012 Ene 10]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-36342010000700011&lng=es.
- Xavier Boscha, Fernando Alfonsob y Javier Bermejor. "Diabetes y enfermedad cardiovascular. Una mirada hacia la nueva epidemia del siglo XXI". *Revista Española de Cardiología*. Vol. 55, No. 5. España. 2002. Pp. 525-527.