



**Universidad Michoacana
de San Nicolás de Hidalgo**



**Facultad de Químico Farmacobiología
Laboratorio de Neurobiología**

TESIS

**IMPLEMENTACIÓN DE UN MODELO DE DIABETES
MELLITUS TIPO II EN RATA**

Presenta:

p.Q.F.B. Diego Cambrón Mora

**Para obtener el grado de
Licenciado en Químico-Farmacobiología**

Director de Tesis:

Dr. Rosalio Mercado Camargo

Morelia Michoacán. Abril de 2018

**Tesis parcialmente apoyada por CIC-UMSNH 2018, CONACYT-ANUIES-ECOS NORD
M12-S01 PRODEP-2018**

This thesis work is dedicated to my Tex, who has been a constant source of support and encouragement during the challenges of life. I am truly thankful for having you in my life. This work is also dedicated to my parents who have always loved me unconditionally and whose good examples have taught me to work hard for the things that I aspire to achieve.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Neurobiología de la Facultad de Químico Farmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo fue parcialmente apoyada por CIC-UMSNH 2018, CONACYT-ANUIES-ECOS NORD M12-S01 PRODEP-2018

CONTENIDO	Página
Índice de figuras.....	I
Índice de tablas.....	II
Lista de abreviaturas.....	III
Resumen	IV
Abstract	V
1. ANTECEDENTES.....	1
1.1 DEFINICION DE DIABETES.....	1
1.2 ORIGEN Y ETIOLOGIA.....	1
1.3 CAUSAS Y TIPOS DE DIABETES	2
1.4 DIABETES MELLITUS TIPO I	3
1.5 DIABETES MELLITUS TIPO II.....	3
1.6 DIABETES GESTACIONAL.....	4
1.7 DIABETES TIPO MODY.....	4
2.0 MODELOS DE DIABETES MELLITUS	5
2. 1 DIABETES ESPONTANEA.....	5
2.2 MODELOS ANIMALES DE DIABETES TIPO I.....	5
2.2.1 DIABETES TIPO I INDUCIDA QUÍMICAMENTE.....	5
2.2.2 STZ	6
2.2.3 MÚLTIPLES DOSIS BAJAS DE STZ.....	6
2.2.4 MODELOS AUTOINMUNES ESPONTÁNEOS DE DIABETES TIPO I	7
2.2.5 RATONES NOD	7
2.2.6 RATAS BB.....	8
2.2.7 RATONES AKITA.....	8
2.2.8 VIRUS PARA LA INDUCCION DE DIABETES TIPO I.....	8
2.3 MODELOS DE ROEDORES DE DIABETES TIPO II	9
2.3.1 MODELOS DE OBESIDAD HOMOGÉNEOS.....	9
2.3.1.1 RATÓN LEPOB / OB.....	9
2.3.1.2 RATONES LEPRDB / DB.....	10
2.3.2 MODELOS POLIGÉNICOS DE OBESIDAD	10
2.3.2.1 RATONES KK.....	10
2.3.2.2 RATAS OLETF	10
2.3.3 RATÓN TALLYHO	11
2.3.4 ALIMENTACIÓN ALTA EN GRASAS.....	11
2.4 MODELOS NO OBESOS DE DIABETES TIPO II.....	12
2.4.1 RATAS GOTO-KAKIZAKI	12
2.4.2 RATONES HIAPP	12
2.5 MODELOS DE FUNCIÓN DE CÉLULAS BETA.....	13

2.6 MODELOS DE REGENERACIÓN DE CÉLULAS BETA	13
2.6.1 MODELOS DE LESIÓN DE PÁNCREAS	13
2.6.2 ADMINISTRACIÓN DE STZ NEONATAL	14
2.6.3 EXPRESIÓN DE TOXINA DIFTÉRICA INDUCIDA POR DOXICICLINA EN CÉLULAS BETA	14
2.6.4 RATONES RIP RECEPTOR DE TOXINA DE DIFTERIA	14
2.7 KNOCK-OUT Y RATONES TRANSGÉNICOS EN INVESTIGACIÓN DE DIABETES.....	15
2.8 MODELO DE GENES DE ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO EN RATONES	15
3.0 JUSTIFICACIÓN	16
4.0 HIPÓTESIS	17
5.0 OBJETIVOS.....	18
5.1 OBJETIVO GENERAL.....	18
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
6.0 MATERIAL Y MÉTODOS	19
6.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	19
6.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE DMII	19
6.3 ESTRATEGIA Y METODOLOGÍA	21
6.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS.....	22
6.5 ASPECTOS A SEGUIR	23
6.6 ANALISIS ESTADISTICO.....	23
7.0 RESULTADOS	24
7.1 VALORACION DE PARAMETROS BIOQUIMICOS.....	28
8.0 DISCUSION.....	32
9.0 CONCLUSIÓN	34
10.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	35

INDICE DE FIGURAS

Figura 1	24
Figura 2..	25
Figura 3	25
Figura 4	26
Figura 5	27
Figura 6	28
Figura 7	28
Figura 8	29
Figura 9	29
Figura 10	30
Figura 11	30
Figura 12	31

INDICE DE TABLAS

TABLA 1	19
TABLA 2	21

LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	AMERICAN DIABETES ASSOCIATION
ALX	ALLOXAN
BB	RATA BIOBREEDING
CTRL	CONTROL
DM	DIABETES MELLITUS
DMI	DIABETES MELLITUS TIPO I
DMII	DIABETES MELLITUS TIPO II
GK	GOTO-KAKIZAKI
HIAPP	FORMACIÓN DE AMILOIDE EN EL TEJIDO DE LOS ISLOTES
HLA	ANTÍGENO LEUCOCITARIO HUMANO
IP	INTRAPERITONEAL
IV	INTRAVENOSA
MODY	MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG
NK	NATURAL KILLER
NOD	RATÓN DIABÉTICO NO OBESO
OLETF	OTSUKA LONG-EVANS TOKUSHIMA FAT
OMS	ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD
RIP	PROMOTOR DE INSULINA DE RATA
RTTA	TRANSACTIVADOR DEPENDIENTE DE TETRACICLINA
SACH	SOLUCIÓN DE SACAROSA50%
SACH 38.5	SOLUCIÓN SACAROSA 38.5%
SACHM	SOLUCIÓN DE SACAROSA50% MÁS GRASA10%
SACHM 38.5	SOLUCIÓN SACAROSA AL 38.5% MAS GRASA 10%
STZ	ESTREPTOZOTOCINA

RESUMEN

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad caracterizada por hiperglicemia derivada por defectos en la capacidad del organismo para producir o utilizar insulina. El problema de la DM radica principalmente en el estilo de vida que se ha adoptado en estos años, una dieta alta en azúcares y grasas con un estilo de vida sedentario. Este síndrome metabólico se ha convertido en los últimos años en un problema a nivel mundial el cual causa cada año millones de defunciones. Por ello se ha invertido un gran esfuerzo en el ámbito científico para estudiar a detalle este síndrome. Claramente para esta clase de estudios se deben tener modelos de diabetes, acordes con el estudio a realizar, pero varios de estos no se apegan a las condiciones en las que se da inicio la diabetes, por citar alguno, el uso de un agente químico como el STZ. Por lo cual en este trabajo nos enfocamos en implementar un modelo experimental de diabetes mellitus tipo II (DMII) basándonos en la dieta que la predispone (alto consumo de grasas y azúcares). El objetivo del siguiente trabajo fue implementar un modelo experimental de DM tipo II en rata. Utilizando ratas macho de la cepa Wistar, con peso de 220 ± 20 g, los cuales se mantuvieron en el bioterio del laboratorio de Neurobiología de la Facultad de QFB de la U.MS.N.H., siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación. Para la inducción de la DM tipo II: Se formaron 5 grupos experimentales: Control (**CTRL**), solución de sacarosa 50% (**SACH**), solución de sacarosa 50% más grasa 10% (**SACHM**) solución sacarosa 38.5% (**SACH 38.5**) y solución sacarosa al 38.5% más grasa 10% (**SACHM 38.5**). Se determinaron los niveles glucémicos en sangre y las características de la DM (polifagia, polidipsia y pérdida de peso). El grupo experimental con DMII presentó hiperglicemia a partir de la tercera semana de implementación del modelo, la curva de tolerancia a la glucosa mostro intolerancia a la misma, el perfil de lípidos en general mostro cambios comparados con el grupo control. Los resultados obtenidos muestran que cambiando la dieta de los roedores es factible de implementar un modelo experimental de diabetes mellitus tipo II.

Palabras clave: Hiperglicemia, Síndrome, Metabólico, Dieta, Lípidos.

ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a disease characterized by hyperglycemia derived from defects in the body's ability to produce or use insulin. The problem of DM lies mainly in the lifestyle that has been adopted in these years, a diet high in sugar and fat with a sedentary lifestyle. This metabolic syndrome has become in recent years a worldwide problem that causes millions of deaths every year. Therefore, a great effort has been invested in the scientific field to study this syndrome in detail. Clearly for this class of studies should have models of diabetes, according to the study to be done, but several of these do not stick to the conditions in which diabetes starts, to name a few, the use of a chemical agent like the STZ. Therefore, in this work, we focus on implementing an experimental model of diabetes mellitus type II (DMII) based on the diet that predisposes (high intake of fats and sugars). The objective of the following work was to implement an experimental model of DM type II in rats. Using male rats of the Wistar strain, weighing 220 ± 20 g, which were kept in the laboratory of Neurobiology of the Faculty of QFB U.MS.NH, following the current protocols for the use of animals of investigation. For the induction of DM type II: 5 experimental groups were formed: Control (CTRL), 50% sucrose solution (SACH), 50% sucrose solution plus fat 10% (SACHM) 38.5% sucrose solution (SACH 38.5) and sucrose solution 38.5% more fat 10% (SACHM 38.5). The blood glucose levels and the characteristics of the DM were determined (polyphagia, polydipsia and weight loss). The experimental group with DMII presented hyperglycemia from the third week of implementation of the model, the glucose tolerance curve showed intolerance to it, the lipid profile, in general, showed changes compared with the control group. The results obtained show that changing the diet of rodents is feasible to implement an experimental model of type II diabetes mellitus.

key words: Hyperglycemia, Metabolic syndrome, Diet, Lipids.

1. ANTECEDENTES

1.1 DEFINICION DE DIABETES.

Acorde con la American Diabetes Association (ADA) la diabetes mellitus (DM) es una alteración metabólica caracterizada por la presencia de hiperglucemia crónica la cual se acompaña de alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, de las proteínas y de los lípidos. Esto último característico de un síndrome metabólico al conllevar diversas alteraciones en el curso de la enfermedad. (American Diabetes Association, 2017)

La DM se ha convertido en los últimos años en una enfermedad mundial. Uno de los mayores factores que conlleva esta enfermedad son sus afecciones cardiovasculares que representa la principal causa de muerte a nivel mundial. La prevalencia de la diabetes, especialmente de tipo 2, ha incrementado dramáticamente en un corto periodo de tiempo, aumentando con ello los costos de su tratamiento y su mortalidad en todo el mundo.

Estudios realizados recientemente en México (2012) revelan que cerca de un 9.4% de la población tiene DM, lo cual se aproxima a 6.4 millones de personas con este síndrome. Mientras que en el mundo hay alrededor de 346 millones de personas con DM, cifra que se ha duplicado en las últimas décadas y continuara esta tendencia de incremento por el aumento en la esperanza de vida, la creciente prevalencia de la obesidad debida a un cambio en la dieta (ahora enfocada a grasas y carbohidratos) y el sedentarismo (OMS 2012).

1.2 ORIGEN Y ETIOLOGIA

El origen y la etiología de la DM pueden ser muy diversos, pero conllevan inevitablemente la existencia de alteraciones en la secreción de insulina, de la sensibilidad a la acción de la hormona, o de ambas en algún momento de su transcurso. En el caso de la secreción de la hormona puede diversa a afecciones inmunológicas o de otra índole en el páncreas y en cuanto a su acción esta puede tener dos afecciones posibles (las más importantes) una diversidad en la estructura de la proteína o una alteración en el receptor.

En aquellos casos en que los síntomas son variados, persistentes y los niveles de glucemia suficientemente elevadas, el diagnóstico es obvio en la mayoría de ocasiones. Pero no debemos olvidar que, en muchos casos, el diagnóstico se realiza en sujetos asintomáticos y a través de una exploración analítica de rutina. La prevalencia de la DM, sus complicaciones específicas y la presencia de otras entidades que suelen acompañarla hacen de la enfermedad uno de los principales problemas sociosanitarios en la actualidad.

El crecimiento exponencial de la información disponible sobre el transcurso de la DM, de su etiología y del conocimiento de la fisiopatología de sus complicaciones crónicas ha obligado a que, en los últimos años, se revisaran los criterios

diagnósticos de esta entidad y se reclasificaran los diferentes procesos que en ella se incluyen. La revisión de los criterios diagnósticos y de la clasificación de la enfermedad se llevó a cabo en 1997 y 1998 en sendos documentos consensuados por los comités de expertos de la American Diabetes Association y de la Organización Mundial de la Salud. El hecho de que algunos participantes de ambos comités fueran comunes hace que las recomendaciones finales y las conclusiones de ambos grupos sean, aunque con pequeños matices, muy similares.

La clarificación de los criterios diagnósticos y la mejor clasificación de cada una de las personas afectadas por la DM debe permitirnos en el futuro elegir mejor entre las diferentes opciones de tratamiento y mejorar el pronóstico de la enfermedad.

1.3 CAUSAS Y TIPOS DE DM

La insulina es una hormona secretada por las células β , las cuales están localizadas en los islotes del páncreas, llamados islotes de Langerhans. El rol de la insulina en el organismo es vital para controlar los niveles de glucosa en sangre y que esta pueda ser utilizada como fuente de energía. Pacientes con DM podrían tener células B disfuncionales, resultando en la reducción de la secreción de insulina, o los músculos y los adipocitos podrían ser resistentes a los efectos de la insulina, resultando con ello un decaimiento en la habilidad de esas células para tomar la glucosa y metabolizarla. En ambos casos, los niveles de glucosa en sangre aumentan, causando hiperglicemia (altos niveles de glucosa). Conforme se va acumulando la glucosa en la sangre, excesiva cantidad de esta glucosa es secretada en la orina al atravesar el lumbral de 180 mg/dL aproximadamente. Debido a los altos niveles de glucosa en la orina, más agua es desechada aumentando el nivel de orina y la frecuencia de micción, así como la sed en los pacientes con esta enfermedad de ahí su nombre de DM que en griego significa dulce como la miel debido a la glucosa en la orina. Otros síntomas de la DM incluyen hambre, pérdida de peso y debilidad

Existen 4 tipos principales de diabetes, DM tipo 1 (DMI), insulín dependiente o DM juvenil, usualmente se manifiesta en la niñez, DM tipo 2 (DMII), no insulín dependiente o diabetes de la etapa adulta, usualmente se manifiesta después de los 40 y resulta más común mientras aumenta la edad, diabetes gestacional este tipo de diabetes, como se ve en su nombre, aparece en la gestación y puede presentarse solo en este periodo de gestación y por último la diabetes tipo MODY se denomina como MODY (por sus siglas en inglés de "Maturity-Onset Diabetes of the Young"). MODY se presenta frecuentemente antes de los 25 años y se caracteriza por un defecto secretorio de insulina que puede ser moderado o severo de acuerdo al tipo de gen que se encuentra mutado. (American Diabetes Association, 2017)

1.4 DIABETES MELLITUS TIPO I

La DM tipo 1 se observa de 5 a 10 % de los casos de diabetes. La mayoría de los casos de DM tipo 1 se desarrolla en niños o adolescentes. Pero cerca de un 20% de los nuevos pacientes son adultos, esto puede deberse a que la enfermedad comienza en la niñez, pero no se diagnostica sino hasta la etapa adulta cuando los síntomas son más severos. La mayoría de estos pacientes presentan síntomas de hiperglicemia, pero algunos pacientes presentan cetoacidosis señal clara de un deterioro severo en la secreción de insulina.

La DM tipo 1 es usualmente causada por destrucción autoinmune de los islotes de Langerhans del páncreas. Pacientes con DM tipo 1 tienen anticuerpos en su suero contra diversos componentes de los islotes de Langerhans, incluso anticuerpos contra la propia insulina. Los anticuerpos están presentes desde años atrás antes de la manifestación de la enfermedad y su presencia podría estar asociada con el incremento de la secreción de insulina. Algunos pacientes con DM tipo 1 tienen variaciones genéticas asociadas con el complejo antígeno leucocitario humano (HLA), el cual está involucrado en presentar antígenos a células inmunes así iniciando la producción de anticuerpos que atacan a las propias células del organismo (auto-anticuerpos). Como sea, la destrucción de los islotes ocurre a través de células inmunes sensibilizadas de alguna manera contra componentes del tejido de los islotes a través de la producción de anticuerpos. En general, del 2 a 5% de los niños cuya madre o padre ha tenido DM tipo 1 también desarrollara esta enfermedad.

1.5 DM MELLITUS TIPO II

La DM tipo 2 es mucho más común que la tipo 1, la cual ocurre cerca del 90% de los casos, la frecuencia de la DM tipo 2 varía entre los continentes y está aumentando en todo el mundo. La mayoría de los pacientes con DM tipo 2 son adultos, incluso adultos mayores, pero en recientes fechas se ha presentado también en niños los cuales comienzan con una resistencia a la insulina. En el caso de la DM tipo 2 existe un componente genético más fuerte que en la DM tipo 1.

Muchos pacientes con DM tipo 2 son asintomáticos y son frecuentemente diagnosticados con DM tipo 2 al hacer exámenes de rutina y resultan tener niveles altos de glucosa en sangre. En algunos pacientes la presencia de uno o más síntomas son asociados a un largo periodo de tiempo con esta enfermedad establecida lo cual lleva a un diagnóstico presuntivo de DM tipo 2. Otros pacientes con altos niveles de glucosa en sangre cuya prevalencia ha sido por meses pueden presentar un severo colapso vascular.

La DM tipo 2 se encuentra fuertemente asociada con la obesidad y tiene como resultado la resistencia a la insulina y su deficiencia. La resistencia a la insulina es una característica muy común de la DM tipo 2 en pacientes que son obesos y por lo general estos pacientes tienen altas concentraciones de insulina en sangre. Sin embargo, algunas personas obesas son incapaces de producir suficiente insulina, y de esta manera el organismo mantiene altos niveles de glucosa en sangre (hiperglicemia). Si este aumento de glucosa ocurre en una persona sana esta secretará más insulina para nivelar su glicemia, cosa que no ocurre en un paciente diabético.

Pacientes con DM tipo 2 puede controlar su nivel de glucosa en sangre a través de dieta y ejercicio, si es necesario con inyecciones de insulina o medicamentos hipoglucemiantes.

Con todo lo anterior podemos observar que la clasificación de diabetes juvenil o de la etapa adulta queda algo obsoleta ya que estas pueden ocurrir a cualquier edad.

1.6 DIABETES GESTACIONAL

La DM también se puede desarrollar como una condición secundaria ligada a otra complicación, como una afección pancreática, un síndrome genético, como la distrofia miotónica, o drogas, como son los glucocorticoides. La diabetes gestacional es una condición temporal asociada a la gestación. En esta situación, los niveles de glucosa en sangre incrementan por lo general solo en la etapa de gestación, pero casi siempre regresa a niveles normales una vez que se da a luz. Aun así, la diabetes gestacional es reconocida como un riesgo para desarrollar DM tipo 2 en los años venideros.

1.7 DM TIPO MODY

Existe una variante monogénica que tiene un comportamiento semejante a la DM tipo 2, se presenta en individuos jóvenes y se denomina como MODY (Maturity Onset Diabetes of the Young), se presenta frecuentemente antes de los 25 años y se caracteriza por un defecto secretorio de insulina que puede ser moderado o severo de acuerdo al tipo de gen que se encuentra mutado. Por lo tanto, el control de estos pacientes dependerá de la magnitud del defecto secretorio y su tratamiento puede requerir la administración de insulina de una manera similar al tratamiento del paciente con DM tipo 1. Para este subtipo de DM existen al menos 7 distintos genes alterados en distintos grupos étnicos. En la DM tipo MODY una sola mutación en un único gen es suficiente para que la enfermedad se exprese. Su patrón de herencia es autosómico dominante, puede observarse herencia de una sola rama paterna o materna con aproximadamente el 50% de individuos afectados en tres generaciones o más (OMS 2012).

2.0 MODELOS DE DIABETES MELLITUS

El uso de los animales como modelos de experimentación en el estudio de la fisiopatología de la DM ha permitido entender algunas de sus causas y consecuencias, además de obtener avances en el tratamiento y control de este síndrome, aun cuando los signos y alteraciones no se reproducen con exactitud. En la literatura se han reportado modelos experimentales de DM en diferentes especies.

En animales de laboratorio, específicamente en la rata, la DM se puede presentar de forma espontánea o inducida experimentalmente por distintos métodos. En la inducción experimental de DM se utilizan sustancias químicas que destruyen en forma selectiva las células β del páncreas como son la alloxan (Alx) y la estreptozotocina (STZ). (Figuerola et al., 2014)

2.1 DM ESPONTANEA

Entre diversas especies de animales la DM es relativamente común, teniéndose como primer caso documentado a un primate en 1851 y a partir de ese momento se ha observado también en diversas especies como son los perros, gatos, caballos, ganado, cerdos y en otras especies como la rata.

En la mayoría de los roedores es causado por defectos genéticos, pero casi siempre se ve acompañado por obesidad a excepción de una enfermedad rara que se presenta en el hámster chino (en el cual no se observa esta condición de obesidad, pero se presenta la variación genética necesaria). En algunas especies, el error genético puede ser autosómico dominante o recesivo, pero se debe de tener una variabilidad más grande y no solo una mutación puntual para que la hiperglicemia se presente en ciertos grupos de animales (Lenzen *et al.*, 2001).

2.2 MODELOS ANIMALES DE DM TIPO I

La principal característica de la DM tipo I es la destrucción autoinmune de las células beta pancreáticas, que conduce a la falta de producción de insulina. En modelos animales, esta deficiencia en la producción de insulina se logra mediante una variedad de mecanismos diferentes, que van desde la inducción química de las células beta hasta roedores que desarrollan espontáneamente DM autoinmune. Algunos de los modelos más comunes de DM tipo 1 son los siguientes:

2.2.1 DM TIPO 1 INDUCIDA QUÍMICAMENTE

En los modelos químicamente inducidos de DM tipo 1, se destruye un alto porcentaje de las células beta endógenas lo cual conlleva a una poca producción endógena de insulina, lo que conduce a hiperglucemia y pérdida de peso. La DM inducida químicamente no solo proporciona un modelo de DM sencillo y

relativamente barato en roedores, sino que también puede usarse en diferentes tipos de animales (Dufrane et al., 2006). La DM generalmente se induce alrededor de 5-7 días antes del inicio del experimento para asegurar una hiperglucemia estable. Dos compuestos principales se usan para inducir diabetes: estreptozotocina (STZ) o alloxan. Debido a su similitud en la estructura con la glucosa (Bansal et al., 1980), la glucosa puede competir con alloxan y STZ, y, por lo tanto, los animales en ayunas tienden a ser más susceptibles. Tanto alloxan como STZ son relativamente inestables, y las soluciones idealmente deberían hacerse inmediatamente antes de la inyección.

Este tipo de modelo es apropiada para usar cuando se prueban medicamentos o terapias en las que el principal mecanismo de acción es reducir la glucosa en sangre de una manera que no depende de las células beta; por ejemplo, para probar nuevas formulaciones de insulina (Jederstrom et al., 2005; Sheshala et al., 2009).

2.2.2 STREPTOZOTOCINA (STZ)

La STZ [2-desoxi-2- (3- (metil-3-nitrosoureido) -d-glucopiranososa] es sintetizada por *Streptomyces achromogenes*. Después de la administración I.P. o I.V., ingresa a la célula beta pancreática a través del transportador Glut-2 debido a su similitud con la estructura de la glucosa y causa la alquilación del ADN (Szkudelski, 2001). La activación posterior de poli ADP ribosa polimerasa (PARP) conduce al agotamiento de NAD⁺, una reducción en el ATP celular y la posterior inhibición de la producción de insulina (Sandler y Swenne, 1983). Además, STZ es una fuente de radicales libres que también puede contribuir al daño del ADN y la posterior muerte celular. STZ tiende a administrarse como una sola dosis alta que puede variar de 100 a 200 mg/Kg (acorde a la cepa a tratar) o como múltiples dosis bajas.

2.2.3 MÚLTIPLES DOSIS BAJAS DE STZ

La STZ puede administrarse en múltiples dosis bajas durante 5 días para inducir aumento de insulina en ratones o en ratas (Lukic et al., 1991). Las dosis varían de 20 a 40 mg /kg por día, dependiendo de la especie y la cepa. Una reducción en el número y volumen de los islotes es evidente con la reducción concomitante en la capacidad de secreción de insulina. Los macrófagos son las primeras células que se infiltran en los islotes, y el desarrollo de la DM depende de la producción de citoquinas (Lukic et al., 1991). La DM se desarrolla incluso en ausencia de células T y B, y por lo tanto no reproduce la enfermedad humana tan de cerca como los modelos espontáneos de autoinmunidad (Reddy et al., 1995).

2.2.4 MODELOS AUTOINMUNES ESPONTÁNEOS DE DM TIPO I

Los modelos autoinmunes más comúnmente usados de DM tipo 1 son el ratón diabético no obeso (NOD) y la rata Biobreeding (BB) (Yang y Santamaria, 2006). Además, en 2001 se describió otro modelo de rata de tipo 1 autoinmune, la rata LEW.1AR1 / Ztm-iddm (Lenzen et al., 2001). Aun con todos estos modelos el ratón NOD todavía domina la literatura como el modelo autoinmune de elección debido a las características de este que se verán más adelante.

2.2.5 RATONES NOD

El ratón NOD se desarrolló en los Laboratorios de Investigación Shionogi en Osaka, Japón en 1974 (Hanafusa et al., 1990). Estos ratones NOD desarrollan insulinitis alrededor de las 3-4 semanas de edad. En esta etapa pre-diabética, los islotes pancreáticos se encuentran infiltrados predominantemente por linfocitos CD4 + y CD8 +, aunque también están presentes las células B y las células NK, la combinación de estos factores conlleva a una marcada DM tipo I por acción de estas células, pero cabe mencionar que esta se observa hasta que aproximadamente un 90 % de la insulina pancreática se pierde en un aproximado de 10 a 14 semanas, aunque se han observado casos en los que la DM se presenta hasta las 30 semanas de edad (Yoon y Jun, 2001). La DM es más prevalente en las hembras con una incidencia que oscila entre 60% y 90% en la mayoría de las colonias, mientras que la incidencia en los varones oscila entre 10% y 30% (Pozzilli et al., 1993; Hanafusa et al., 1994). Cuando estos ratones se vuelven abiertamente diabéticos, pierden peso rápidamente y requieren tratamiento con insulina. Por lo tanto, estos ratones son potencialmente adecuados para probar terapias en las que se está dirigiendo la modulación de la respuesta autoinmune. Sin embargo, se debe tener en cuenta que hay una serie de fármacos que son efectivos en ratones NOD, que luego se demostró que eran ineficaces en humanos (Von Herrath y Nepom, 2009).

Se puede lograr un inicio más favorable y acelerado en ratones NOD inyectando ratones con ciclofosfamida (Caquard et al., 2010). Además, la transferencia adoptiva puede ser útil, donde las células T de ratones NOD diabéticos se inyectan en ratones receptores no diabéticos, causando que el ratón receptor desarrolle DM (Christianson et al., 1993).

Las estrategias para mejorar el modelo NOD incluyen el uso de manipulación genética específica de ratones NOD (Yang y Santamaria, 2003) o la creación de modelos de ratón humanizados con componentes del sistema inmune humano (King et al., 2008).

A pesar de las limitaciones del ratón NOD, todavía se usa extensivamente ya que representa muchos aspectos de la enfermedad humana y es un modelo que ha

ayudado a identificar muchas de las vías genéticas y de señalización que pueden conducir a la DM tipo 1.

2.2.6 RATAS BB

Las ratas BB se derivaron de ratas Wistar exogámicas. La DM espontánea autoinmune se identificó por primera vez en 1974 en una colonia canadiense y con ellos se obtuvieron de dos colonias fundadoras de las cuales se derivaron todas las subespecies, una endogámica (BBDP / Wor) y una exogámica (BBdp) (Mordes et al., 2004) además de esto las ratas BB resistentes a la DM también se han criado para actuar como controles.

Las ratas BB generalmente desarrollan DM entre la semana 8 y 16 de edad (lo cual se observa en un 90% de los especímenes) y tienen una incidencia similar en hombres y mujeres.

El fenotipo diabético de esta especie es bastante severo, y las ratas requieren terapia de insulina para sobrevivir una vez que la DM se ha presentado. Aunque los animales tienen un alto aumento de insulina con la presencia de células T, células B, macrófagos y células NK, los animales son linfopénicos con una reducción severa en células T CD4 + y una casi ausencia de células T CD8 + (Mordes et al., 2004)

2.2.7 RATONES AKITA

El ratón AKITA se obtuvo en Akita, Japón, de aquí su peculiar nombre, a partir de un ratón C57BL / 6NSlc con una mutación espontánea en el gen de la insulina 2 que impide la correcta producción de la proinsulina. Esto causa estrés de RE subsiguiente debido a una sobrecarga de proteínas mal plegadas. Esto da como resultado una DM insulín dependiente severa a partir de las 3 a 4 semanas de edad, que se caracteriza por hiperglucemia, hipoinsulinemia, poliuria y polidipsia dando como resultado un necesario tratamiento en especímenes homocigotos sin el cual estos mueren aproximadamente en la semana 12. La falta de masa de células beta en este modelo la convierte en una alternativa a los ratones tratados con estreptozotocina en los estudios de trasplante (Mathews et al., 2002). También se ha utilizado como modelo de enfermedad macrovascular diabética tipo 1 (Zhou et al., 2011) y neuropatía (Drel et al., 2011). Además, este es el modelo de elección para estudiar posibles atenuadores del estrés del RE en los islotes y con ello modela algunas de las patologías de la DM tipo 2 (Chen et al., 2011).

2.2.8 VIRUS PARA LA INDUCCION DE DM TIPO I

Recientemente se han implicado modelos de DM inducidos por virus cada vez más precisos a la patogenia de la DM tipo 1 (Van der Werf et al., 2007) estos modelos animales han usado virus para iniciar la destrucción de las células beta.

La destrucción puede ser debido a la infección directa de la célula beta o al inicio de una respuesta autoinmune contra la célula beta (Jun y Yoon, 2003).

Los virus utilizados para inducir DM en modelos animales incluyen virus coxsackie B (Yoon et al., 1986; Kang y col., 1994), virus de encefalomiocarditis (Craighead y McLane, 1968;) y el virus de la rata Kilham (Guberski et al., 1991; Ellerman et al., 1996).

El modelo puede ser complicado ya que el resultado depende de los niveles de replicación del virus, la edad del espécimen, la especie, así como del momento de la infección. Además de todo esto se ha demostrado que los virus pueden inducir autoinmunidad y prevenirla, dependiendo de las condiciones (Von Herrath et al., 2011). Aun con esto hasta el momento no está claro hasta qué punto los virus están involucrados en la patogénesis de la DM tipo 1.

2.3 MODELOS DE ROEDORES DE DM TIPO 2

Como la DM tipo 2 está estrechamente relacionada con la obesidad, la mayoría de los modelos animales actuales de tipo 2 la DM es obesa, esta obesidad puede ser el resultado de mutaciones naturales, manipulación genética o puede ser inducida por la alimentación rica en grasas.

2.3.1 MODELOS DE OBESIDAD HOMOGÉNEOS

Aunque la obesidad en el humano es rara vez causada por una mutación monogénica, los modelos monogénicos de obesidad se usan comúnmente en la investigación de la DM tipo 2. Los modelos monogénicos de obesidad más utilizados son defectuosos en la señalización de la leptina, responsable de la inducción de saciedad, por lo tanto, la falta de leptina funcional en estos animales causa hiperfagia y obesidad posterior.

Estos modelos incluyen el ratón Lepob / ob, que es deficiente en leptina y el ratón Leprdb / db y la rata Zucker Diabetic Fatty, que son deficientes en el receptor de leptina.

2.3.1.1 RATÓN LEPOB / OB

El ratón Lepob / ob es un modelo de obesidad severa y se deriva de una mutación espontánea descubierta en una colonia exogámica en el Laboratorio Jackson en 1949. El aumento de peso comienza a las 2 semanas de edad, y los ratones desarrollan hiperinsulinemia. A las 4 semanas, la hiperglucemia es aparente, con concentraciones de glucosa en sangre que continúan aumentando, alcanzando un máximo a los 3-5 meses, después de lo cual disminuye a medida que el ratón envejece (Lindstrom, 2007). Aunque hay algunas anomalías en la liberación de insulina (Lavine et al., 1977), los islotes mantienen la secreción de insulina y la falta de insuficiencia completa de células beta en este modelo, significa que la DM

no es particularmente grave y de hecho no es completamente representativa de la DM tipo 2 humana, es meramente una hiperglucemia moderada.

2.3.1.2 RATONES LEPRDB / DB

El ratón Leprdb / db se originó en el Laboratorio Jackson (Hummel et al. 1966) y se debe a una mutación autosómica recesiva en el receptor de leptina (Chen et al., 1996). Estos animales son hiperfágicos, obesos, hiperinsulinémicos e hiperglucémicos. La obesidad es evidente a partir de las 3-4 semanas de edad, y la hiperinsulinemia se hace aparente alrededor de las 2 semanas de vida y la hiperglucemia se desarrolla a las 4-8 semanas.

2.3.2 MODELOS POLIGÉNICOS DE OBESIDAD

Esta clase de modelos pueden proporcionar un modelo más preciso de la condición humana y se ven involucradas una gran variedad de factores presentes en esta enfermedad. Existe una variedad de modelos diferentes de ratones poligénicos de obesidad, intolerancia a la glucosa y diabetes, lo que permite estudiar una diversidad de genotipos y susceptibilidades. Sin embargo, a diferencia de los modelos monogénicos, no hay controles de tipo salvaje. Además, el sesgo sexual masculino es más extremo en estos modelos (Leiter, 2009). En estos modelos se entiende más sobre la interacción de la obesidad y la homeostasis de glucosa (Kluth et al., 2011) (Jurgens et al., 2007) o estudian las complicaciones diabéticas (Cheng et al., 2007; Fang et al., 2010).

2.3.2.1 RATONES KK

Los ratones KK son una cepa levemente obesa que presenta hiperleptina, derivada de ratones ddY de origen silvestre en Japón por Kondo en 1957 (Clee y Attie, 2007). Los islotes pancreáticos son hipertróficos y desgranulados desarrollando con ello hiperinsulinemia grave que conlleva a una resistencia a la insulina tanto en el músculo como en el tejido adiposo.

Este modelo desarrolla madurez-obesidad, hiperinsulinemia más severa y cambios más prominentes en los islotes pancreáticos debido a la expresión ectópica de la proteína AGOUTI que antagoniza el receptor de melanocortina 4 (MCR4) en el hipotálamo.

2.3.2.2 RATAS OLETF

La rata Otsuka Long-Evans Tokushima Fat (OLETF) se derivó de una rata espontáneamente diabética descubierta en 1984 en una colonia exogámica de Long Evans Rats. La reproducción selectiva en el Instituto de Investigación Tokushima conduce a la cepa OLETF que tiene obesidad leve e hiperglucemia de inicio tardío (después de 18 semanas) heredada por los machos. Los islotes

pancreáticos experimentan tres etapas de cambio histológico. En una etapa temprana (6-20 semanas de edad), se observa infiltración celular y degeneración. Esto es seguido por una etapa de hiperplasia entre 20 y 40 semanas. La etapa final se caracteriza por islotes que se vuelven fibróticos y se reemplazan por tejido conectivo (Kawano et al., 1994).

2.3.3 RATÓN TALLYHO

Es un modelo natural de obesidad y DM tipo 2 derivado de la reproducción selectiva de ratones que desarrollaron espontáneamente hiperglucemia e hiperinsulinemia en una colonia exogámica de ratones Theiler Original (Kim et al., 2005). En estos ratones, aumenta la adiposidad y los niveles de triglicéridos colesterol y ácidos grasos libres son elevados en plasma. La hiperglucemia se limita a ratones machos, que se desarrolla entre las 10 y 14 semanas de edad. Los islotes pancreáticos están hipertrofiados y desgranulados, y la hiperinsulinemia es evidente. El ratón TallyHo aún no se ha caracterizado completamente por complicaciones diabéticas (Leiter, 2009).

2.3.4 ALIMENTACIÓN ALTA EN GRASAS

El modelo de grasas altas la alimentación a ratones C57BL / 6 se describió por primera vez en 1988 (Surwit et al., 1988) esta alimentación con alto contenido de grasa puede provocar obesidad, hiperinsulinemia y alteración de la homeostasis de la glucosa debido a una compensación insuficiente por parte de los islotes (Winzell y Ahren, 2004).

El alimento normal se intercambia por una dieta donde el número de calorías de grasa aumenta sustancialmente (alrededor del 58% de la energía derivada de la grasa). Controlando la cantidad de alimentos ingeridos para garantizar que los ratones no compensen comiendo menos. Se ha demostrado que los ratones alimentados con alto contenido de grasa pueden pesar más que los controles alimentados con alimento control dentro de una semana de comenzar la dieta alta en grasas (Winzell y Ahren, 2004), aunque típicamente los ratones se alimentan con la dieta alta en grasas durante varias semanas para inducir un aumento de peso más pronunciado.

El aumento de peso está asociado con la resistencia a la insulina y la falta de compensación de las células beta conduce a una tolerancia a la glucosa alterada. Dado que la obesidad es inducida por la manipulación ambiental en lugar de genes, se cree que modela la situación humana con mayor precisión que los modelos genéticos de obesidad diabetes.

2.4 MODELOS NO OBESOS DE DM TIPO II

No todos los pacientes con DM tipo 2 son obesos y por lo tanto es importante que los modelos de animales normo-peso de DM tipo 2 sean también estudiados. Estos incluyen modelos que tienen insuficiencia de células beta que es lo que finalmente da como resultado a la DM tipo 2 manifiesta en humanos (Weir et al., 2009).

2.4.1 RATAS GOTO-KAKIZAKI

Las ratas Goto-Kakizaki (GK) fueron creadas por un grupo japonés mediante reproducción repetitiva de Ratas Wistar con la tolerancia a la glucosa más pobre (Goto et al., 1976). Esto conduce al desarrollo de un modelo delgado de DM tipo 2, que se caracteriza por la intolerancia a la glucosa y la secreción defectuosa de insulina inducida por la glucosa. El desarrollo de resistencia a la insulina no parece ser el principal iniciador de la hiperglucemia en este modelo, y se considera que el metabolismo defectuoso de la glucosa se debe a la aberrante masa de células beta (Portha et al., 2001) y / o función (Ostenson y Efendic , 2007). Sin embargo, la morfología y el metabolismo de los islotes parecen diferir entre las diferentes colonias de estas ratas. En algunas colonias (Estocolmo y Dallas), el volumen y la densidad de las células beta es similar a los controles; por lo tanto, la hiperglucemia parece ser el resultado de defectos de secreción de insulina. pero se ha informado que hay una reducción en la masa de células beta en algunas cepas (Ostenson y Efendic, 2007).

2.4.2 RATONES HIAPP

Una característica de la DM tipo 2 es la formación de amiloide en el tejido de los islotes, que se deriva de polipéptido amiloide de islotes (IAPP). El IAPP de roedores no es amiloidegénico y, por lo tanto, los roedores normalmente no modelan este aspecto de la enfermedad (Hoppener et al., 1994). Sin embargo, se han creado ratones transgénicos para expresar IAPP humano (hIAPP) bajo el promotor de insulina (Matveyenko y Butler, 2006), que pueden formar amiloide dentro de los islotes. Se han creado una variedad de modelos de HIAPP, y se ha demostrado que aumentar la expresión de hIAPP aumenta la toxicidad de las células beta (Matveyenko y Butler, 2006). Además, las células beta replicantes son más susceptibles a la toxicidad por HIAPP, y por lo tanto, la adaptación de las células beta al aumento de la demanda de insulina en este modelo está restringida (Matveyenko et al., 2009).

2.5 MODELOS DE FUNCIÓN DE CÉLULAS BETA.

La célula beta desempeña un papel central en el desarrollo de DM tipo 1 y tipo 2, así como un papel clave en clasificaciones de DM menos comunes, como la DM de inicio en la madurez de los jóvenes (MODY), DM gestacional, DM neonatal y otros síndromes de células beta como el hiperinsulinismo. Por lo tanto, los modelos de la función de las células beta son muy relevantes para comprender las vías que pueden conducir a la incapacidad de las células beta para secretar cantidades adecuadas de insulina. Dichos modelos a menudo se manipulan genéticamente, como las mutaciones de Kir6.2 para estudiar la función del canal KATP (Girard et al., 2009) o mutaciones en la glucosa quinasa para comprender la función del sensor de glucosa en las células beta (Fenner et al., 2011). Un papel para la serotonina en la expansión de los islotes en el embarazo se ha elucidado recientemente mediante el estudio de los islotes de ratones que carecen del receptor de serotonina Htr2b (Kim et al., 2010). Estudios como estos pueden aumentar nuestro conocimiento de la función de las células beta y su papel en una variedad de condiciones. Sin embargo, debe señalarse que la misma mutación en humanos puede conducir a diferentes síntomas en ratones como recientemente ha demostrado Hugill et al., Donde una mutación en Kcnj11 (que codifica una subunidad del canal KATP) causó hipersecreción de insulina e hipoglucemia en su paciente, pero la intolerancia a la glucosa y la secreción de insulina reducida en ratones (Hugill et al., 2010).

2.6 MODELOS DE REGENERACIÓN DE CÉLULAS BETA

Tanto en la DM tipo 1 como el tipo 2 pueden tener como condición que la masa de células beta es insuficiente para hacer frente a la demanda de insulina. Por lo tanto, se han dedicado muchas investigaciones a la comprensión de cómo se regula la masa de estas células. En estos modelos, la masa de células beta tiende a regularse parcial o casi completamente por diversos medios llevándose a cabo la investigación de estos mecanismos de renovación.

2.6.1 MODELOS DE LESIÓN DE PÁNCREAS

Los modelos de lesión de páncreas a menudo se utilizan en estudios que investigan la capacidad regenerativa de las células beta o progenitores de células beta. Estos modelos de lesión incluyen pancreatectomía y ligadura de conductos y debido a dificultades técnicas se llevan a cabo con mayor frecuencia en ratas que en ratones. 60% ciento de pancreatectomía no conduce a un aumento en las concentraciones de glucosa en sangre, y solo hay un aumento moderado en la masa de células beta (Leahy et al., 1988). Sin embargo, una pancreatectomía al 90% en la rata conduce a una hiperglucemia moderada seguida de una regeneración extensa del páncreas (Bonner-Weir et al., 1983). A las 60 h después de la pancreatectomía, aparecen áreas con ductos enriquecidos. A las 4 semanas, la porción endocrina del páncreas se ha multiplicado por ocho y la parte exocrina

por seis veces. La ligadura de la porción de cola del páncreas, que representa el 50-60% del páncreas, conduce a una disminución significativa en la masa de esta parte del páncreas (Wang et al., 1995).

Una desventaja de estos modelos es la invasividad, que los hace técnicamente difíciles y un modelo bastante extremo por lo que cualquier regeneración vista no es fisiológica. Sin embargo, han conducido a información útil sobre la capacidad regenerativa del páncreas, al menos en roedores.

2.6.2 ADMINISTRACIÓN DE STZ NEONATAL

La administración de STZ a ratas recién nacidas (2 días de vida) induce un modelo de regeneración y / o DM tipo 2 en adultos (Portha et al., 1974). En este modelo, se observa un pico de hiperglucemia 2 días después de la administración de STZ (100 mg · kg⁻¹, iv o ip), seguido de regeneración de células beta y normoglucemia al día 10. Sin embargo, la hiperglucemia regresa a las 6 semanas, lo que se cree que es debido a una masa inadecuada de células beta y beta disfunción celular (Bonner-Weir et al., 1981). Por lo tanto, en la fase posterior, este modelo se puede utilizar para estudiar la DM tipo 2 (Tourrel et al., 2001).

2.6.3 EXPRESIÓN DE TOXINA DIFTÉRICA INDUCIDA POR DOXICICLINA EN CÉLULAS BETA

En estos ratones, se expresa un transactivador dependiente de tetraciclina inverso (rtTA) en células beta (Insulina-rtTA, en la que la expresión de rtTA es impulsada por 9,5 kb de los 5' Región flanqueante del gen de insulina II de rata). Además, la toxina A de difteria se expresa bajo un promotor sensible a rtTA. La administración de doxiciclina a los ratones provoca que rtTA induzca la expresión de la toxina A de difteria, causando la apoptosis de las células beta (Nir et al., 2007). Aproximadamente el 80% de las células beta se perdieron, y los ratones se volvieron abiertamente diabéticos. Sin embargo, en la extracción de doxiciclina, la regeneración de células beta fue evidente con el aumento de la masa de células beta y la reversión de los ratones a la normoglucemia (Buch et al., 2005).

2.6.4 RATONES RIP RECEPTOR DE TOXINA DE DIFTERIA

En este modelo, las células beta han sido genéticamente modificadas para expresar el receptor de toxina diftérica bajo el promotor de insulina de rata. Por lo tanto, puede administrarse toxina diftérica y eliminar selectivamente las células productoras de insulina ya que las células de ratón no expresan normalmente el receptor DT, y por lo tanto, otras células no son susceptibles de daño (Buch et al., 2005). Usando este método, > 99% de las células beta son eliminadas. Hay una extensa regeneración de células beta después de la eliminación y en 10 meses hay un aumento de 10 a 44 veces en las células beta. Sin embargo, esto corresponde a solo 4-17% de masa de células beta en comparación con ratones control no tratados.

2.7 KNOCK-OUT Y RATONES TRANSGÉNICOS EN INVESTIGACIÓN DE DM

Los ratones transgénicos se han utilizado para crear modelos específicos de DM tipo 1 y tipo 2, incluidos ratones hIAPP, ratones humanizados con aspectos del sistema inmune humano y ratones que permiten la eliminación condicional de células beta, como se describió anteriormente. Las células beta que expresan proteínas fluorescentes también pueden proporcionar métodos elegantes de rastreo de células beta para su uso en la investigación de la DM (Hara et al., 2003). Además, los ratones knock-out y transgénicos se han convertido en herramientas poderosas para dilucidar la influencia de genes específicos en la glucosa metabolismo y la patogénesis de la diabetes. Esto incluye comprender qué factores de transcripción están involucrados en el desarrollo del páncreas (Habener et al., 2005) y elucidar las vías de señalización de la insulina (Kahn, 2003; Wang y Jin, 2009). Los knockouts específicos de tejido han demostrado ser particularmente útiles en el estudio de la señalización de insulina (Neubauer y Kulkarni, 2006) ya que el knock-out global del receptor de insulina no es viable (Accili et al., 1996). Como se mencionó previamente con metabolismo inducido por dieta aberraciones, se debe tener precaución al interpretar los datos ya que las diferentes cepas de fondo tienen diferentes susceptibilidades a la obesidad y alteraciones en la homeostasis de la glucosa en sangre. Esto podría conducir al efecto de la pérdida de un gen o, alternativamente, a la importancia relativa de un gen sobreestimado. Otra consideración con ratones knock-out y transgénicos en la investigación de la DM es que los promotores pancreáticos como el promotor de insulina de rata (RIP), Ngn3 y Pdx-1 pueden expresarse en niveles bajos en el hipotálamo (Song et al., 2010). De hecho, se ha sugerido que los ratones RIP-Cre per se han alterado la tolerancia a la glucosa (Lee et al., 2006), aunque otro estudio no observó ninguna aberración metabólica en sus ratones RIP-Cre (Fex et al., 2007).

2.8 MODELO DE GENES DE ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO EN RATONES

Recientemente, los estudios de asociación de genoma completo (GWAS) en humanos han llevado a identificar varios loci de susceptibilidad en la patogenia de la DM y la obesidad. Tales estudios han sido fundamentales para identificar los genes de susceptibilidad en la enfermedad. pero su función no siempre ha sido clara. Los modelos de ratón permitieron llevar a cabo estudios mecanísticos para dilucidar la función de los genes identificados en GWAS como FTO (Church et al., 2009; 2010) y el gen SLC30A8 que codifica el transportador de zinc (ZnT8) (Wijesekara et al. 2010).

3.0 JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es un estado patológico crónico-degenerativo que desencadena un síndrome metabólico y que se ha vuelto un problema de primera magnitud a nivel mundial del cual se prevé que incremente acorde con los problemas actuales de obesidad, sedentarismo y los cambios en la dieta por una hipercalórico. La falta de control adecuado de la diabetes mellitus, principalmente la glucemia, acelera las complicaciones crónicas de la enfermedad, manifestándose múltiples signos y síntomas de la fisiopatología.

Esta enfermedad ha sido estudiada a lo largo de los años utilizando diversos modelos de diabetes mellitus cada uno con características adecuadas para el estudio a realizar, siendo el de elección en el laboratorio de neurociencias de la UMSNH la utilización de STZ para un modelo de diabetes tipo I, pero existe una mayor incidencia a nivel mundial la diabetes tipo II por lo cual se ha puesto como objetivo la implementación de un modelo de en rata de diabetes tipo II utilizando una modificación de la dieta hipercalorica. Si bien existe literatura que habla de la implementación de una dieta hiperlipidica, en el presente trabajo se planteó la modificación de diversas condiciones a las que debería de someterse el espécimen en cuestión, desde los niveles adecuados de carbohidratos y lípidos en la dieta, hasta el tiempo de la inducción. Pretendiendo lograr esto mediante la inhibición de la hexocinasa. En condiciones normales un incremento de glucosa en torrente sanguíneo resultaría en una acción decreciente ya que la acción de la hexocinasa transforma la glucosa que entra al espacio intracelular en glucosa-6P teniendo siempre un gradiente de concentración favorable para que la glucosa en sangre disminuya, siendo entonces la inhibición de esta enzima nuestro objetivo, debido a que si se inhibe la enzima habrá concentraciones equivocares tanto en el espacio intracelular como en espacio intersticial basándonos en lo anterior se planteó la siguiente hipótesis:

4.0 HIPÓTESIS

Dieta alta de ácidos grasos y carbohidratos inducen la diabetes mellitus tipo II en ratas.

5.0 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar si la alteración de la dieta hipercalórico propicia un modelo de diabetes mellitus tipo II en rata de la cepa Wistar.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar las concentraciones adecuadas de carbohidratos y lípidos que se adicionaran a la dieta para originar hiperglicemia.
- Determinar si la dieta hipercalórico modifica los niveles de glucosa y la curva de tolerancia a la glucosa y al efecto de la insulina sobre la misma.

6.0 MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron ratas macho Wistar mantenidas en el bioterio del laboratorio de Neurobiología de la facultad de Químico Farmacobiología de la UMSNH, siguiendo los protocolos vigentes para el uso de animales de investigación (SAGARPA, 2001), con alimento Purina Rat Chow®, margarina Delicia®, solución de sacarosa-agua filtrada a diferentes concentraciones y agua filtrada ad-libitum, ciclos de luz y oscuridad de 12 h (/19 h), temperatura de 24 ± 2 °C y humedad relativa de $60 \pm 5\%$.

6.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE DMII

Ratas de dos meses de edad con un peso aproximado de 221 g se distribuyeron en dos grupos principales solución de sacarosa al 50% y solución de sacarosa al 38.5% y estos a su vez se dividieron en subgrupos como se observa en la **tabla 1** a estos grupos se les evaluaron parámetros que se observan en la diabetes mellitus como son la polifagia, polidipsia y el incremento de peso, para ello se tuvo que medir diariamente la ingesta de alimento y bebida entre 8:00-9:00 AM, semanalmente (luego de un periodo de ayuno de 4 horas diurno) se midió su peso corporal así como la glucosa en sangre con glucómetro accu-check® para así evaluar la efectividad de la dieta para generar la hiperglucemia en estas para seguir la estrategia que se muestra en la figura 1, una vez establecida la hiperglucemia en los especímenes se procederá a realizar curva de tolerancia de glucosa y dos días después curva de tolerancia a la insulina y para finalizar el 4 día se sacrificaran los especímenes para toma de muestra sanguínea a la cual se le hará un perfil bioquímico que constara de glucosa, colesterol, triglicéridos, hdl, vldl, ldl, creatinina y ácido úrico

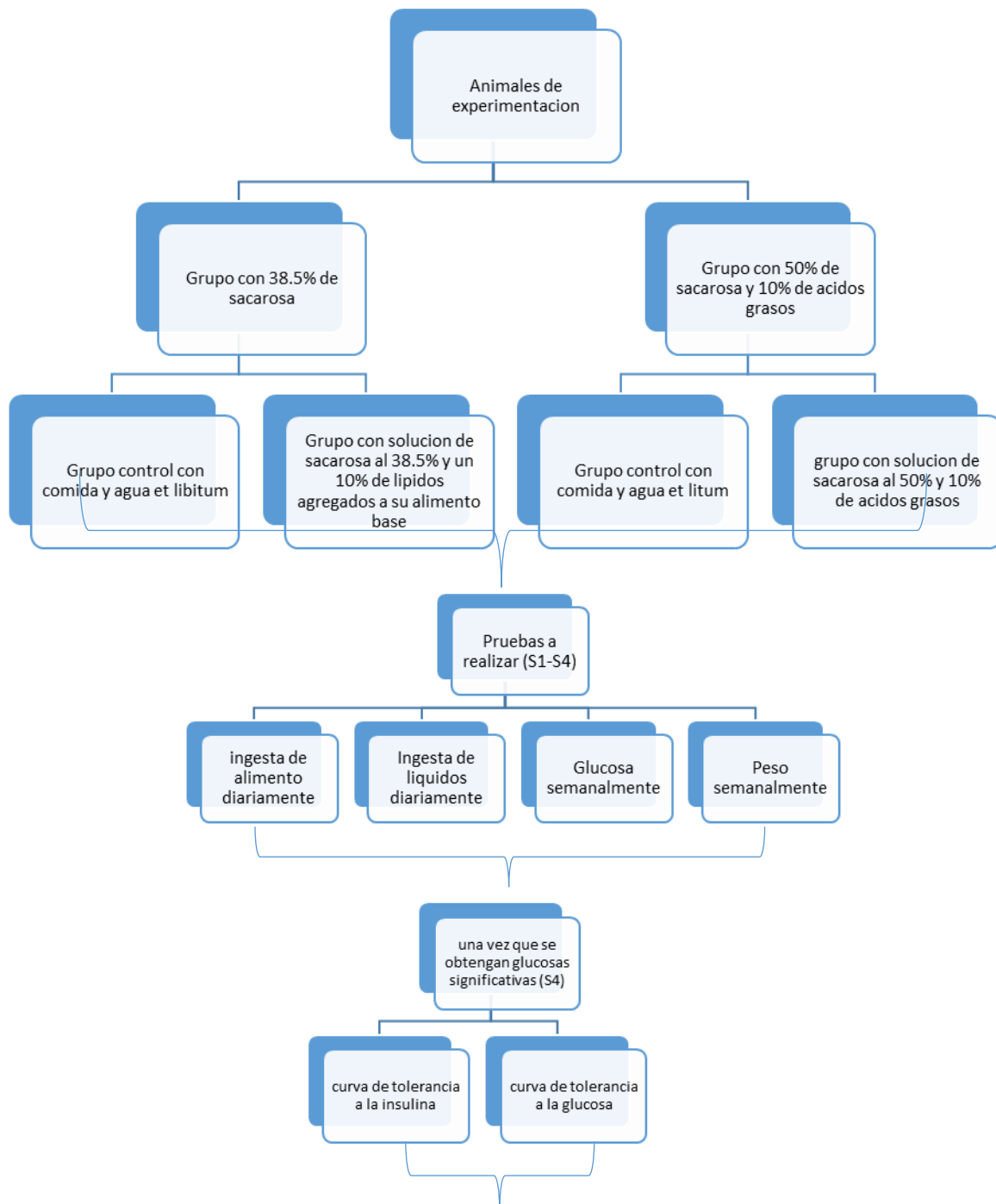
Tabla 1 grupos de animales experimentales y dietas empleadas

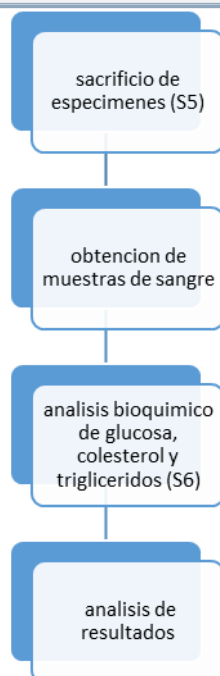
Grupo	Clave	Numero de ratas	Dieta a seguir	Semanas de inducción	Semana de sacrificio y análisis
SOLUCION DE SACAROSA AL 50%	CTRL	11	200 ml agua y 40 g de alimento	4	4-5
	SACH	11	100 ml de solución de sacarosa al	4	4-5

			50% y 40 g de alimento		
	SACHM	11	100 ml de solución de sacarosa al 50% y 20 g de alimento más un 10% de margarina	4	4-5
SOLUCION DE SACAROSA AL 38.5%	SACH 38.5	10	100 ml de solución de sacarosa al 38.5% y 40 g de alimento	4	4-5
	SACHM 38.5	10	100 ml de solución de sacarosa al 38.5% y 20 g de alimento más un 10% de margarina	4	4-5

Estudios anteriormente realizados en el laboratorio de la facultad, muestran que los niveles de lípidos que deberán de agregarse se encuentran entre un 10% del total de alimento (Torres., 2015) adoptando con ello este parámetro para nuestro modelo en cuestión.

6.3 ESTRATEGIA Y METODOLOGÍA



**TABLA 2 Representación gráfica de estrategia metodológica**

El tiempo experimental se señala en semanas (S#)

6.4 OBTENCIÓN DE MUESTRAS BIOLÓGICAS

Los animales con un periodo de ayuno de 1 h, se sacrificaron por dislocación cervical entre 8:00 -12:00 pm, rápidamente se obtuvieron de cada uno de los especímenes muestra de sangre intracardiaca.

La muestra sanguínea se recuperó con anticoagulante (K2-EDTA 7.2 mg/4 ml de sangre) para realizar el perfil bioquímico, esta sangre se centrifugo a 2000 RCF y se recuperó el plasma para realizar determinaciones enzimático-colorimétricas de glucosa, colesterol total, lipopoliproteínas (de alta, baja y muy baja densidad) triglicéridos, creatinina y ácido úrico. Se emplearon kits Spinreact® para la determinación de los diferentes parámetros bioquímicos, se siguieron los protocolos y recomendaciones del fabricante, así como la ecuación de Fredewald para el cálculo de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

6.5 ASPECTOS A SEGUIR

Cabe señalar que las diferentes especies tienden a tener diferentes concentraciones de glucosa en sangre que los humanos, y, por lo tanto, las definiciones para la DM en humanos no necesariamente deben aplicarse a los animales. Por ejemplo, los ratas tienden a tener concentraciones de glucosa en sangre más altas que los humanos, y se ha sugerido una concentración de glucosa en sangre que no es en ayunas superior a 250 mg/dL(13.8 mM) o preferiblemente una elevación crónica superior a 300 mg/dL(16,7 mM) es apropiado para considerar a una rata diabética (Leiter, 2009). Las ratas normales ayunan durante 12 h durante todo el período oscuro, cuando ocurre su mayor ingesta de alimento, y generalmente tienen glucosa en sangre de entre 50 y 100 mg/dL(2.8-5.6 mM), mientras que las ratas con DM tipo 2 tendrán niveles de glucosa en sangre en ayunas de alrededor de 150-300 mg/dL(8,3-16,7 mM) en esta clase de modelos se ha observado un mejor resultado a las 4 horas de ayuno ya que un mayor tiempo de ayuno propicia a un estrés en los especímenes a tratar (Figueroa-García et al., 2016) esta hiperglicemia se muestra claramente en las condiciones que cita la literatura como se aprecia en modelos anteriormente citados, además de ello se ha citado en la literatura que las ratas consumen alimento (80%) preferencialmente entre las 8 p.m y 6 a.m., por lo que para la obtención de resultados reales se recomienda quitar el alimento a los animales por la mañana y realizar la toma de las muestras a medio día, con sólo 4 h de ayuno, para evitar falsos positivos o falsos negativos en el diagnóstico de diabetes. (Figueroa-García et al., 2016)

En los modelos de DM, es fundamental que los animales también se pesen para garantizar que las concentraciones reducidas de glucosa en sangre no estén asociadas con la pérdida de peso debido a la disminución de la ingesta de alimento. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que en los modelos de DM tipo 2 pueden existir modelos obesos y no obesos (Brosius III et al., 2009). observándose en el presente estudio un normo peso.

6.6 ANALISIS ESTADISTICO

Se evaluaron estadísticamente los datos de los resultados experimentales. Las curvas de patrón se sometieron a regresión lineal, se calcularon la media aritmética y el error estándar. La comparación de los resultados se realizó por las pruebas ``T`` de Student según correspondió con una $p < 0.05$.

7.0 RESULTADOS

La **figura 1** muestra el peso corporal de los grupos experimentales y del control, como se puede observar el peso de los diferentes grupos no tuvieron diferencias significativas.

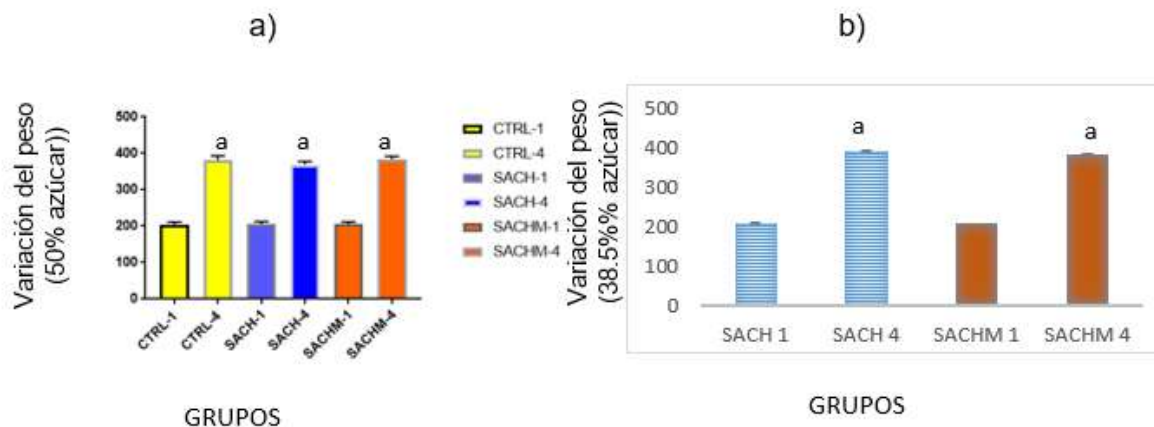


FIGURA 1 Peso corporal. Se muestran valores promedio $\pm$ error estándar de 11-10 ratas por grupo. a) CTRL, SACH y SACHM en la tabla b) SACH 38.5 y SACHM 38.5. el monitoreo se realizó semanalmente Grupos no conectados por la misma letra son diferentes estadísticamente.

Con respecto a la ingesta de agua las ratas de los diferentes grupos estudiados, estos no presentaron polidipsia, Figura 2 como se observa en la literatura, estas ratas no presentan un cambio significativo en cuanto al consumo de agua como se ha observado en la DM tipo I experimental, cabe mencionar que en el caso de los grupos SACH 38.5 y SACHM 38.5 estos mostraron una variación significativa al comienzo de la inducción terminando en una disminución del consumo como se observa en la figura 2 a) llegando a niveles similares a los demás grupos.

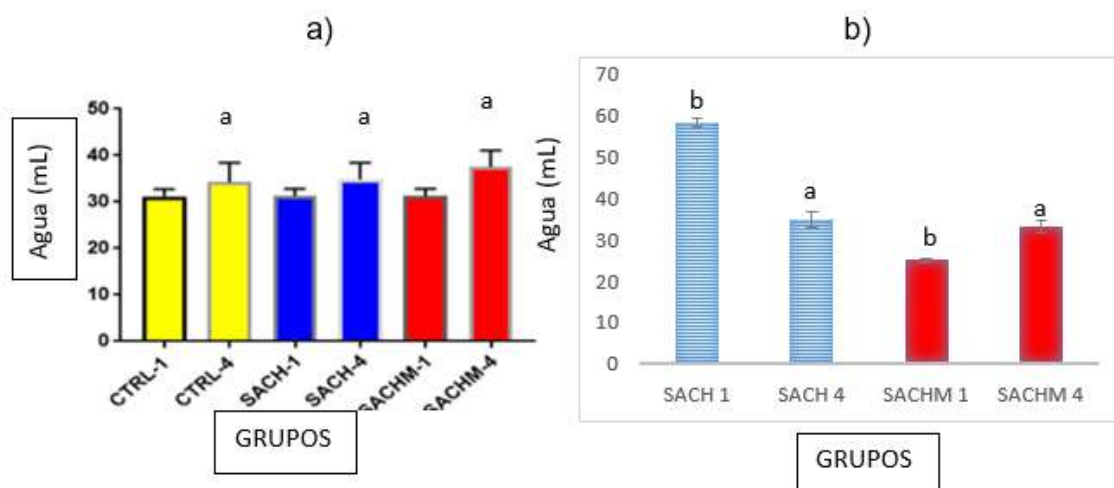


FIGURA 2 consumo de agua. Se muestra el promedio $\pm$ error estándar de 11-10 ratas respectivamente por grupo. Grupos no conectados por la misma letra son diferentes estadísticamente.

Con respecto a la ingesta de alimento se mostró que los grupos con DM tipo tanto en la etapa temprana como en la etapa tardía consumieron casi la mitad de alimento con respecto a los grupos control.

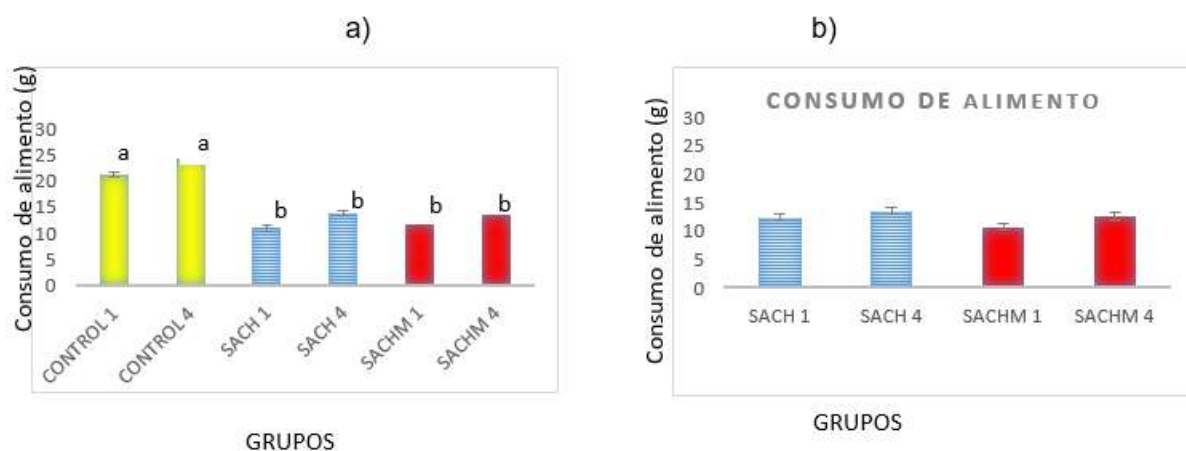


FIGURA 3 Ingesta de alimento por los animales de experimentación. El consumo de alimento presentado es el monitoreado en el promedio de una semana (s1 y s4), a) muestra los grupos CTRL, SACH y SACHM en la tabla b) SACH 38.5 y SACHM 38.5. El monitoreo se realizó diariamente, mostrándose en la tabla el promedio $\pm$ de cada semana y el error estándar de 11-10 ratas respectivamente por grupo. Grupos no conectados por la misma letra son diferentes

Semanalmente se fue monitoreando los niveles de glucosa en sangre, se observó un aumento significativo de la glucosa sanguínea en comparación con los grupos control como se muestra en la **tabla 4**

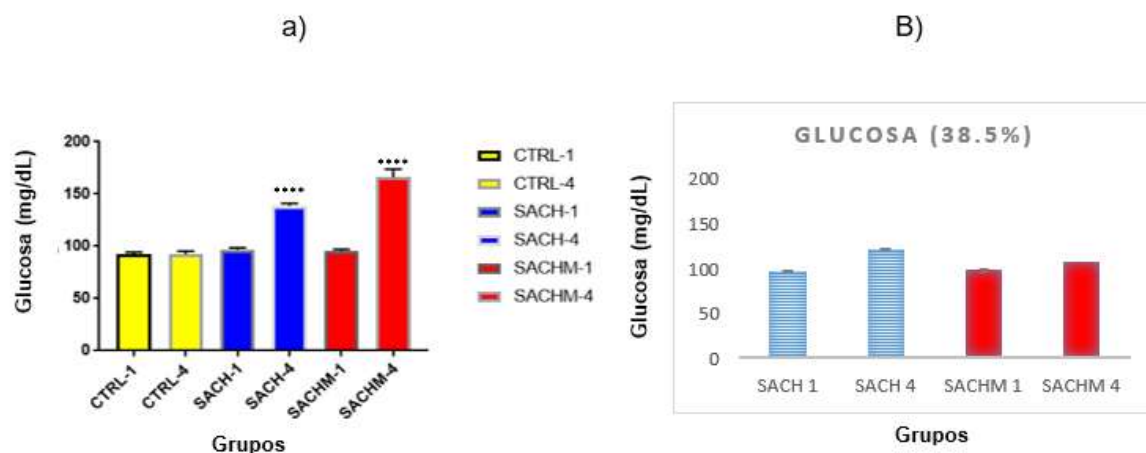


FIGURA 4 Niveles de glucemia en los animales con DME.

Las mediciones de índice glucémico fueron realizadas con un ayuno de 4 h de los animales. Se presentan los valores promedio de la S1 y S4 $\pm$ error estándar de 11-10 ratas por grupo. a) muestra los grupos CTRL, SACH y SACHM en la tabla b) SACH 38.5 y SACHM 38.5. los grupos SACH y SACHM. Se muestra la diferencia estadística con * ($x \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$)

La hiperglucemia de las ratas SACH 38.5 y SACHM 38.5 no mostraron una diferencia tan significativa como en el caso de los grupos SACH y SACHM estos últimos llegando a una diferencia de hasta **** por lo cual se procedió a realizar parámetros bioquímicos en estos grupos.

Basándonos en niveles de glucosa observados en ayunas se procedió a realizar una curva de tolerancia a la glucosa a los grupos CTRL, SACH y SACHM, para ello se realizó una administración intraperitoneal de 2 g de glucosa luego de un periodo de ayuno de 4 h. la medición de glucosa se realizó con glucómetro.

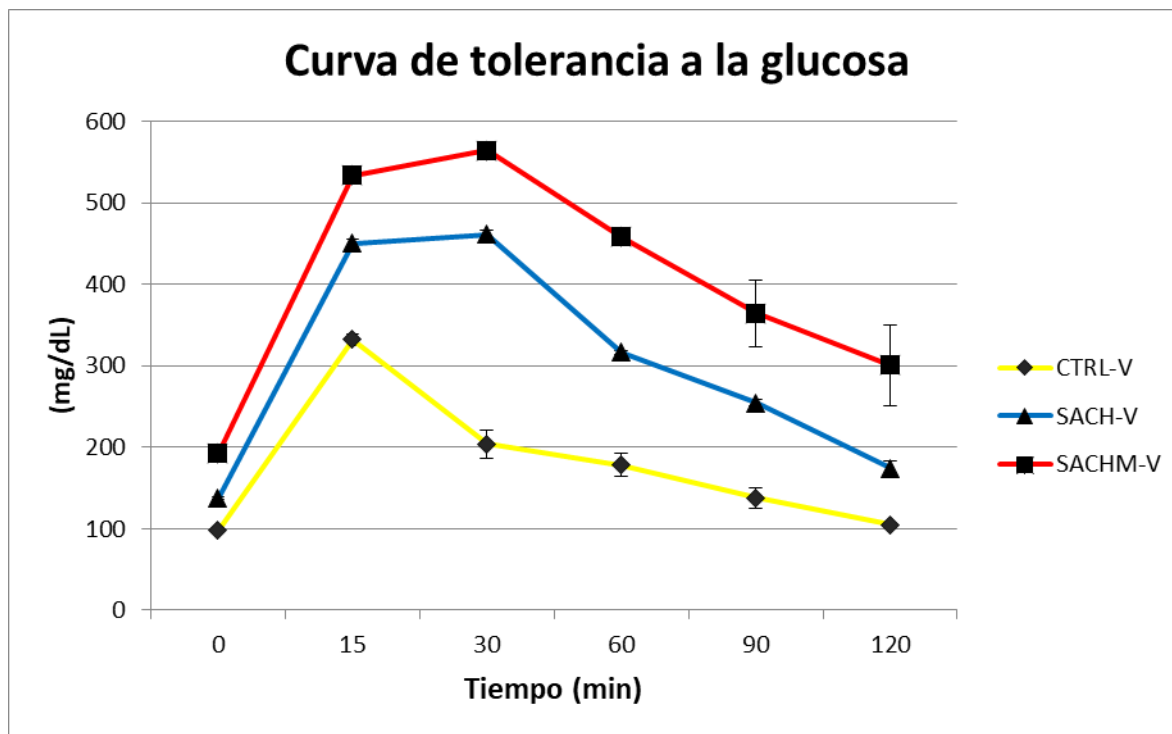


Figura 5. Curva de tolerancia a la glucosa. Se observa en la curva de tolerancia a la glucosa una marcada intolerancia de los grupos SACH Y SACHM aun a las 2 horas se ve que en estos grupos la glucosa no se redujo a niveles normales.

7.1 VALORACION DE PARAMETROS BIOQUIMICOS

Finalizada la monitorización del modelo de DM, los animales de experimentación fueron sacrificados y de ellos se obtuvo una muestra sanguínea intracardiaca para valorar diferentes parámetros bioquímicos, con la finalidad de apreciar si existió algún cambio en los resultados en comparación con las ratas control y los modelos existentes en la literatura.

Los grupos SACH y SACHM mostraron una hiperglicemia SACH ± 138 mg/dL y SACHM ± 166 mg/dL en promedio, este resultado es semejante a los que se observan en los modelos de diabetes mellitus tipo II. Sin embargo, la dieta en la que se adiciono una solución de sacarosa de 38.5% no mostro hiperglicemia significativa por ello se optó por realizar el perfil bioquímico solo a los grupo que obtuvieron un resultado significativo.

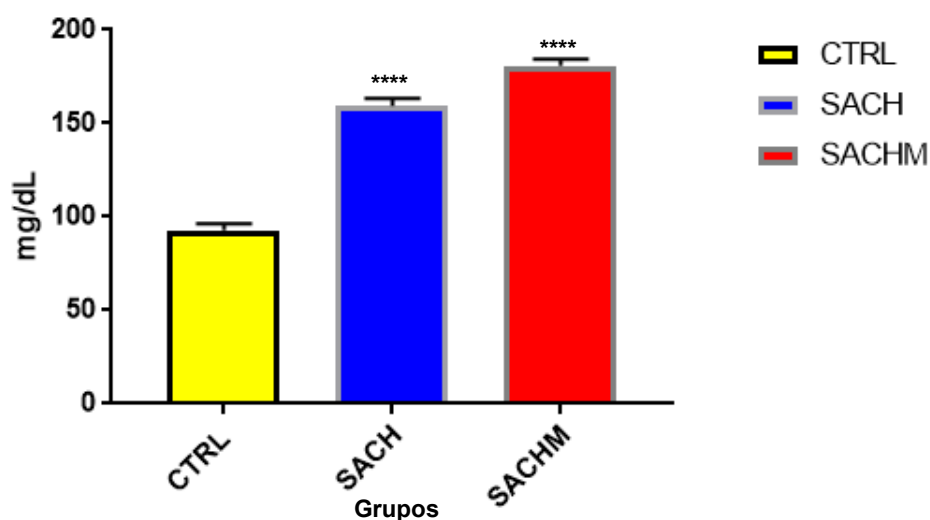


FIGURA 6. Glucosa $\pm$ E:E de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$**

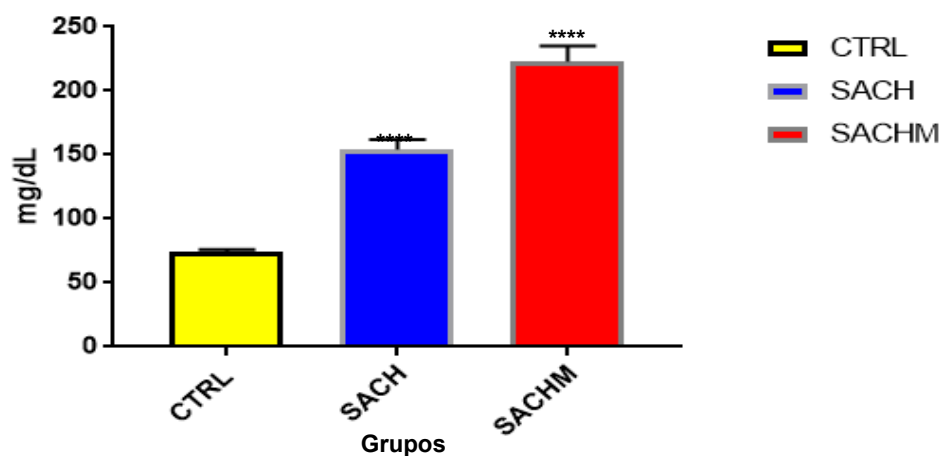


FIGURA 7 triglicéridos $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

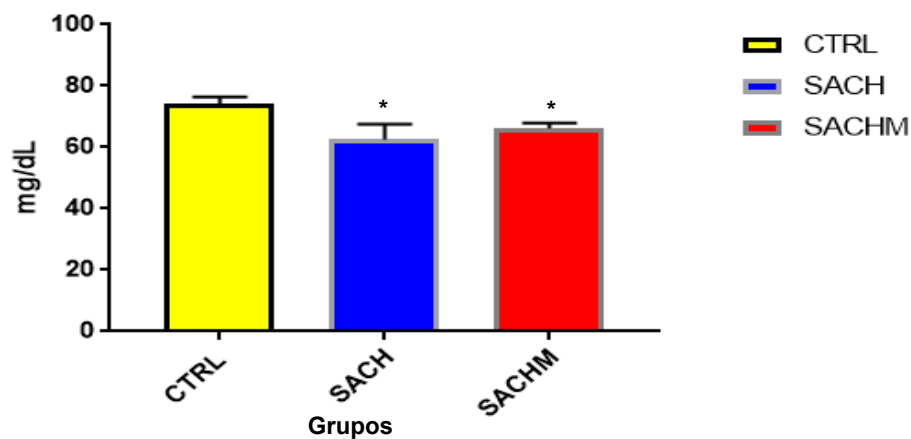


FIGURA 8 colesterol total $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$

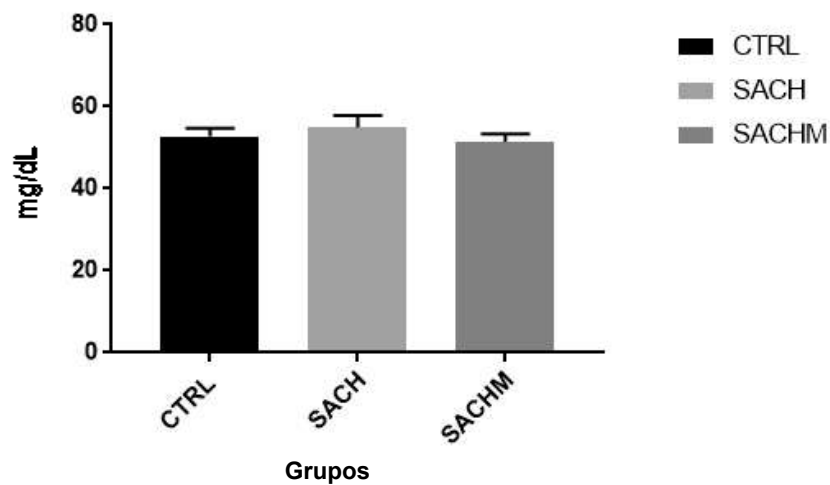


FIGURA 9 DHDL $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

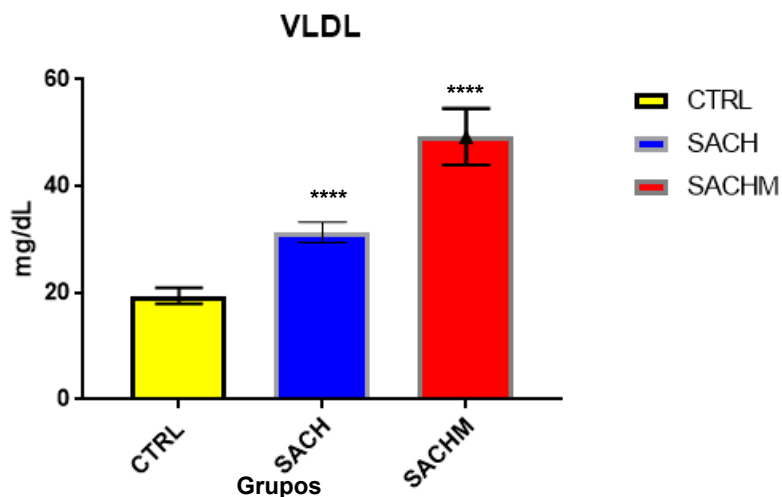


FIGURA 10 VLDL $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$

En cuanto a la valoración del perfil de lípidos, los grupos diabéticos mantuvieron una mayor concentración de triglicéridos y lipoproteínas que los transportan (VLDL).

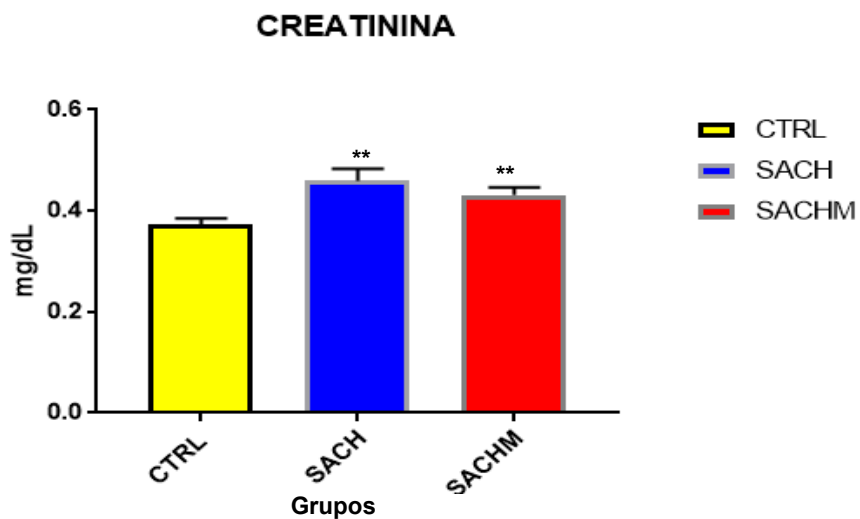


FIGURA 11 creatinina $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$, ** $p < 0.01$

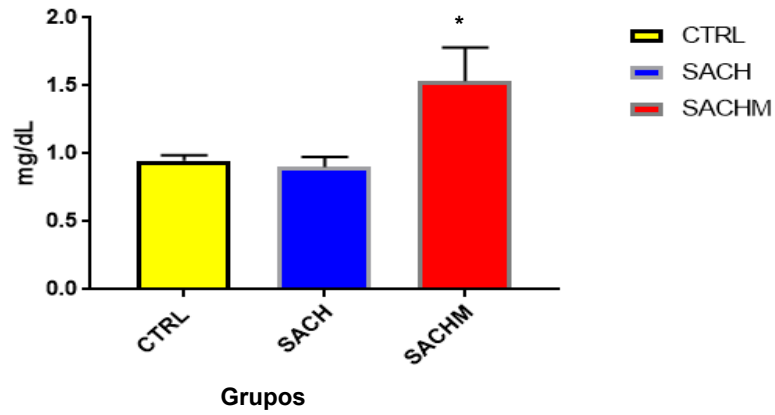


FIGURA 12 ACIDO URICO $\bar{x} \pm E:E$ de 10 a 11 animales por grupo. * $p < 0.005$

8.0 DISCUSION

El comportamiento aparentemente errático (que es posible observar) de la concentración de glucosa sanguínea a través del tiempo en las ratas inducidas a DMII durante el estudio es una respuesta lógica a las necesidades de readaptación metabólica del individuo y los sistemas de contra-regulación hormonal de la glucosa. En pacientes humanos con DMII no controlada, son comunes los hallazgos de glicemias que pueden ir de valores tan bajos como 60 mg/dL a valores que sobrepasan los 400 mg/dL. Esta condición es una de las principales características que indican una mala utilización y/o síntesis de la insulina, aunque es necesaria la confirmación a través de otras pruebas.

En este trabajo se utilizó una modificación en la dieta hipercalorica suficiente para disminuir la acción de la insulina en sus receptores. Lo anterior ha sido observado en modelos anteriores que utilizaban únicamente ratas obesas para su estudio.

La DMII se diagnostica por la presencia de los signos y síntomas clásicos, glucemia elevada en ayunas y/o curva de tolerancia a la glucosa alterada. En pacientes con sintomatología de diabetes la ADA especifica que sólo se necesita una glicemia mayor a 110 mg/dL en ayuno de 8 horas, o de 200 mg/dL en forma aleatoria para su confirmación. La concentración de glucosa sanguínea en los animales con DM2 observada en este trabajo es 50.9 % más alta que la reportada en la literatura (95 mg/dL) para los grupos controles. Los valores promedio en ratas con DMII reportados por diversos autores van de 119 a 350 mg/dL, dependiendo del manejo nutricional y estado fisiológico de los animales. En humanos, una concentración de glucosa sanguínea mayor a 110 mg/dL es un indicador de la disminución de la sensibilidad del receptor de insulina y se reportan como pacientes pre-diabéticos, a los cuales hay que realizar una prueba de tolerancia a la glucosa para confirmar o descartar DMII.

La modificación de la dieta muestra en un inicio una clara adaptación fisiológica para nivelar el alto consumo de carbohidratos sin embargo este se va perdiendo conforme pasa el tiempo comenzando con una elevación de la glucosa entre la semana 2 y 3, siendo la dispersión de los valores obtenidos consistente con el desarrollo de un modelo de DMII.

Uno de los parámetros afectados en pacientes diabéticos es el peso corporal. La literatura señala que los pacientes, previo al desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2, cursan con síndrome metabólico caracterizado por sobrepeso, intolerancia a la glucosa y alteración del metabolismo de los lípidos; sin embargo, ya establecida la enfermedad los pacientes presentan pérdida progresiva de peso corporal. En el presente estudio se puede observar que el efecto de la diabetes sobre esta variable (pobre ganancia de peso) concuerda con los datos reportados en la literatura donde se han implementado modelos con normo-peso.

La insulina, además de regular la utilización de la glucosa, tiene como función la regulación del metabolismo del tejido adiposo (almacenamiento, movilización y utilización de triglicéridos). Una de las alteraciones metabólicas observada en pacientes con DMII es el metabolismo de los lípidos, lo cual se ve reflejado en aumento de la concentración de triglicéridos y colesterol en sangre. Los datos reportados en la literatura para la concentración de estas moléculas en suero de ratas normales son de 80 mg/dl para triglicéridos este valor es cercano al que se observó en los animales del grupo CTRL, mientras que en los animales inducidos a DMII este valor se incrementa a más del doble, lo cual es similar a lo que ocurre en pacientes con DM2.

Los criterios utilizados para definir la condición de anormalidad en una CTG se basan en el nivel o pico alcanzado por la glicemia a los 60 minutos, y la falta de retorno al nivel normal dos horas después de la ingestión, siendo esto último lo más importante. En machos inducidos a DM2 se reportan concentraciones pico de 490 mg/dL a los 30 minutos con un retorno a niveles iniciales de a los 180 minutos. En el presente estudio, tanto el grupo testigo como el diabético tuvieron un comportamiento similar al reportado en la literatura. Los valores plasmáticos de insulina y glucosa en ayuno y posterior a la ingestión de una carga de carbohidratos, guardan relación mutua.

La diabetes es una enfermedad multifactorial y multisistémica, en la cual el desarrollo, incidencia y prevalencia de la misma está relacionada con factores inherentes a variables como edad, etapa fisiológica, genotipo y sexo, además de la influencia de factores ambientales. Por ello se requiere del desarrollo de modelos experimentales que reproduzcan la historia natural de la enfermedad. En el presente estudio se desarrollaron las alteraciones fisiologías reconocidas en la DMII de acuerdo a los criterios para el diagnóstico de ésta propuestos por la OMS y la ADA. Considerando los parámetros de las pruebas comúnmente utilizadas para el diagnóstico y control de la diabetes en humanos, los valores obtenidos son representativos del síndrome, sin embargo, se recomienda realizar algunas otras mediciones para la confirmación del diagnóstico como son mediciones de insulina Y péptido.

Los resultados del estudio muestran que los animales con un aumento hipercalórico en la dieta obtuvieron un incremento en los niveles plasmáticos de glucosa, así como una alteración en el perfil bioquímico, comúnmente asociado con la DM (aumento de triglicéridos, alteración en lípidos de baja y muy baja densidad).

9.0 CONCLUSIÓN

La ingesta de una dieta hipercalórico módica el metabolismo de carbohidratos en ratas produciendo alteraciones semejantes a las presentes en la diabetes mellitus tipo II.

10.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Accili D, Drago J, Lee EJ, Johnson MD, Cool MH, Salvatore P, et al. Early neonatal death in mice homozygous for a null allele of the insulin receptor gene. *Nat Genet.* 1996;12:106–109

American Diabetes Association 2015. Classification and diagnosis of diabetes.

Bansal R, Ahmandu R, Kiduai SR. Alloxan - glucose interaction. Effect of incorporation of 14 C - leucine into pancreatic islets of rats. *Acta Diabetol Lat.* 1980;17:13–143.

Bonner-Weir S, Trent DF, Weir GC. Partial pancreatectomy in the rat and subsequent defect in glucose-induced insulin release. *J Clin Invest.* 1983;71:1544–1553.

Breyer MD, Bottinger E, Brosius FC, Coffman TM, Fogo A, Harris RC, et al. Diabetic nephropathy: of mice and men. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2005;12:128–145.

Brosius FC, III, Alpers CE, Bottinger EP, Breyer MD, Coffman TM, Gurley SB, et al. Mouse models of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2009a;20:2503–2512.

Buch T, Heppner FL, Tertilt C, Heinen TJAJ, Kremer M, Wunderlich FT, et al. A Cre-inducible diphtheria toxin receptor mediates cell lineage ablation after toxin administration. *Nat Methods.* 2005;2:419–426

Chen, I.-C., Hill, J.K., Ohlemüller, R., Roy, D.B. & Thomas, C.D. (2011) Rapid Range Shifts of Species Associated with High Levels of Climate Warming. *Science*, 333, 1024-1026.

Cheng ZJ, Jiang YF, Ding H, Severson D, Triggle CR. Vascular dysfunction in type 2 diabetic TallyHo mice: role for an increase in the contribution of PGH2/TxA2 receptor activation and cytochrome p450 products. *Can J Physiol Pharmacol.* 2007;85:404–412.

Christianson SW, Shultz LD, Leiter EH. Diabetes. 1993 Adoptive transfer of diabetes into immunodeficient NOD-scid/scid mice. Relative contributions of CD4+ and CD8+ T-cells from diabetic versus prediabetic NOD.NON-Thy-1a donors. *Jan*;42(1):44-55.

Church C, Lee S, Bagg EA, McTaggart JS, Deacon R, Gerken T, et al. A mouse model for the metabolic effects of the human fat mass and obesity associated FTO gene. *PLoS Genet.* 2009;5:e1000599.

Church C, Moir L, McMurray F, Girard C, Banks GT, Teboul L, et al. Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat Genet.* 2010;42:1086–1092.

- Clee SM, Attie AD. The genetic landscape of type 2 diabetes in mice. *Endocr Rev.* 2007;28:48–83.
- Craighead JE, McLane MF. Diabetes mellitus: induction in mice by encephalomyocarditis virus. *Science.* 1968;162:913–914.
- Drel VR, Pacher P, Stavniichuk R, Xu W, Zhang J, Kuchmerovska TM, et al. Poly(ADP-ribose)polymerase inhibition counteracts renal hypertrophy and multiple manifestations of peripheral neuropathy in diabetic Akita mice. *International Journal of Molecular Medicine.* 2011;28:629–635.
- Dufrane D, van Steenberghe M, Guiot Y, Goebbels RM, Saliez A, Gianello P. Streptozotocin-induced diabetes in large animals (pigs/primates): role of GLUT2 transporter and beta-cell plasticity. *Transplantation.* 2006;81:36–45.
- Fenner D, Odili S, Hong HK, Kobayashi Y, Kohsaka A, Siepka SM, et al. Generation of N-ethyl-N-nitrosourea (ENU) diabetes models in mice demonstrates genotype-specific action of glucokinase activators. *J Biol Chem.* 2011;286:39560–39572.
- Fex M, Wierup N, Nitert MD, Ristow M, Mulder H. Rat insulin promoter 2-Cre recombinase mice bred onto a pure C57BL/6J background exhibit unaltered glucose tolerance. *J Endocrinol.* 2007;194:551–555.
- Girard CA, Wunderlich FT, Shimomura K, Collins S, Kaizik S, Proks P, et al. Expression of an activating mutation in the gene encoding the KATP channel subunit Kir6.2 in mouse pancreatic beta cells recapitulates neonatal diabetes. *J Clin Invest.* 2009;119:80–90.
- Goto Y, Kakizaki M, Masaki N. Production of spontaneous diabetic rats by repetition of selective breeding. *Tohoku J Exp Med.* 1976;119:85–90.
- Guberski DL, Thomas VA, Shek WR, Like AA, Handler ES, Rossini AA, et al. Induction of type I diabetes by Kilham's rat virus in diabetes-resistant BB/Wor rats. *Science.* 1991;254:1010–1013.
- Habener JF, Kemp DM, Thomas MK. Minireview: transcriptional regulation in pancreatic development. *Endocrinology.* 2005;146:1025–1034.
- Hara M, Wang X, Kawamura T, Bindokas VP, Dizon RF, Alcoser SY, et al. Transgenic mice with green fluorescent protein-labeled pancreatic beta -cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003;284:E177–E183.
- Hoppener JW, Oosterwijk C, van Hulst KL, Verbeek JS, Capel PJ, de Koning EJ, et al. Molecular physiology of the islet amyloid polypeptide (IAPP)/amylin gene in man, rat, and transgenic mice. *J Cell Biochem.* 1994;55(Suppl.):39–53.

Hugill A, Shimomura K, Ashcroft FM, Cox RD. A mutation in KCNJ11 causing human hyperinsulinism (Y12X) results in a glucose-intolerant phenotype in the mouse. *Diabetologia*. 2010;53:2352–2356.

Hummel KP, Dickie MM, Coleman DL. Diabetes, a new mutation in the mouse. *Science*. 1966;153:1127–1128.

Jederström, .G; Nordin, A.; Sjöholm, I.; Andersson, a. Blood glucose-lowering activity of a hyaluronan-insulin complex after oral administration to rats with diabetes. *Diabetes technology & therapeutics*, v. 7, n. 6, p. 948-957, 2005.

Jun y Yoon (2003) a new look at virus in type I diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis of observational molecular studies. *bmj* 342

Jurgens HS, Neschen S, Ortmann S, Scherneck S, Schmolz K, Schuler G, et al. Development of diabetes in obese, insulin-resistant mice: essential role of dietary carbohydrate in beta cell destruction. *Diabetologia*. 2007;50:1481–1489.

Kawano K, Hirashima T, Mori S, Natori T. OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty) rat: a new NIDDM rat strain. *Diabetes Res Clin Pract*. 1994;24(Suppl.):S317–S320.

Kim H, Toyofuku Y, Lynn FC, Chak E, Uchida T, Mizukami H, et al. Serotonin regulates pancreatic beta cell mass during pregnancy. *Nat Med*. 2010;16:804–808.

Kim JH, Stewart TP, Zhang W, Kim HY, Nishina PM, Naggert JK. Type 2 diabetes mouse model TallyHo carries an obesity gene on chromosome 6 that exaggerates dietary obesity. *Physiol Genomics*. 2005;22:171–181

Kluth O, Mirhashemi F, Scherneck S, Kaiser D, Kluge R, Neschen S, et al. Dissociation of lipotoxicity and glucotoxicity in a mouse model of obesity associated diabetes: role of forkhead box O1 (FOXO1) in glucose-induced beta cell failure. *Diabetologia*. 2011;54:605–616.

Lavine RL, Voyles N, Perrino PV, Recant L. Functional abnormalities of islets of Langerhans of obese hyperglycemic mouse. *Am J Physiol*. 1977;233:E86–E90.

Leahy JL, Bonner-Weir S, Weir GC. Minimal chronic hyperglycemia is a critical determinant of impaired insulin secretion after an incomplete pancreatectomy. *J Clin Invest*. 1988;81:1407–1414.

Leiter EH. Selecting the ‘right’ mouse model for metabolic syndrome and type 2 diabetes research. *Methods Mol Biol*. 2009;560:1–17.

Lenzen S, Tiedge M, Elsner M, Lortz S, Weiss H, Jorns A, et al. The LEW.1AR1/Ztm-iddm rat: a new model of spontaneous insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetologia*. 2001;44:1189–1196.

Lindstrom P. The physiology of obese-hyperglycemic mice [ob/ob mice] *Scientificworldjournal*. 2007;7:666–685.

Lukic M.L., A1-Sharif R., Mostarica M., Bahr G., and Behbehani K. (1991). Immunological basis of the strain differences in susceptibility to low-dose streptozotocin-induced diabetes in rats. In *Lymphatic Tissues and In vivo Immune Responses*, Imhof, et. al., Eds. (New York: Marcel Dekker), pp. 643-647.

Matthews, G., Campbell, S. E., Falconer, S., Joyner, L., Huggins, J., Gilliland, K., Grier, R., & Warm, J. S. (2002). Fundamental dimensions of subjective state in performance settings: Task engagement, distress and worry. *Emotion*, 2, 315-340

Matveyenko AV, Butler PC. Islet amyloid polypeptide (IAPP) transgenic rodents as models for type 2 diabetes. *ILAR J*. 2006;47:225–233

Matveyenko AV, Gurlo T, Daval M, Butler AE, Butler PC. Successful versus failed adaptation to high-fat diet-induced insulin resistance: the role of IAPP-induced beta-cell endoplasmic reticulum stress. *Diabetes*. 2009;58:906–916

McGuinness OP, Ayala JE, Laughlin MR, Wasserman DH. NIH experiment in centralized mouse phenotyping: the Vanderbilt experience and recommendations for evaluating glucose homeostasis in the mouse. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2009;297:E849–E855

Mordes JP, Bortell R, Blankenhorn EP, Rossini AA, Greiner DL. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. *ILAR J*. 2004;45:278–291.

Neubauer N, Kulkarni RN. Molecular approaches to study control of glucose homeostasis. *ILAR J*. 2006;47:199–211.

Nir T, Melton DA, Dor Y. Recovery from diabetes in mice by beta cell regeneration. *J Clin Invest*. 2007;117:2553–2561.

OMS, 2012. Diabetes. Nota descriptiva no. 312 [WWW Document]. WHO. URL. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/> (accessed 7.22.13)

Ostenson CG, Efendic S. Islet gene expression and function in type 2 diabetes; studies in the Goto-Kakizaki rat and humans. *Diabetes Obes Metab*. 2007;9(Suppl. 2):180–186

Portha B, Giroix MH, Serradas P, Gangnerau MN, Movassat J, Rajas F, et al. beta-cell function and viability in the spontaneously diabetic GK rat: information from the GK/Par colony. *Diabetes*. 2001;50(Suppl. 1):S89–S93

Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G. Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes*. 1974;23:889–895

Pozzilli P, Signore A, Williams AJ, Beales PE. NOD mouse colonies around the world – recent facts and figures. *Immunol Today*. 1993;14:193–196.

Reddy, K. J. ; Reddy, G. V. K. ; Reddy, M. B. ; Rao, M. R., 1995. Utilization of sorghum (*Sorghum vulgare*) grain by crossbred dairy heifers. *Livestock Adviser*, 20 (2): 11-13

Sandler S, Welsh M (1983) Effects of nicotinamide on alloxan and streptozotocin induced mouse pancreatic B cell cytotoxicity in vivo and in vitro. *Diabetologia* 23 : 197.

Song J, Xu Y, Hu X, Choi B, Tong Q. Brain expression of Cre recombinase driven by pancreas-specific promoters. *Genesis*. 2010;48:628–634.

Surwit RS, Kuhn CM, Cochrane C, McCubbin JA, Feinglos MN. Diet-induced type II diabetes in C57BL/6J mice. *Diabetes*. 1988;37:1163–1167.

Szkudelski T (2001) The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 50:537–546

Torres, Soto HJ Efecto de la dieta alta en acidos grasos sobre la percepcion del sabor dulce en ratas con DME. Tesis de licenciatura de nutrición. UNLA 2015.

Tourrel C, Bailbe D, Meile MJ, Kergoat M, Portha B. Glucagon-like peptide-1 and exendin-4 stimulate beta-cell neogenesis in streptozotocin-treated newborn rats resulting in persistently improved glucose homeostasis at adult age. *Diabetes*. 2001;50:1562–1570

van der Werf N, Kroese FG, Rozing J, Hillebrands JL. Viral infections as potential triggers of type 1 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev*. 2007;23:169–183.

Von Herrath MG, Filippi C, Coppieters K. How viral infections enhance or prevent type 1 diabetes-from mouse to man. *J Med Virol*. 2011;83:1672.

Wang RN, Kloppel G, Bouwens L. Duct- to islet-cell differentiation and islet growth in the pancreas of duct-ligated adult rats. *Diabetologia*. 1995;38:1405–1411.

Weir GC, Marselli L, Marchetti P, Katsuta H, Jung MH, Bonner-Weir S. Towards better understanding of the contributions of overwork and glucotoxicity to the beta-cell inadequacy of type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*. 2009;11(Suppl. 4):82–90

Wijesekara N, Dai FF, Hardy AB, Giglou PR, Bhattacharjee A, Koshkin V, et al. Beta cell-specific *Znt8* deletion in mice causes marked defects in insulin processing, crystallisation and secretion. *Diabetologia*. 2010;53:1656–1668.

Winzell MS, Ahren B. The high-fat diet-fed mouse: a model for studying mechanisms and treatment of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes*. 2004;53(Suppl. 3):S215–S219.

Yang Y, Santamaria P. Lessons on autoimmune diabetes from animal models. *Clin Sci (Lond)*. 110:627-39, 2006.

Yang Y, Santamaria P. T cells and autoimmunity. *The autoimmune diseases*, fourth Edition by Rose & MacKay (2003).

Yoon JW, Jun HS. Ann N Y Acad Sci. 2001 Cellular and molecular pathogenic mechanisms of insulin-dependent diabetic in nonhuman primates. *Diabetes*. 1986;35:712–716.

Zhou C, Pridgen B, King N, Xu J, Breslow JL. Hyperglycemic Ins2AkitaLdlr^{-/-} mice show severely elevated lipid levels and increased atherosclerosis: a model of type 1 diabetic macrovascular disease. *J Lipid Res*. 2011;52:1483–1493.