



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGIA

LABORATORIO DE NEUROBIOLOGIA

TESIS

EFFECTO DEL KAEMPFEROL SOBRE LA GLICEMIA EN
RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL DE
TIPO II

PRESENTA:

p.Q.F.B. TEXALI CANDELARIA GARCIA GARDUÑO

PARA OBTENER EL GRADO DE:

LICENCIADA EN QUÍMICO FARMACOBIOLOGIA

DIRECTOR DE TESIS:

D. en C. ROSALÍO MERCADO CAMARGO

CO-ASESOR:

D. en C. ÓMAR GUZMÁN QUEVEDO

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

MORELIA, MICHOACAN, ABRIL DE 2018

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

DEDICATORIA

Al compañero de mis días presentes y futuros, la persona que siempre ha creído en mí, me ha impulsado a ser mejor y nunca conformarme.

A mi madre que ha sido mi ejemplo de valentía en la vida, compañera de risas y tristezas.

A Martha por siempre ser la voz que me da aliento a no desanimarme y que me ha dado más que un parentesco, una gran amistad.

A mis amigas eternas Emma y Laura que estuvieron ahí para alegrarme los días.

AGRADECIMIENTOS

A mi padre por sus sacrificios y su apoyo para poder concluir uno de mis deseos, por siempre creer en mí.

Al doctor Rosalfo por ser el maestro que hizo que descubriera el asombroso mundo de la investigación, por aceptarme en su equipo aun suponiendo un gran esfuerzo al ser tiempos difíciles pero sobre todo gracias por su apoyo para concluir este proyecto, que sin su ayuda hubiese sido casi imposible.

A los revisores que dedicaron su valioso tiempo y su conocimiento para que pueda ser una mejor profesionista.

EFFECTO DEL KAEMPFEROL SOBRE LA GLICEMIA EN RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL DE TIPO II

TABLA DE CONTENIDO

	Página
INDICE DE FIGURAS	I
INDICE DE TABLAS	II
LISTA DE ABREVIATURAS	III
RESUMEN	V
ABSTRACT	VI
1.ANTECEDENTES	1
1.1 DIABETES MELLITUS	1
1.1.1 TIPOS DE DIABETES MELLITUS	1
1.1.2 DIABETES MELLITUS TIPO I	2
1.1.3 DIABETES MELLITUS TIPO II	3
1.2 EFECTOS EN EL METABOLISMO	4
1.2.1 METABOLISMO DE LA GLUCOSA	4
1.2.2 METABOLISMO LIPÍDICO	5
1.2.3 METABOLISMO PROTEICO	6
1.3 OBESIDAD	7
1.3.1 RELACIÓN ENTRE INSULINORESISTENCIA Y OBESIDAD	7
1.4 EPIDEMIOLOGIA	8
1.4.1 ESTADÍSTICAS DE DIABETES EN EL MUNDO	8
1.4.2 ESTADÍSTICAS DE DIABETES EN MÉXICO	8
1.5 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA DIABETES EN HUMANOS	9
1.6 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS EN RATAS	9
1.7 TEST DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA	10
1.8 TEST DE TOLERANCIA A LA INSULINA	11
1.9 TRATAMIENTOS PARA LA DIABETES	11
1.9.1 TIAZOLIDENODIONAS	12
1.9.2 METFORMINA	12
1.9.3 SULFONILUREAS	12
1.9.4 INSULINA EXÓGENA	12
1.9.5 TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS	13
1.10 FLAVONOIDES	13
1.10.1 PROPIEDADES DE LOS FLAVONOIDES	14
1.11 KAEMPFEROL	17

EFFECTO DEL KAEMPFEROL SOBRE LA GLICEMIA EN RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL DE TIPO II

2.JUSTIFICACIÓN	18
3.HIPÓTESIS	19
4.OBJETIVOS	20
4.1 OBJETIVO GENERAL	20
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5.MATERIALES Y MÉTODOS	21
5.1 ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	21
5.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS TIPO II	21
5.3 ESTRATEGIA METODOLÓGICA	22
5.4 ANÁLISIS BIOQUÍMICO	23
5.5 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE GRASA	23
5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	23
6.RESULTADOS	24
6.1 GLICEMIA	25
6.2 TOLERANCIA A LA GLUCOSA	26
6.3 SENSIBILIDAD A LA INSULINA	27
6.4 CONSUMO DE ALIMENTO	28
6.5 EFECTOS EN EL PESO CORPORAL	29
6.6 EFECTOS EN LA CANTIDAD DE GRASA	30
6.7 ANALISIS BIOQUÍMICO	31
6.7.1 GLUCOSA	31
6.7.2 ÁCIDO ÚRICO	32
6.7.3 CREATININA	33
6.7.4 COLESTEROL	34
6.7.5 LIPOPROTEÍNA DE MUY BAJA DENSIDAD	35
6.7.6 LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDAD	36
6.7.7 TRIGLICÉRIDOS	37
7. DISCUSIÓN	38
8. CONCLUSIÓN	39
9. BIBLIOGRAFÍA	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diabetes mellitus tipo 1 caracterizada por una disminución sérica de la insulina	2
Figura 2. Diabetes mellitus tipo 2 caracterizada por un defecto en la señalización de la insulina	3
Figura 3. Patogénesis de la DM2	4
Figura 4. Patofisiología de la hiperglicemia e incremento de ácidos grasos circulantes en DM2.....	6
Figura 5. Curva de tolerancia a la insulina	10
Figura 6. Estructura general de los flavonoides.....	13
Figura 7. Subclases de los flavonoides	14
Figura 8. Estructura química del kaempferol	17
Figura 9. Valores de glucosa en sangre de los días 1 y 8	25
Figura 10. Prueba de tolerancia la glucosa	26
Figura 11. Prueba de tolerancia a la insulina	27
Figura 12. Consumo de alimento durante el tratamiento con KMF días 1 y 8	28
Figura 13. Diferencia de peso corporal durante el tratamiento con KMF día 1 y 8	29
Figura 14. Efecto en la cantidad de grasa blanca después del tratamiento	30
Figura 15. Efecto del KMF sobre la glucosa al sacrificio.	31

Figura 16. Efecto del KMF sobre los niveles de ácido úrico al sacrificio	32
Figura 17.Efecto del KMF sobre los niveles de creatinina al sacrificio.....	33
Figura 18. Efecto del KMF sobre los niveles de colesterol al sacrificio	34
Figura 19. Análisis bioquímico de VLDL al sacrificio	35
Figura 20.Analisis bioquímico de HDL al sacrificio	36
Figura 21. Análisis bioquímico de triglicéridos al sacrificio	37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de diagnóstico de diabetes según la ADA	9
Tabla 2. Algunos flavonoides y sus efectos.....	16
Tabla 3. Lista de abreviaturas para interpretación de los resultados	24

LISTA DE ABREVIATURAS

°C	Grados Celsius
A1C	Fracción A1C de la hemoglobina humana
ADA	American Diabetes Association
CK-D1	Control kaempferol al día 1
CK-D8	Control kaempferol al día 8
CoA	Coenzima A
CV-D1	Control vehículo al día 1
CV-D8	Control vehículo al día 8
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DM2AGK-D1	Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y kaempferol al día 1
DM2AGK-D8	Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y kaempferol al día 8
DM2AGV-D1	Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y vehículo al día 1
DM2AGV-D8	Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y vehículo al día 8
DM2K-D1	Modelo de Diabetes mellitus con kaempferol y vehículo al día 1
DM2K-D8	Modelo de Diabetes mellitus con kaempferol y vehículo al día 8
DM2V-D1	Modelo de Diabetes mellitus y vehículo al día 1
DM2V-D8	Modelo de Diabetes mellitus y vehículo al día 8
DMG	Diabetes mellitus gestacional
DMSO	Dimetil sulfóxido
ENSENUT	Encuesta Nacional de Salud y Nutrición

g	gramos
h	horas
HDL	Lipoproteína de alta densidad
IL-1 β	Interleucina 1-beta
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
INSP	Instituto Nacional de Salud Pública
KMF	Kempferol
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LPL	Lipoproteína lipasa
mg/dL	Miligramos por decilitro
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
UI/Kg	Unidades internacionales por kilogramo de peso
VIP	Vía intraperitoneal
VLDL	lipoproteína de muy baja densidad

RESUMEN

La diabetes es una de las enfermedades crónicas degenerativas más frecuentes a nivel mundial y que en México y muchos países del mundo ha alcanzado proporciones de epidemia. La Organización Mundial de la Salud prevé que las muertes por diabetes se incrementen en un 55% entre 2005 y 2030 siendo predominante la diabetes tipo 2 con un 90% de todos los casos. La diabetes mellitus se caracteriza principalmente por una hiperglicemia crónica afectando a diferentes órganos provocando un estado grave de alteración metabólica. Por otro lado, en los últimos años se han estudiado diversos compuestos de origen natural y que poseen efectos antidiabéticos, como lo son los flavonoides, entre ellos el kaemferol, un polifenol con múltiples actividades, entre ellas la capacidad de disminuir los niveles elevados de glucosa mediante el incremento del consumo de glucosa en músculo, promover la viabilidad de las células β -pancreáticas expuestas a condiciones hiperglicémicas sumándole además sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración de kaemferol sobre la glicemia así como la respuesta a una carga exógena de glucosa usando un modelo de diabetes tipo dos experimental inducido por un consumo elevado de sacarosa y ácidos grasos saturados en ratas de dos meses de edad que se dividieron en 6 grupos siendo estos los siguientes: control vehículo control kaemferol, sacarosa vehículo, sacarosa kaemferol, ácidos grasos-sacarosa vehículo y ácidos grasos-sacarosa kaemferol a los cuales se les administró una dosis de 0.25 mg/kg de peso en inyección doble diaria cada 12h por vía intraperitoneal. Posteriormente a los 10 días se establecieron los niveles basales de glicemia y después se realizó una prueba de tolerancia a la glucosa, seguido de una dosis intraperitoneal de 2g/kg de dextrosa para así evaluar el efecto del kaemferol. Como resultado, se observó que el tratamiento con kaemferol normalizó la respuesta a glucosa exógena en los grupos sacarosa como en los ácidos grasos-sacarosa. Estos resultados muestran la capacidad del kaemferol para normalizar la condición hiperglicémica en un relativo periodo corto de tiempo.

Palabras clave: Hiperglicemia, flavonoide, insulinoresistencia, tolerancia a la glucosa, tratamiento alternativo.

ABSTRACT

Diabetes is one of the most frequent chronic degenerative diseases worldwide and has reached epidemic proportions in Mexico and many countries of the world. The World Health Organization predicts that deaths from diabetes will increase by 55% between 2005 and 2030 with type 2 diabetes predominating with 90% of all cases. Diabetes mellitus is characterized mainly by a chronic hyperglycemia affecting different organs causing a serious state of metabolic alteration. On the other hand, in recent years have been studied various compounds of natural origin and have antidiabetic effects, such as flavonoids, including kaempferol, a polyphenol with multiple activities, including the ability to lower high glucose levels by increasing muscle glucose consumption, promote the viability of β -pancreatic cells exposed to hyperglycemic conditions, adding its antioxidant and anti-inflammatory effects. The aim of this study was to evaluate the effect of the administration of kaempferol on glycemia as well as the response to an exogenous glucose load using a model of experimental type two diabetes induced by high consumption of sucrose and saturated fatty acids in rats of two months of age that were divided into 6 groups, these being: control vehicle control kaempferol, sucrose vehicle, sucrose kaempferol, fatty acids-sucrose vehicle and fatty acids-sucrose kaempferol to which they were administered a dose of 0.25 mg / kg of weight in double daily injection every 12 hours intraperitoneally. After 10 days, baseline blood glucose levels were established and then a glucose tolerance test was performed, followed by an intraperitoneal dose of 2g / kg dextrose to evaluate the effect of kaempferol. As a result, it was observed that the treatment with kaempferol normalized the response to exogenous glucose in the sucrose groups as in the sucrose-fatty acids. These results show the ability of kaempferol to normalize the hyperglycemic condition in a relatively short period of time.

1. ANTECEDENTES

1.1 Diabetes mellitus

La diabetes mellitus (DM) es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce insulina suficiente o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia (WHO 2017).

Para entender los mecanismos moleculares y celulares de la diabetes mellitus es necesario conceptualizar la forma en que la glicemia es controlada. La insulina es la hormona clave para la regulación de la glucosa sanguínea, generalmente la normoglicemia es mantenida por la interacción entre la acción de la insulina y la función de esta. De manera importante, la función de las células β -pancreáticas puede adaptarse a los cambios en la acción de la insulina, por ejemplo, un decremento en la acción de la insulina es acompañado de un aumento en la secreción de insulina (y viceversa). Entonces, la disfunción de las células β es un factor crítico en la patogénesis de esta enfermedad.

Al ser caracterizada por una hiperglicemia crónica, la diabetes da lugar a muchas complicaciones como son enfermedad cardiovascular, falla renal, ceguera y desórdenes neurológicos (Zanatta y Cols. 2008), por lo tanto, es de suma importancia comprender esta enfermedad para así poder dar un enfoque a la terapia y mejorar la calidad de vida de las persona que la padecen, lo cual es el objetivo final de los diversos fármacos y agentes que existen o que están en investigación.

1.1.1 Tipos de diabetes

Existen diferentes tipos de diabetes pero los principales son los siguientes:

1. Diabetes tipo I ó insulino dependiente (DM1). Destrucción de células β del páncreas con déficit absoluto de insulina.
2. Diabetes tipo II ó no insulino dependiente (DM2). Pérdida progresiva de la secreción de la insulina con resistencia a la insulina.
3. Diabetes mellitus gestacional (DMG). Diabetes que se diagnostica en el segundo o tercer trimestre del embarazo.
4. Diabetes específicas por otras causas (por ejemplo: MODY, fibrosis quística, diabetes inducida por medicamentos).

1.1.2 Diabetes mellitus tipo I

Afecta a todos los grupos etarios pero la edad en la que se diagnostica con mayor frecuencia es entre los 4 y 5 años o en la adolescencia.

La DM1 es el resultado de una reacción autoinmune contra las proteínas de los islotes β -pancreáticos que lleva a una incapacidad por estas células de secretar la insulina suficiente o incluso la nula producción de esta hormona, dando como respuesta una condición de hiperglicemia que posteriormente desencadenará diversas anomalías como lo son la lipólisis incontrolada, que se traduce en elevados niveles de ácidos grasos libres en el plasma lo que además conduce a la supresión del metabolismo de la glucosa en tejidos periféricos y la cetoacidosis, entre muchas otras alteraciones (Ozougwu y Cols.,2013).

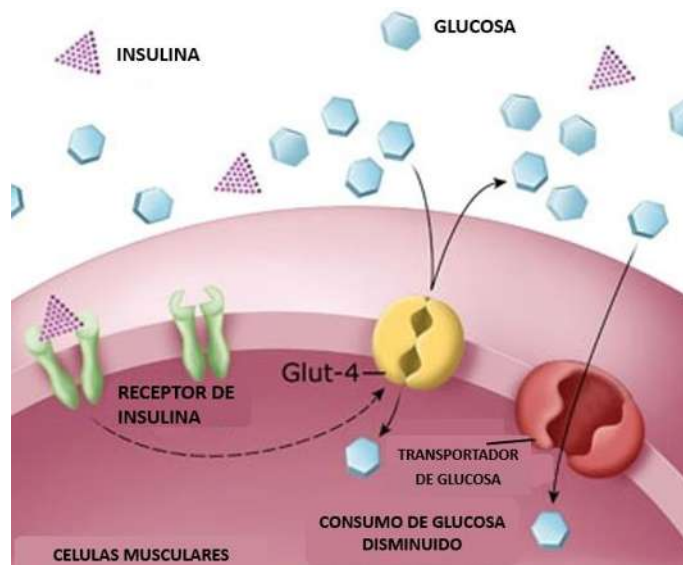


Figura 1. Diabetes mellitus tipo 1 caracterizada por una disminución sérica de la insulina. Figura tomada de Diabetes Teaching Center at the University of California (2017).

1.1.3 Diabetes mellitus tipo 2

La diabetes mellitus tipo II es la forma predominante de la diabetes, con al menos el 90% de todos los casos. La DM2 es un desorden metabólico causado por la combinación de factores genéticos relacionados con daños en la secreción de insulina, insulinoresistencia, o factores del entorno como la obesidad, comer en exceso, falta de ejercicio y estrés tanto como envejecimiento; pero diversos estudios han demostrado que los factores genéticos resultan de mayor importancia en el curso de esta enfermedad que los factores ambientales. (Ozougwu y Cols., 2013).

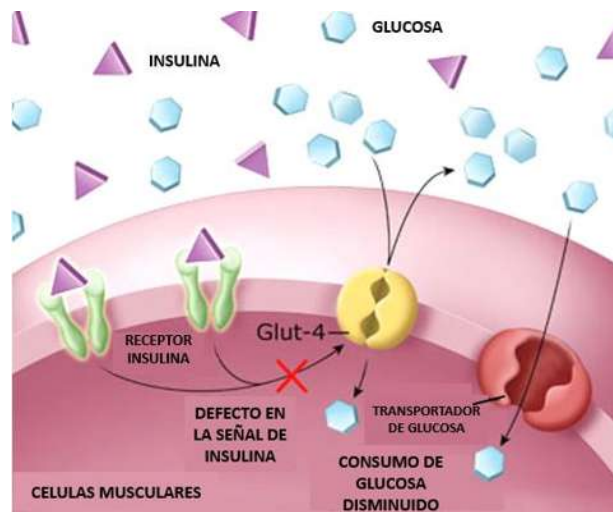


Figura 2. Diabetes mellitus tipo 2 caracterizada por un defecto en la señalización de la insulina. Figura tomada de Diabetes Teaching Center at the University of California (2017).

Este tipo de diabetes se caracteriza por un periodo de hiperinsulinemia e hiperglicemia en los inicios de la enfermedad, la primer condición mencionada es debido a la segunda; se da como respuesta una mayor secreción de insulina para compensar la condición hiperglicémica pero al haber un daño en la vía, no importa que se incremente la secreción de la hormona, la glicemia seguirá siendo elevada.

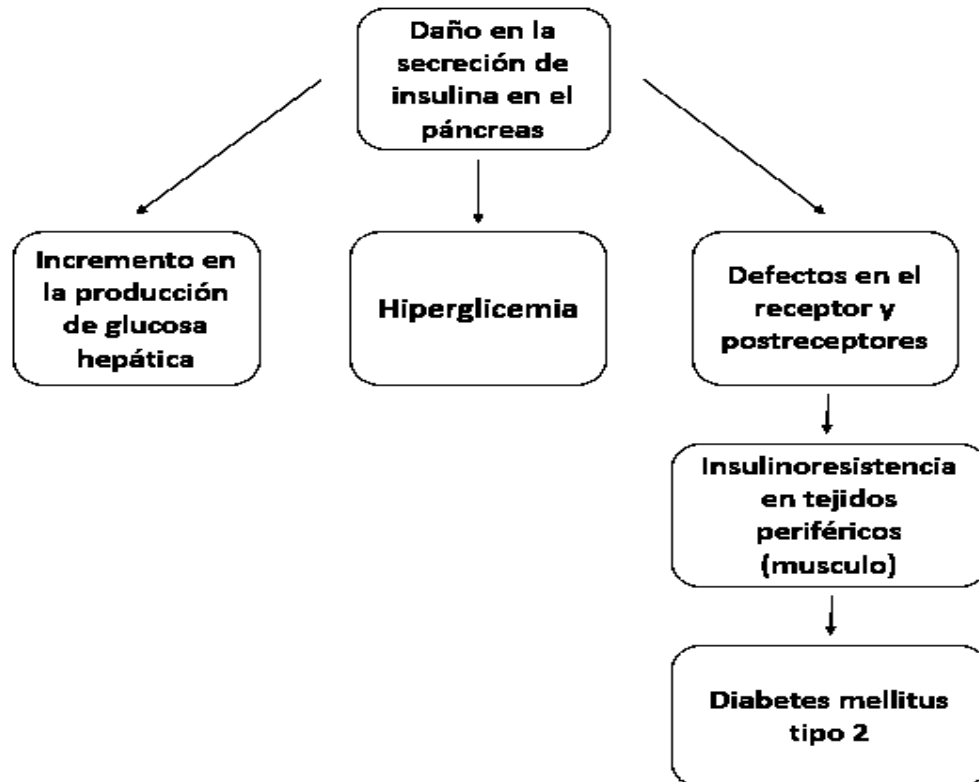


Figura 3. Patogénesis de la DM2. Figura tomada de Ozougwu y Col. (2013).

1.2 EFECTOS EN EL METABOLISMO

1.2.1 Metabolismo de la glucosa

Primero, el glucógeno hepático es movilizado y se inicia la gluconeogénesis para la producción de glucosa ya que al haber un daño en la entrada de glucosa a la célula, el organismo lo interpreta como un estado de inanición y debe compensar la falsa falta de glucosa.

La deficiencia de la insulina no solo afecta el metabolismo de la glucosa en el tejido hepático. En particular, en el tejido adiposo y en el músculo esquelético la insulina estimula el consumo de glucosa. Esto se logra mediante la movilización de la glucosa (mediada por insulina) con las proteínas transportadoras presentes en la membrana plasmática de estos tejidos. La reducción de la absorción de glucosa por los tejidos periféricos a su vez conduce a una tasa reducida de metabolismo de la glucosa.

La combinación del incremento en la producción de glucosa hepática y el metabolismo reducido en tejidos periféricos conlleva a elevados niveles de glucosa en plasma.

Cuando la capacidad de los riñones de absorber glucosa se sobrepasa, se presenta la glucosuria. La glucosa es un diurético osmótico con lo que la glucosuria va acompañada de una pérdida de agua y electrolitos. El resultado de la pérdida de agua lleva a la activación del mecanismo de la sed (polidipsia); el balance calórico negativo resultado de la glucosuria y el catabolismo en los tejidos dan como resultado a un incremento en el apetito y en el consumo de alimentos, que es la polifagia (Stumvoll y Cols.,2005).

1.2.2 Metabolismo lipídico

Uno de las principales funciones de la insulina es estimular el almacenamiento de la energía de los alimentos en forma de glucógeno en los hepatocitos y en el músculo esquelético. La insulina estimula la síntesis hepática y almacenamiento de triacilgliceridos en el tejido adiposo.

Una mala señalización se traduce en niveles elevados de triacilgliceridos en el plasma. Los ácidos grasos libres son consumidos por los tejidos (excepto el cerebro) para obtener energía cuando la glucosa no está disponible.

En ausencia de insulina, no se puede llevar a cabo el almacenamiento de lípidos (los niveles de Malonil CoA disminuyen) por lo que el mecanismo se desvía a la peroxidación lipídica (aumento de los niveles de Acetil CoA en las mitocondrias). La peroxidación mitocondrial genera Acetil CoA que no es oxidado en la vía de los ácidos tricarbónicos; si no que, en el hepatocito la mayor cantidad de Acetil CoA es metabolizado en cuerpos cetónicos (acetoacetato y b-hidroxibutirato) que son utilizados como fuente alternativa de energía en el cerebro, corazón y músculo esquelético. La producción en exceso de cuerpos cetónicos puede llevar al organismo a la condición de cetoacidosis, que tiene graves consecuencias, incluso la muerte del individuo si no es corregida. La cetoacidosis tiene como característica un olor distintivo como consecuencia de la degradación espontanea de estos cuerpos cetónicos a acetona de donde es proviente el olor.

Normalmente, los triacilgliceridos son regulados por una lipoproteína lipasa (LPL) que requiere insulina. La LPL es una enzima unida a la membrana de las células endoteliales que permite movilizar los ácidos grasos de la circulación para ser almacenados en los adipocitos. La ausencia de insulina tiene como resultado una hipertrigliceridemia (Ozougwu y Cols.,2013).

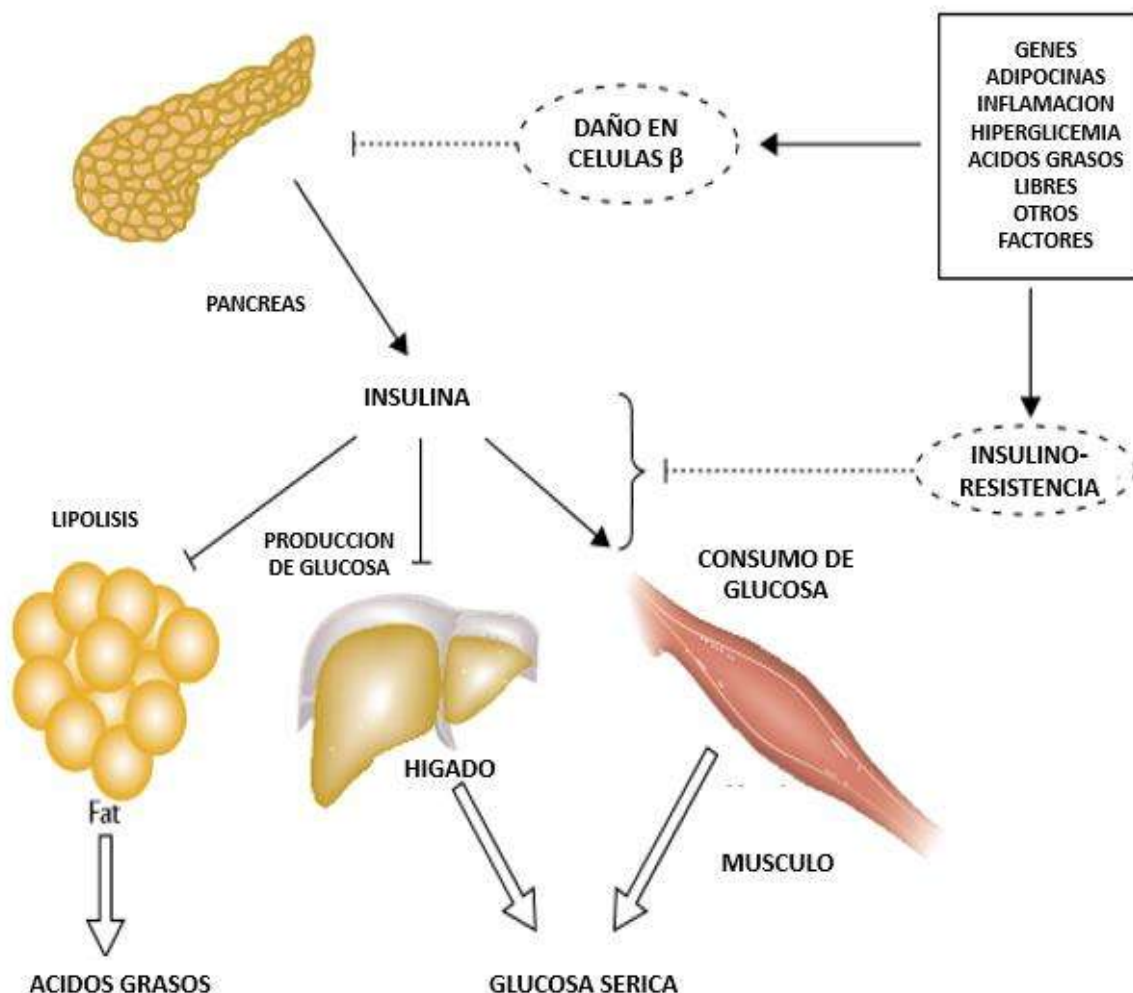


Figura 4. Patofisiología de la hiperglicemia e incremento de ácidos grasos circulantes en DM2. Figura tomada de Stumvoll y Cols. (2005).

1.2.3 Metabolismo proteico

La insulina regula la expresión de numerosos genes, ya sea de manera positiva o negativa, lo cual determina el curso del metabolismo hacia catabolismo o anabolismo.

La insulina tiene un efecto en el metabolismo proteico incrementando la síntesis de proteínas y reduciendo su degradación, entonces, una deficiencia insulínica conllevará a un catabolismo proteico incrementado. Además, el incremento en la proteólisis genera elevadas concentraciones de aminoácidos en plasma.

Los aminoácidos glucogénicos sirven como precursores de la gluconeogénesis hepática y renal, lo que contribuye a la hiperglicemia observada en esta enfermedad.

1.3 OBESIDAD

La resistencia a la insulina está fuertemente relacionada con la obesidad y la inactividad física. Un número elevado de hormonas y citosinas circulantes y otros combustibles metabólicos como los ácidos grasos no esterificados (originados en el tejido adiposo) modulan la acción de la insulina.

Una cantidad incrementada de grasa almacenada, especialmente en los depósitos subcutáneos profundos o grasa visceral, provoca que los adipocitos sean intolerantes a la insulina para suprimir la lipólisis, esto resulta en un incremento en la presencia de ácidos grasos no esterificados y glicerol, los cuales agravan la condición de insulinoresistencia en el músculo esquelético y el hígado por lo que la obesidad es uno de los factores de riesgo más importantes en el desarrollo de la DM2 (Kahn y Flier, 2000).

1.3.1 Relación entre insulinoresistencia y obesidad

La resistencia a la insulina se presenta cuando los efectos biológicos de esta hormona son menores a los esperados, es decir, la insulina es incapaz de mantener el manejo de la glucosa sanguínea entre muchas otras de las acciones de las que es responsable, como lo es la supresión de la producción de glucosa endógena por el hígado y la disposición de la glucosa en el músculo esquelético.

En estudios in vivo e in vitro se ha demostrado que el desarrollo de la resistencia a la insulina esta inicia con alteraciones en el metabolismo energético causando un incremento en el contenido de grasa intracelular del músculo esquelético, hígado, tejido adiposo y los islotes pancreáticos, que pronto progresará a diabetes mellitus (Alkhalidy y Cols., 2015).

En estado de ayuno, en el músculo se cuenta con solo una pequeña parte de glucosa (20%) mientras que la producción de glucosa endógena es responsable por el resto de la glucosa en plasma.

En la diabetes tipo II la producción de glucosa endógena esta aumentada por la presencia de una hiperinsulinemia, por lo menos en los primeros estadios de la enfermedad, por lo que la resistencia hepática a la insulina es la base de la hiperglucemia en la DM2.

1.4 EPIDEMIOLOGÍA

1.4.1 Estadísticas de diabetes en el mundo

La prevalencia de diabetes está incrementando rápidamente a nivel mundial y la organización mundial de la salud ha predicho que para el 2030 el número de diabetes podría aumentar al doble, de 177 millones en el 2000 a 370 millones. Expertos proyectan que la incidencia de diabetes de disparará a un 64% para el 2025, esto equivale a decir que 53.1 millones de personas serán afectadas por esta enfermedad (Rowley y Bezold, 2012).

La DM1 representa alrededor de un 10% de todos los casos, afecta aproximadamente a 20 millones de personas en el mundo (American Diabetes Association, 2001)

La DM2 es la forma predominante de la diabetes y representa al menos el 90% de todos los casos (Nolan y Cols., 2011). La edad de las personas afectadas va de los 40 a los 60 años, este asombroso incremento en la incidencia de DM2 está ligado al estilo de vida sedentario y con malos hábitos alimenticios.

1.4.2 Estadísticas de diabetes en México

De acuerdo con el CONAPO (2015), la diabetes es la principal causa de muerte en México, con el 15% de las muertes en el país.

El Instituto Nacional de Salud Pública (INEGI 2015) indica que 14% de los adultos en México tiene diabetes, y que las muertes podrían sumar 80 mil al año.

Además, la diabetes es la primera causa de ceguera prevenible en el adulto en edad productiva, la primera causa de insuficiencia renal terminal, la primera causa de amputaciones no traumáticas y la principal causa de infartos al miocardio.

Cabe mencionar que investigaciones del IINEGI (2015), Indica que uno de cada siete niños nacen de madres con diabetes gestacional o diabetes existente antes de la gestación y que coexiste con embarazo.

También se reportó lo siguiente:

-Uno de cada 10 adultos en México dice que padece diabetes, pero en edades de 60 a 69 años la prevalencia alcanza el 30%

-La región sur del país reporta la mayor prevalencia de la diabetes con el 11.1%

-8 de cada 10 personas con diabetes recibe tratamiento

-Efectos en las personas que padecen diabetes:

Visión disminuida (54.5%)

Daño en retina (11.19%)

Pérdida de la vista (9.9%)

Úlceras (9.14%) y

Amputaciones (5.5%) (ENSANUT 2016*)

1.5 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE LA DIABETES EN HUMANOS

Criterios diagnósticos para diabetes (ADA 2016).

El paciente deberá presentar dos ó más de los siguientes puntos:

Glucosa en ayuno mayor o igual a 126 mg/dL (sin ingesta calórica de 8 h).
Glucosa plasmática a las 2h mayor o igual a 200 mg/dL durante una prueba oral de tolerancia a la glucosa La prueba debe ser realizada con una carga de 75g de glucosa anhidra disuelta en agua.
Hemoglobina glicosilada (A1C) mayor o igual a 6.5%. Esta prueba debe realizarse en laboratorios certificados
Paciente con síntoma clásicos de hiperglicemia o crisis hiperglicémica con una glucosa al azar mayor o igual a 200 mg/dL

Tabla 1. Criterios de diagnóstico de diabetes (ADA 2016).

1.6 CRITERIOS DIAGNÓSTICOS EN RATAS

Este mamífero comparte los niveles de glucemia, síndrome de resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 similares al humano (Shafrir y Cols.1999; Srinivasan y Srinivasan y Ramarao, 2007), además de ser fácilmente manipulable por su alta capacidad de reproducción. Sin embargo, existe poca información sobre los parámetros glicémicos de este roedor sin embargo se maneja, por lo general que se cumpla con el siguiente requisito:

Concentración de glucosa sanguínea <200 mg/dL en ayuno de 8h considerando que las concentraciones en ratas normales son de 110 mg/dL en las mismas condiciones, además de presentar los signos característicos de la diabetes: polifagia, polidipsia, poliuria y pérdida de peso.

1.7 TEST DE TOLERANCIA A LA GLUCOSA

Esta prueba sirve para diagnosticar intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus tipo II. La prueba refleja la capacidad que tiene el organismo para eliminar el exceso de glucosa en sangre que en el caso particular de la diabetes mellitus se encuentra disminuida, por lo tanto los niveles de glucosa en sangre son más altos con respecto a los organismos sanos (Garcia, 2011).

Con los datos de la prueba se busca obtener una curva ya que se obtienen muestras de los tiempos 0 (glucosa basal), el tiempo 15, 30, 60, 90 y 120 minutos como se observa en la siguiente figura:

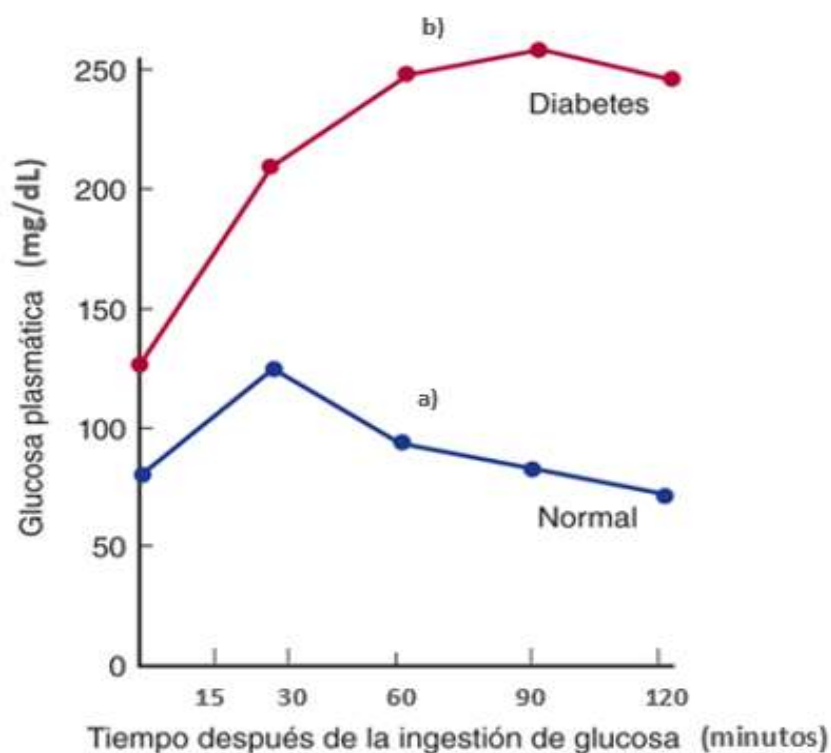


Figura 5. Curva de tolerancia a la insulina a) Curva normal y b) Curva en DM2.Figura tomada de Fisiología médica. Kim E. Barrett (2012).

1.8 TEST DE TOLERANCIA A LA INSULINA

La secreción de la insulina y acciones metabólicas de la misma, determinan primariamente el balance entre la utilización periférica de la glucosa y la producción hepática de la misma, por lo tanto esta prueba indirecta, dependiente del tiempo, es controlada por los estados de ayuno y la dinámica de sobrecarga de la glucosa y por los niveles de insulina (Muniyappa y Cols.2008).

Esta prueba se realiza para de la sensibilidad de la respuesta a la insulina por los tejidos. Esto se determina mediante la medición de la glicemia después de la administración intraperitoneal de insulina.

Es ampliamente utilizada en la práctica para el diagnóstico de la intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 (ADA, 2016).

Esta prueba consiste en lo siguiente:

1. Ayuno de 4 horas
2. Administración de dosis intraperitoneal de 0.75 UI/kg de peso (Cambrón,2018)
3. Cuantificación de la glicemia al tiempo 0, 30, 60, 90 y 120 minutos posteriores a la administración de la hormona.
4. Realización de una curva para su posterior análisis.

1.9 TRATAMIENTOS PARA LA DIABETES

El manejo de la diabetes se basa en controlar la hiperglicemia, que es la mejor forma de proteger a los pacientes de las complicaciones generadas a largo plazo.

Debido a que la insulina juega un papel fundamental en esta patología, los tratamientos van desde aquellos que promueven su secreción o los que ejercen una acción análoga a esta (insulina exógena) pero su vez, debe ser acompañado de un estilo de vida saludable en el que el paciente debe adoptar un régimen de ejercicio y dieta para lograr una mejora en la hiperglicemia.

Los medicamentos que son frecuentemente utilizados para el control de la diabetes son de diversos grupos:

1.9.1 Tiazolidenodionas

Son medicamentos que mejoran la sensibilidad a la insulina actuando como agonistas selectivos de receptores insulínicos que no solamente reducen la glicemia sino que también mejoran la función vascular, la dislipidemia y la inflamación observada en la diabetes. Este grupo de medicamentos actúan principalmente a nivel de tejido adiposo.

Sin embargo, a pesar de sus múltiples beneficios, muchos de los medicamentos de este grupo fueron retirados del mercado debido a los graves efectos secundarios que provocaban, como el cáncer de vejiga y la hepatitis inducida por fármacos (Alfaro y Cols.2000).

1.9.2 Metformina

Es un anti-hiperglucemiante muy efectivo. Disminuye la salida de glucosa hepática y además tiene efectos cardiovasculares benéficos pero no tiene acción antiinflamatoria ni mejora la insulinoresistencia comparada con las tiazolidenodionas, aunque su capacidad de abrogar la ganancia de peso (comúnmente observada en personas con insulinoresistencia) y el hecho de que mejora la secreción de la insulina le dan un importante valor a este medicamento.

1.9.3 Sulfonilureas

Como la inadecuada secreción de insulina es fundamental en el desarrollo de la hiperglicemia en la diabetes, los medicamentos que mejoran la secreción juegan un papel importante en el control de la glicemia, como lo son las sulfonil ureas, pero cabe destacar que tienen un potente efecto hipoglucemiante con lo que muchas veces se llega a la hipoglicemia, teniendo que tomarse en cuenta la duración de cada fármaco para evitar la condición mencionada, así por ejemplo; la tolbutamida, glicazida y la glipizida tienen relativamente, periodos cortos de acción; glimepirida y glibenclamida son de larga acción (24h), incrementando el riesgo de hipoglicemia.

1.9.4 Insulina exógena

Mantener concentraciones adecuadas de insulina resulta importante para que las tiazolidenodionas y la metformina tengan un efecto, ya que sin la adecuada disponibilidad de esta hormona pueden resultar ineficaces.

Esta alternativa, como las otras genera efectos secundarios que van desde salpullidos y aumento de peso, hasta dificultad respiratoria y calambres musculares (Alfaro y Cols.2000).

1.9.5 Tratamientos alternativos

Como se ha mencionado anteriormente, el uso de medicamentos para el tratamiento de la diabetes tiene algunas desventajas, como por ejemplo, el uso de varios medicamentos a la vez para que se consiga el efecto u otros como los efectos secundarios graves de algunos de los grupos.

Por ello, en los últimos años ha crecido el interés por productos naturales que son metabolitos secundarios de algunas plantas, teniendo un amplio rango de efectos biológicos. Algunos fitoconstituyentes de naturaleza polifenólica han mostrado un importante efecto antidiabético mediante diversos mecanismos que han sido publicados en estudios a lo largo de los últimos años. En esta tesis se hace referencia a los más estudiados, los flavonoides. (Alfaro y Cols.2000).

1.10 FLAVONOIDES

Los flavonoides representan una gran clase de al menos 6000 compuestos polifenólicos encontrados en frutas, vegetales, nueces, granos secos, cocoa, chocolate, té, soya, vino tinto y plantas entre otros.

Estructuralmente, los flavonoides consisten de dos anillos aromáticos (anillo A y B) ligados por tres carbonos y un oxígeno que forman un anillo heterocíclico (anillo C)

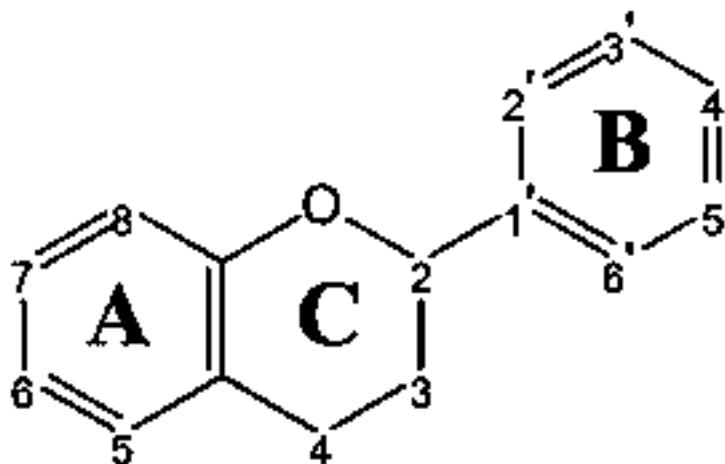


Figura 6. Estructura general de los flavonoides. Figura tomada de revista SciELO (2012).

Existen 6 subclases de flavonoides que son: las flavonas, flavonoles, flavanonas, isoflavonas y antocianidinas; estas categorías de acuerdo a las diferencias que presentan en el anillo C, los grupos funcionales en los anillos. Dentro de cada subclase, los componentes individuales están caracterizados por su hidroxilación y conjugación (Zanatta y Cols., 2008).

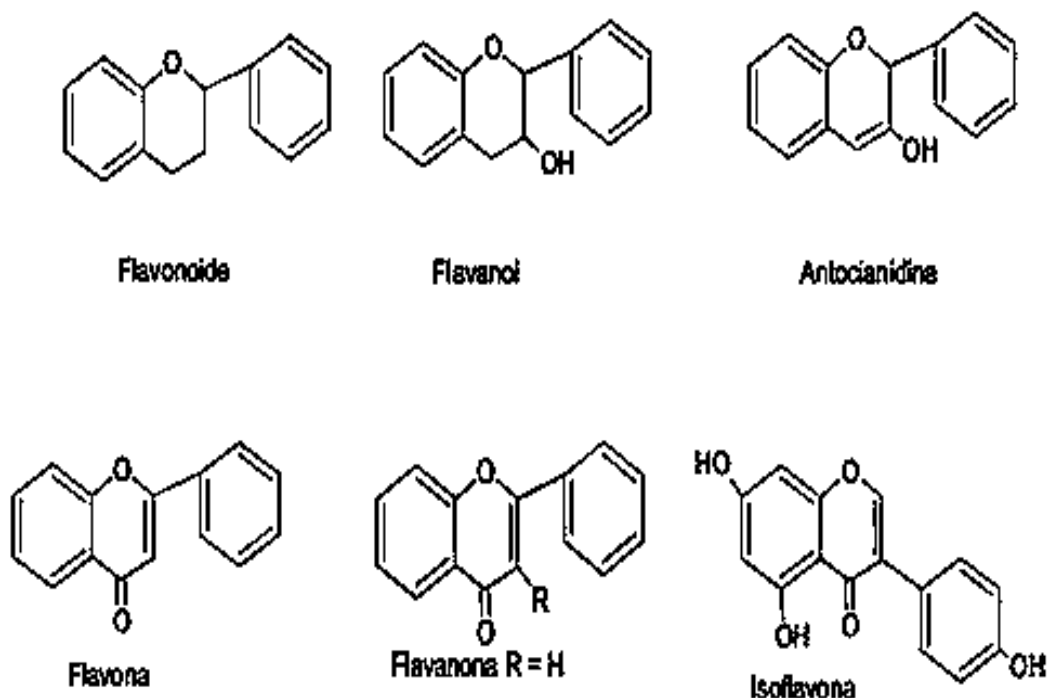


Figura 7. Subclases de los flavonoides. Figura tomada de revista SciELO (2012).

1.10.1 Propiedades de los flavonoides

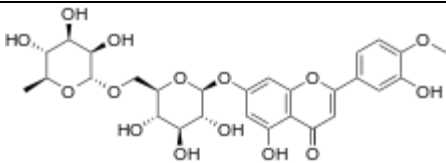
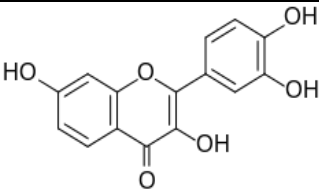
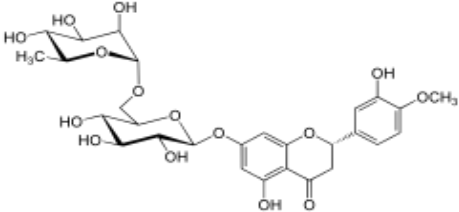
En años recientes ha crecido el interés por agentes hipoglucemiantes de productos naturales especialmente los derivados de plantas. Estos representan un método alternativo para el tratamiento contra la diabetes porque la mayoría de los agentes hipoglucemiantes y la insulina tienen algunos efectos adversos que pueden afectar significativamente el curso de la diabetes. Muchos flavonoides ejercen efectos en el transportador de glucosa y en la función del receptor de insulina en estudios in vitro (Zanatta y Cols., 2008)

Por otra parte, mientras que las técnicas, fármacos e intervenciones quirúrgicas actuales han mejorado la supervivencia de un gran número de individuos con diabetes, la prevalencia de diabetes sigue creciendo de manera exponencial y se

EFECTO DEL KAEMPFEROL SOBRE LA GLICEMIA EN RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL DE TIPO II

prevé que el número de personas con esta enfermedad se duplicara en algunos países para el 2025 (King y Cols.,1998)

Las aplicaciones terapéuticas de flavonoides en el tratamiento y prevención de enfermedades en humanos han sido demostradas mediante diversos estudios recientes (Martínez y Cols., 2014; Vinayagam y Xu,2015). Los flavonoides tienen la capacidad de neutralizar radicales libres y quelar metales y, dada la hipotética relación entre diabetes e inflamación los flavonoides tiene la propiedad de reducir el riesgo de diabetes al poseer también propiedades antiinflamatorias. Estudios adicionales han demostrado otras actividades de estos compuestos polifenólicos como antivirales, antialérgicas y anticarcinogénesis, pero las propiedades varían de una subclase a otra incluso dentro de la misma clase .Así mismo en la siguiente tabla se mencionan algunas propiedades específicas de algunos de los flavonoides más estudiados.

FLAVONOIDE	SUBCLASE	MECANISMO DE ACCIÓN
 Diosmina	Flavona	Estimula la síntesis de insulina a nivel células β del páncreas, disminuye los niveles de glucosa en sangre y la peroxidación lipídica
 Fisetina	Flavonol	Mejora la homeostasis de la glucosa, aumenta la glucolisis y disminuye la gluconeogénesis y efecto antiinflamatorio; aumenta la función mitocondrial, aumenta niveles de HDL y disminuye los de LDL y VLDL
 Hesperidina	flavanona	Disminuye la generación de radicales libres y de citosinas ($\text{TNF-}\alpha$ y $\text{IL-1}\beta$), antiangiogénico, antiinflamatorio, disminuye hemoglobina glicosilada y la peroxidación lipídica

EFFECTO DEL KAEMPFEROL SOBRE LA GLICEMIA EN RATAS CON DIABETES MELLITUS EXPERIMENTAL DE TIPO II

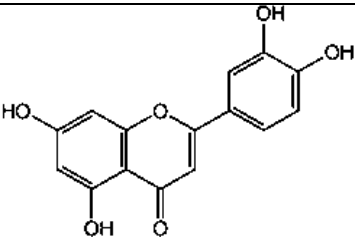
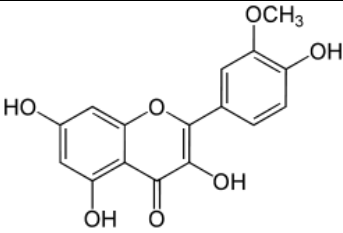
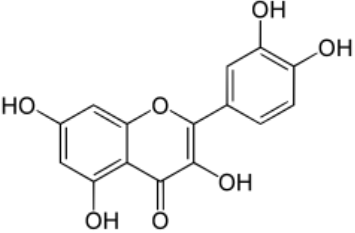
 Luteolina	flavonol	Antiinflamatorio, estimula la síntesis de especies antioxidantes, suprime lipogénesis hepática e incrementa el consumo de ácidos grasos libres, aumenta la síntesis de insulina y del glucógeno
 Isoharmnetina	isoflavona	Estimula la secreción de insulina, inhibición de la adipogénesis
 Quercetina	flavonol	Incrementa la actividad de la enzima glicógeno sintasa, la expresión de caspasas, antiinflamatorio, mejora la condición hiperglicémica y el estrés oxidativo, previene la muerte de las células β del páncreas, reduce la producción de especies reactivas del nitrógeno, disminuye la hemoglobina glicosilada

Tabla 2. Algunos flavonoides y sus efectos. Figura tomada de Vinayagam y Xu (2015).

1.11 KAEMPFEROL

Es un flavonoide que es relativamente abundante en el Ginkgo biloba, los vegetales como el brócoli, la col, repollo verde, toronja, té y algunas bayas comestibles. También se aísla de las hojas de *Bauhinia forticata*.

El kaempferol es capaz de disminuir los niveles séricos de glucosa e incrementar el consumo de glucosa en el músculo soleo (estudio realizado en ratas) tan eficientemente como la insulina. Estudios in vitro demostraron que el tratamiento con este Flavonol promueve la viabilidad, inhibe la muerte por apoptosis y reduce la actividad de la caspasa-3 en células β pancreáticas y los islotes humanos crónicamente expuestos a una condición de hiperglicemia (efecto protector).

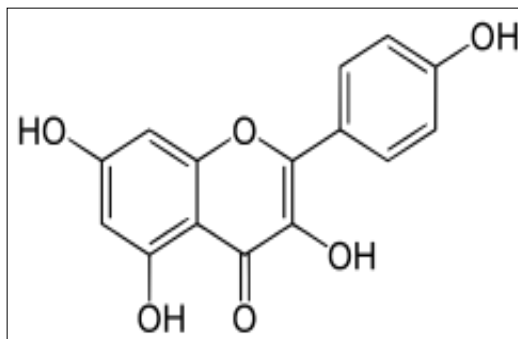


Figura 8. Estructura química del kaempferol. Figura tomada de Fukumoto y Cols.(1994)

La administración de kaempferol en modelos experimentales demostró regresar a la normalidad los niveles elevados de glucosa plasmática además de los niveles de insulina, productos de peroxidación lipídica y antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos; reduce además la respuesta de la IL-1 β , TNF- α y nitritos al mejorar la respuesta antioxidante. Además disminuye los niveles de hemoglobina glicosilada y mejora la condición de insulinoresistencia (Alkhalidy y Cols.2015; Moore, 2017; Zang y Cols.,2015).

El kaempferol es un compuesto altamente soluble en dimetil-sulfóxido (DMSO) y es soluble en etanol caliente y éter etílico.

2. JUSTIFICACIÓN

La diabetes mellitus es una de las enfermedades de mayor prevalencia a nivel mundial y que además ha aumentado de manera alarmante en los últimos años. Por otra parte, la DM2 ocupa alrededor del 90% de los casos de diabetes siendo la hiperglicemia la característica más importante de esta enfermedad por lo que una parte importante en la terapéutica de la diabetes son los agentes hipoglucemiantes y si bien, la industria farmacéutica cuenta con un gran variedad de estos agentes, se sabe que la mayoría de ellos tiene graves efectos adversos y, considerando que se trata de una enfermedad crónica es necesaria la investigación de aquellos que tengan un mayor margen de seguridad por lo que en los últimos años ha sido de gran interés la investigación de hipoglucemiantes de origen natural, razón por la cual el uso de fitoconstituyentes representa una alternativa en la terapia de la enfermedad, siendo el grupo de los flavonoides el más investigado actualmente.

El kaempferol es un flavonoide que ha demostrado disminuir los niveles séricos de glucosa en ratas diabéticas y además ha mostrado efectos protectores de las células pancreáticas promoviendo la secreción de insulina, sin embargo, los efectos de la administración de Kaempferol sobre la regulación de la hiperglicemia no ha sido probado en modelos experimentales de DM2.

3. HIPÓTESIS

La administración de kaempferol a ratas con diabetes mellitus tipo 2 experimental disminuirá los niveles de glucosa y modificara el estado de insulinoresistencia.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar los efectos de la administración de kaempferol sobre un modelo de diabetes mellitus tipo II experimental en ratas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar el efecto del kaempferol sobre los niveles plasmáticos de glucosa en ratas hiperglicémicas y,
2. Evaluar si el kaempferol modifica la intolerancia a la glucosa observada en animales con diabetes mellitus de tipo 2 experimental.
3. Evaluar si el kaempferol modifica el peso corporal y la cantidad de tejido adiposo.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 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 $60 \pm 5\%$.

5.2 IMPLEMENTACIÓN DEL MODELO EXPERIMENTAL DE DIABETES MELLITUS TIPO II

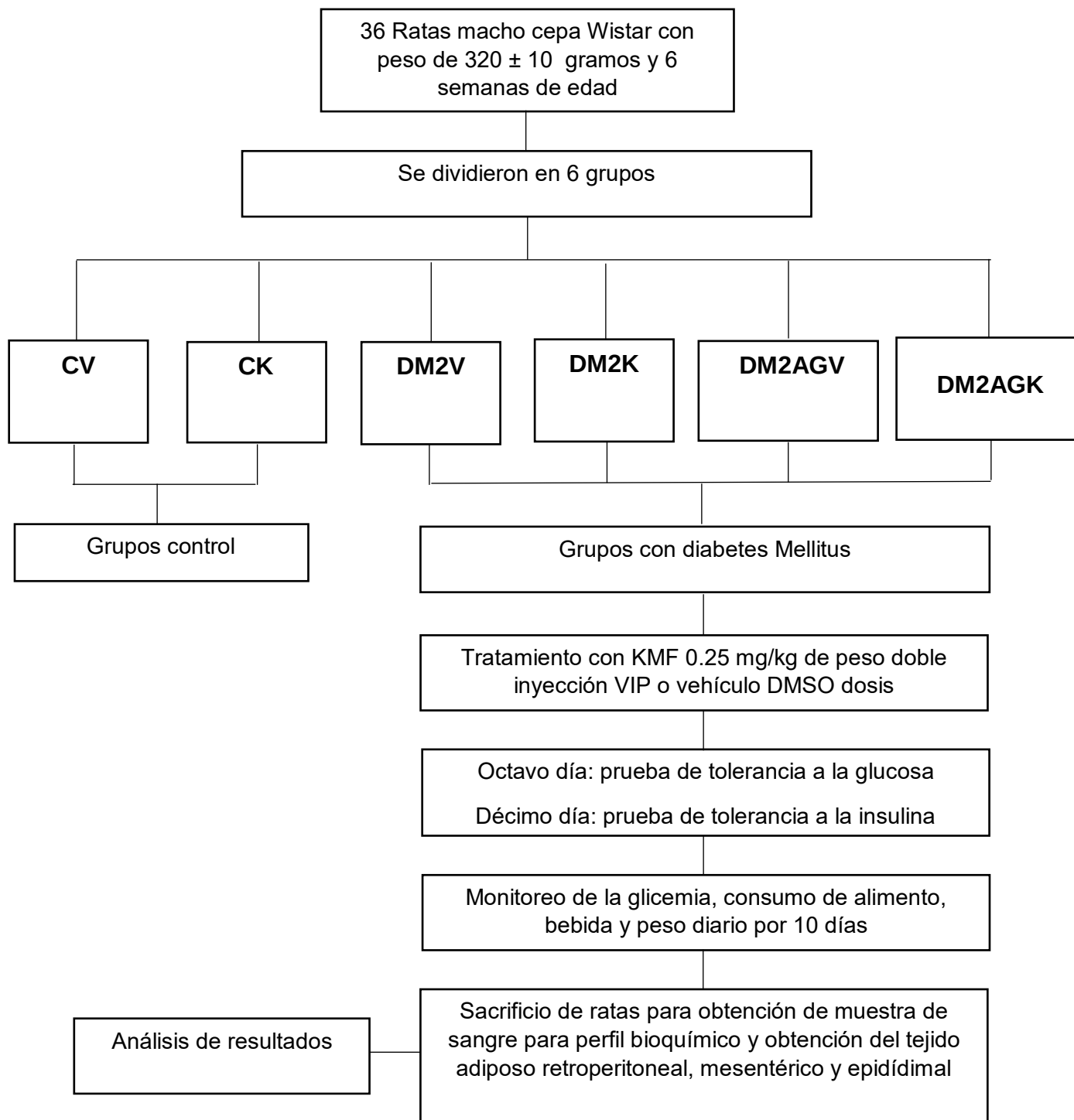
Inducción del cuadro diabético: Los animales de experimentación (Ratas macho cepa Wistar) recibieron un estímulo de sacarosa al 50% durante 5 semanas, al término de las cuales se determinó la hiperglicemia, la ingesta de agua y alimento, el peso y se mostró que presentaron el cuadro característico de la DM2 (Cambrón,2018).

Posteriormente estos animales fueron utilizados para el tratamiento con kaempferol mediante seis grupos:

1. Grupo control vehículo **(CV)**: Grupo sin DM2 que fue tratado únicamente con el vehículo dimetil-sulfóxido (DMSO) grado reactivo.
2. Grupo control kaempferol **(CK)**: Grupo sin DM2 que recibió tratamiento con kaempferol (KMF)
3. Grupo con diabetes mellitus tipo 2–vehículo **(DM2V)**: Grupo al que solo se le administró DMSO y al que se le indujo el cuadro de diabetes por medio de una solución de sacarosa al 50%.
4. Grupo con diabetes mellitus tipo II-kaempferol **(DM2K)**: Grupo que recibió las dosis correspondientes de KMF con DM2 inducida mediante una solución de sacarosa al 50%.
5. Grupo con diabetes mellitus tipo 2+margarina-vehículo **(DM2AGV)**: Grupo que recibió el DMSO pero que fue inducido a la DM2 mediante una dieta con una solución azucarada al 50% además de ácidos grasos saturados (margarina).
6. Grupo con diabetes mellitus tipo 2+margarina-kaempferol **(DM2AGK)**: Grupo que fue tratado con KMF e inducido a la DM2 mediante una dieta con una solución

azucarada al 50% + margarina. Posteriormente se llevó a cabo la siguiente:

5.3 Estrategia metodológica:



5.4 ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Se llevó a cabo un perfil bioquímico que constó de los siguientes elementos:

Glucosa

Triglicéridos

Colesterol

HDL

VLDL

Ácido úrico

Creatinina

5.5 DETERMINACIÓN DE LA CANTIDAD DE GRASA

Se cuantificó la cantidad de grasa mesentérica, epidídimal y retroperitoneal mediante la extracción de la misma y su posterior pesaje para determinar si la administración de kaempferol tuvo un efecto en el tejido adiposo.

5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se calculó el promedio y el error estándar de los datos experimentales, y se empleo la t de student para determinar la significancia estadística entre grupos. Se empleo el programa Graph Pad Prism versión 7.01 para realizar los gráficos.

6. RESULTADOS

CV-D1: Control vehículo al día 1

CV-D8: Control vehículo al día 8

CK-D1: Control kaempferol al día 1

CK-D8: Control kaempferol al día 8

DM2V-D1: Modelo de Diabetes mellitus y vehículo al día 1

DM2V-D8: Modelo de Diabetes mellitus y vehículo al día 8

DM2K-D1: Modelo de Diabetes mellitus con kaempferol y vehículo al día 1

DM2K-D8: Modelo de Diabetes mellitus con kaempferol y vehículo al día 8

DM2AGV-D1: Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y vehículo al día 1

DM2AGV-D8: Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y vehículo al día 8

DM2AGK-D1: Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y kaempferol al día 1

DM2AGK-D8: Modelo de Diabetes mellitus con administración de margarina y kaempferol al día 8

Tabla 3. Lista de abreviaturas para interpretación de los resultados.

6.1 Glicemia

Después de 8 días del tratamiento los animales a los que se les administró kaempferol mostraron una disminución de la hiperglicemia en diferentes grados cada uno, en el grupo control kaempferol mostrado en amarillo se observó una ligera disminución de la glicemia con respecto al día uno pero el grupo de DM2K en azul y el DM2AGK en color naranja, mostraron una marcada disminución al octavo día, como se puede observar en la figura 10, siendo el grupo DM2K el que existió una diferencia notoria.

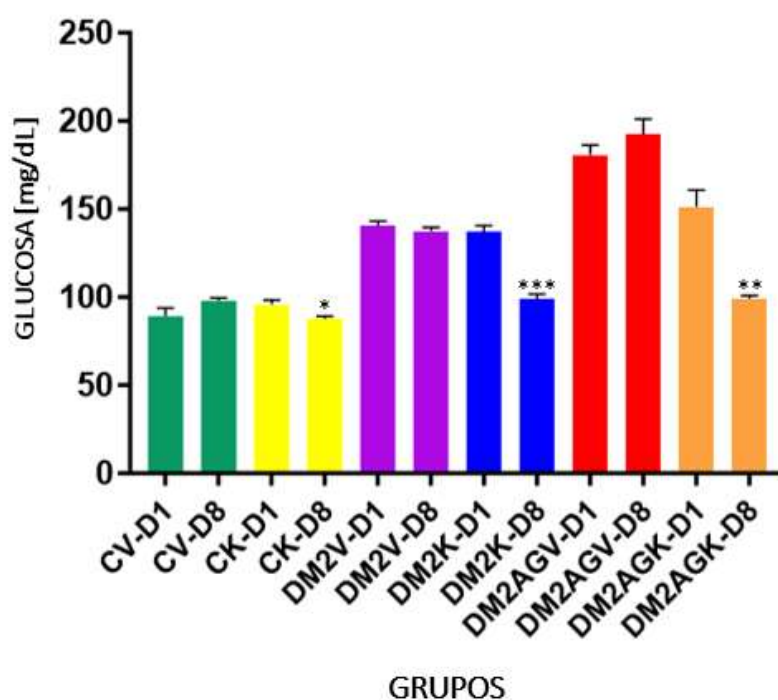


Figura 9. Valores de glucosa en sangre de los días 1 y 8. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

6.2 Tolerancia a la glucosa

Para el test de tolerancia a la glucosa se realizó una toma de muestra en los minutos 0, 15, 30, 45, 60, 90 y 120 pero para fines estadísticos solo se tomaron en cuenta los puntos 0 y 120 según la figura 11: los grupos con DM2 tratados con KMF no tuvieron una mejor tolerancia a la glucosa ya que la glicemia mostró un comportamiento similar al de los grupos control.

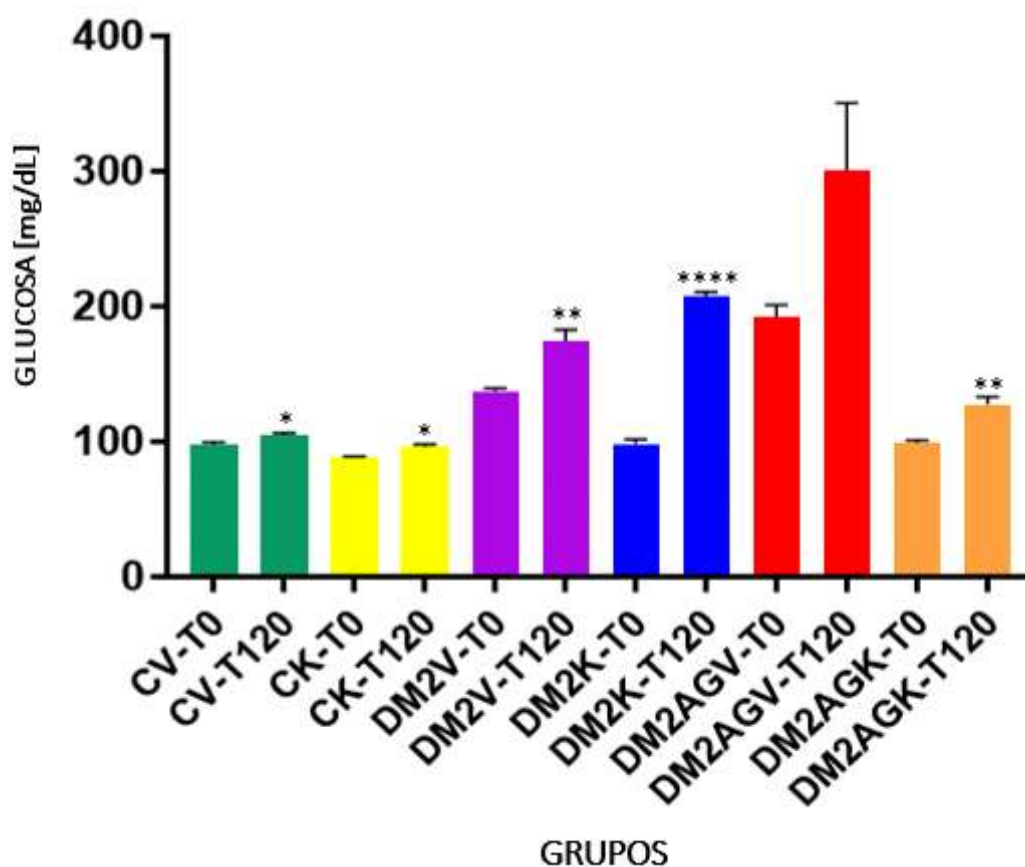


Figura 10. Prueba de tolerancia la glucosa. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

6.3 Sensibilidad a la insulina

Para esta prueba, se analizaron los minutos 0, 15, 30, 45, 60 y 120, de igual manera que para la prueba anterior solo se graficaron los puntos 0 y 120; y de acuerdo a la figura 13.

No se observó un efecto en la sensibilidad a la insulina al administrar KMF.

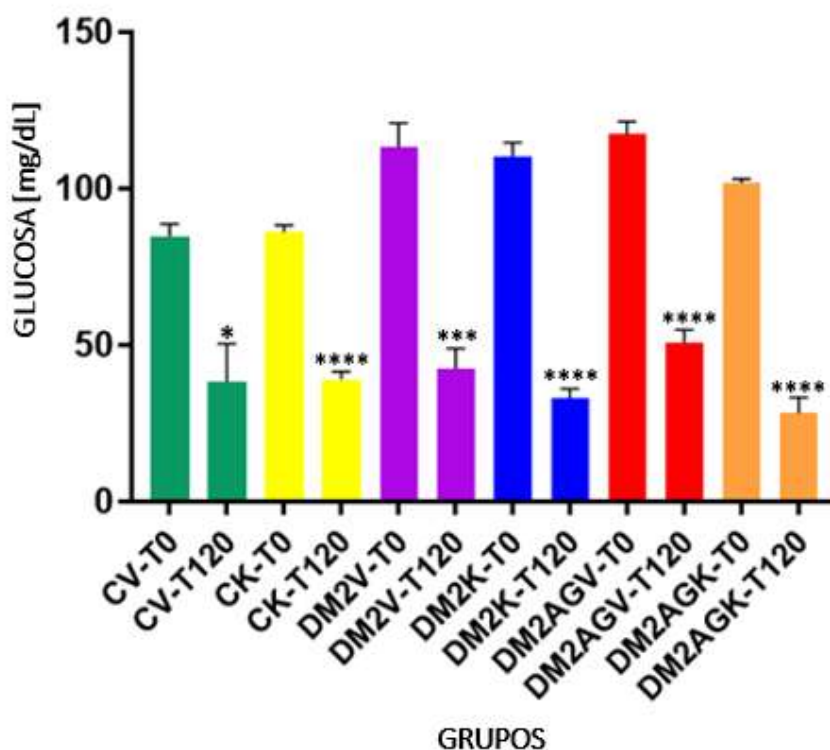


Figura 11. Prueba de tolerancia a la insulina. Comparación de los tiempos 0 y 120. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

6.4 Consumo de alimento

Se monitoreo el consumo de alimento diariamente durante la administración del flavonoide y los resultados indicaron que no existe una diferencia significativa en ninguno de los grupos, con excepción del grupo control kaempferol en el que disminuyó ligeramente la ingesta de alimento (figura 13).

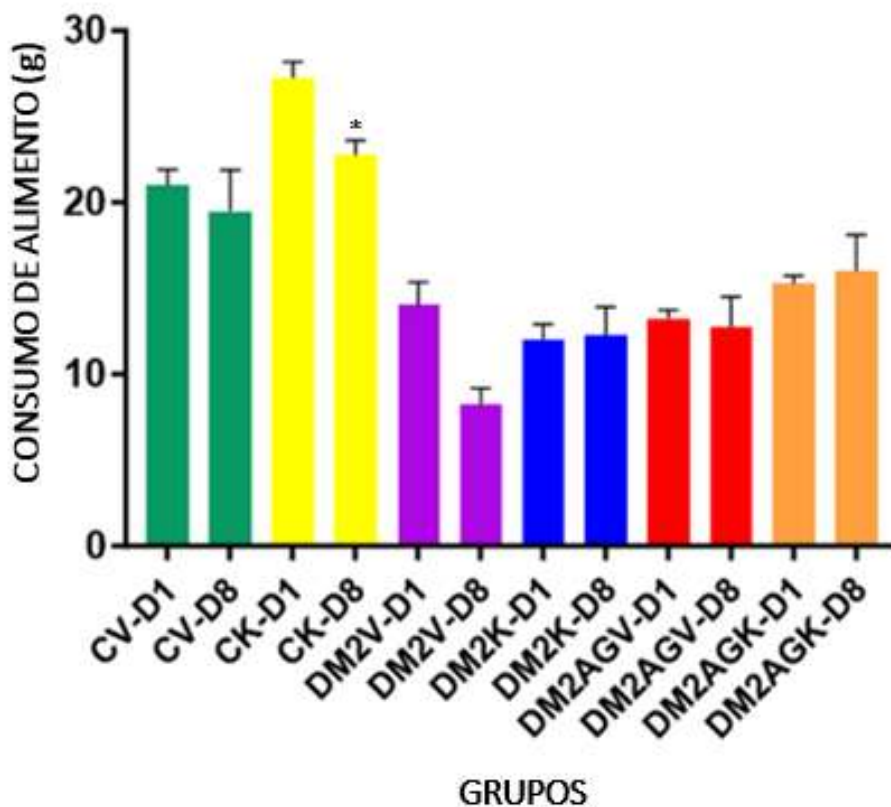


Figura 12. Consumo de alimento durante el tratamiento con KMF días 1 y 8. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. * $p < 0.05$.

6.5 Efectos en el peso corporal

Se monitoreo el peso corporal diariamente durante el tratamiento, pero no se observaron efectos significativos en el peso en los animales tratados con respecto al primer día del tratamiento.

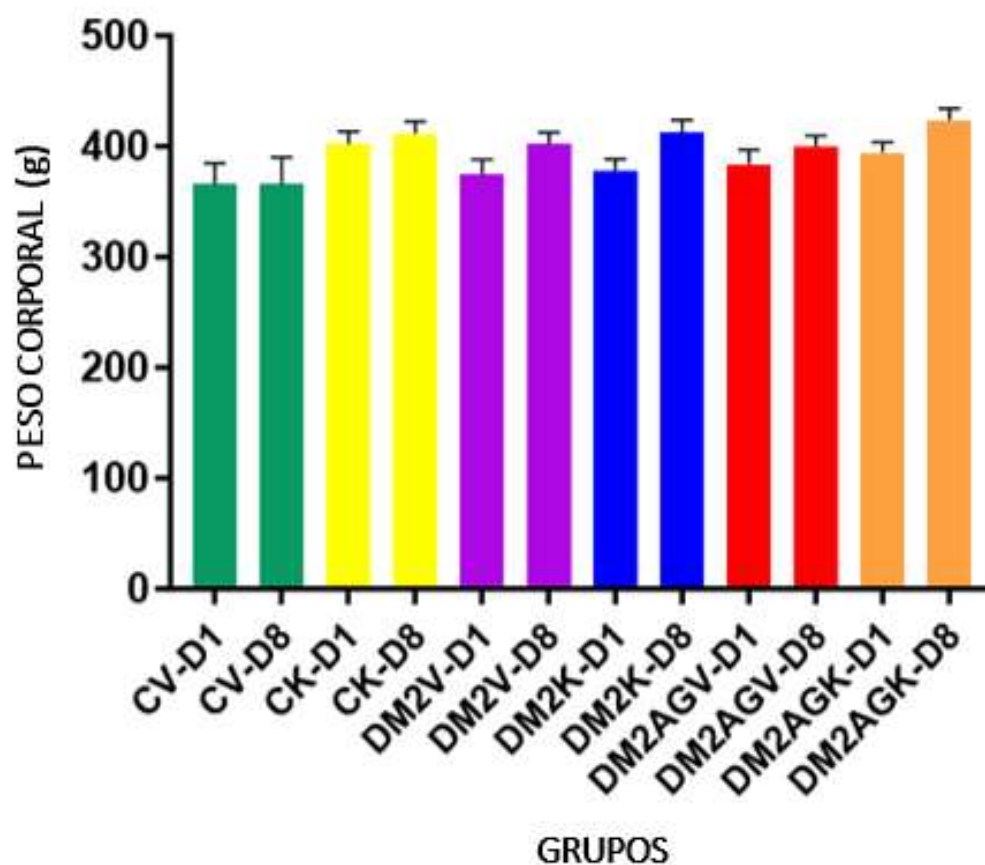


Figura 13. Diferencia de peso corporal durante el tratamiento con KMF,día 1 y 8.
X± E:E de 4 a 5 animales por grupo.

6.6 Efecto en la cantidad de grasa

Con respecto al contenido de grasa al final de la administración del flavonoide, se realizó una medición de la cantidad de grasa mesentérica, epidídimal y retroperitoneal mediante la extracción de la misma al sacrificio de las ratas y con respecto a sus ratas control se puede decir que no se observó un efecto regulador del peso ya que el análisis estadístico no indicó una diferencia significativa en los grupos, según lo muestra la siguiente figura:

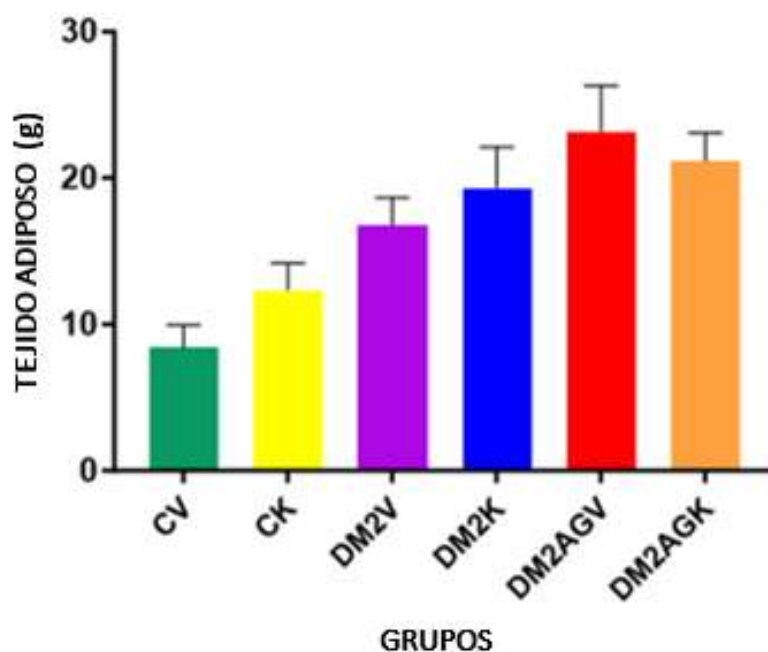


Figura 14. Efecto en la cantidad de grasa blanca después del tratamiento.
X $\pm$ E:E de 4 a 5 animales por grupo.

6.7 ANÁLISIS BIOQUÍMICO

Los parámetros para el análisis bioquímico se realizaron con muestras de sangre mediante extracción al corazón en el momento del sacrificio.

6.7.1 Glucosa

Según el análisis bioquímico de glucosa se apreció una disminución de la glucosa sérica en los grupos tratados con KMF a diferencia de los grupos vehículo tras los 10 días del tratamiento como se muestra en la figura 16:

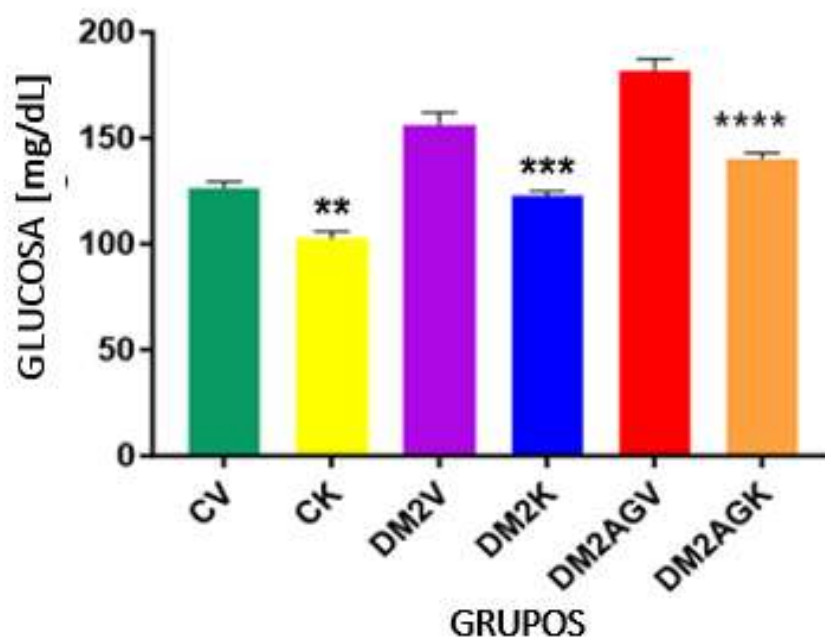


Figura 15. Efecto del KMF sobre la glucosa al sacrificio. $X \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$.

6.7.2 Ácido úrico

En los niveles de ácido úrico no se observó una diferencia estadísticamente significativa de los grupos tratados con KMF con respecto de los grupos vehículo.

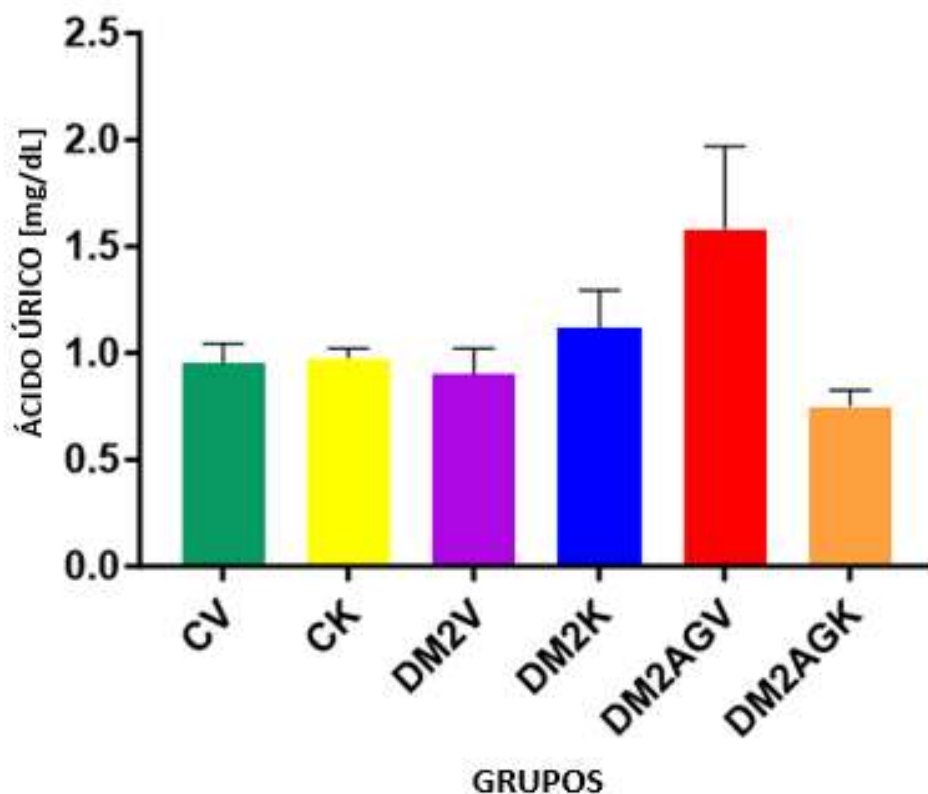


Figura 16. Efecto del KMF sobre los niveles de ácido úrico al sacrificio. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo.

6.7.3 Creatinina

En los niveles séricos de creatinina no se observó ninguna diferencia estadísticamente relevante como se puede observar en la figura 17.

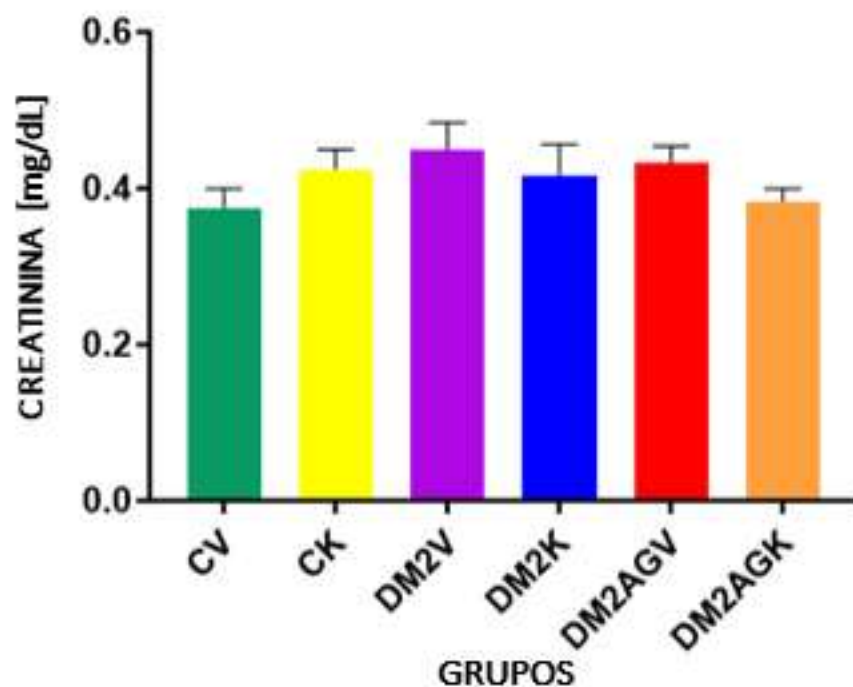


Figura 17.Efecto del KMF sobre los niveles de creatinina al sacrificio. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo.

6.7.4 Colesterol

Los niveles de colesterol según el análisis bioquímico no mostraron ningún efecto de la administración de KMF.

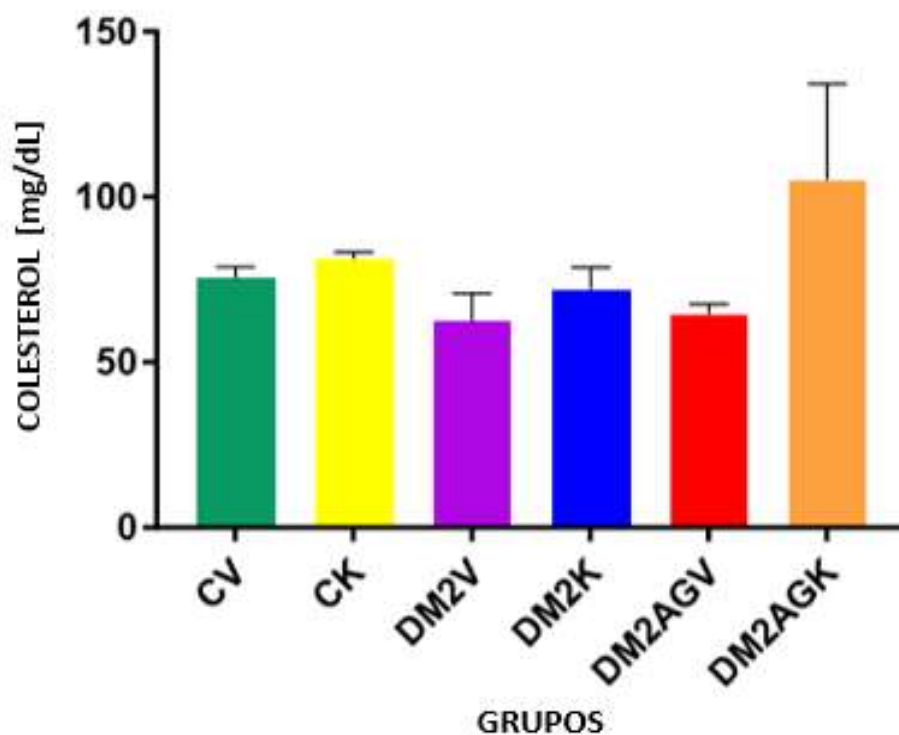


Figura 18. Efecto del KMF sobre los niveles de colesterol al sacrificio. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo.

6.7.5 Lipoproteína de muy baja densidad (VLDL)

En el análisis bioquímico de la VLDL no hubo una diferencia significativa de los grupos tratados con respecto al respectivo grupo control.

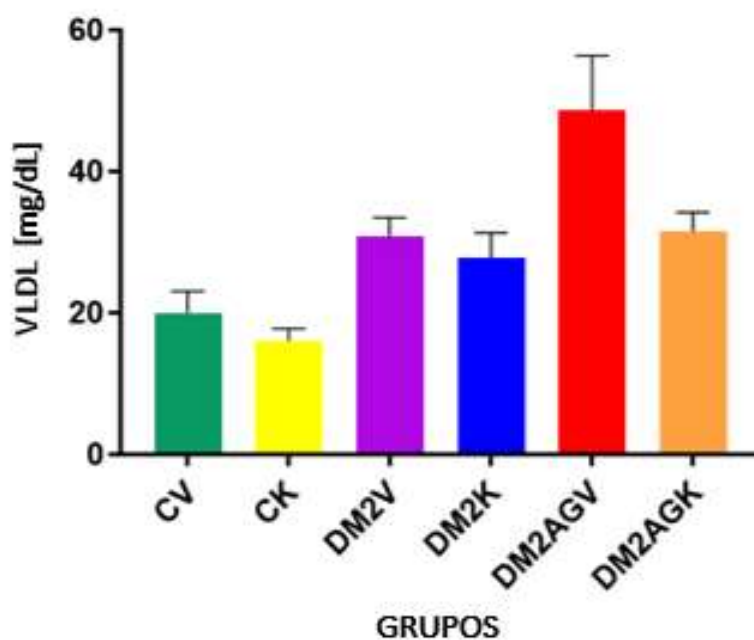


Figura 19. Análisis bioquímico de VLDL al sacrificio. $X \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo.

6.7.6 Lipoproteína de alta densidad (HDL)

No hubo ninguna diferencia estadísticamente significativa en el análisis bioquímico de la HDL.

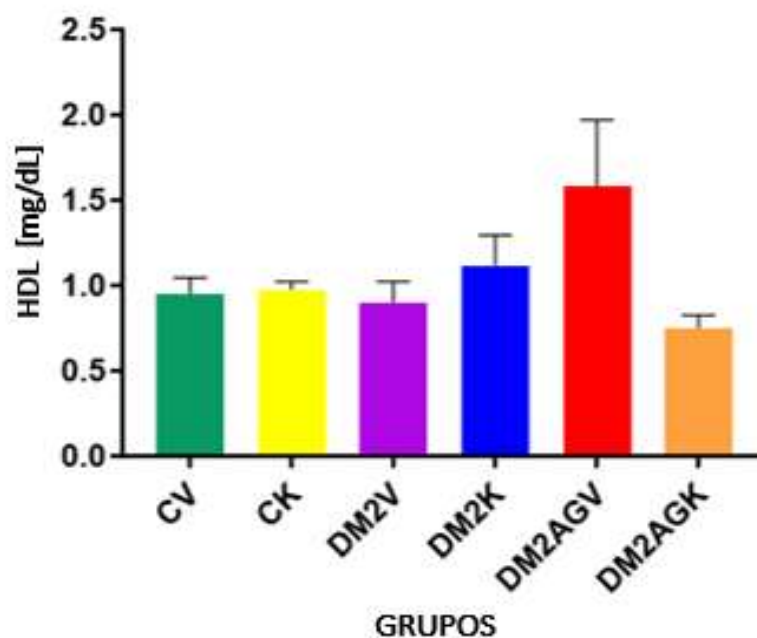


Figura 20. Análisis bioquímico de HDL al sacrificio. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo.

6.7.7 Triglicéridos

El análisis bioquímico de triglicéridos indicó que no hubo diferencia en los niveles de triglicéridos en sangre de los grupos CV vs CK, DM2V vs DM2K pero en el grupo DM2AGK con respecto al grupo DM2AGV existió una diferencia tal como se puede ver en la figura 20.

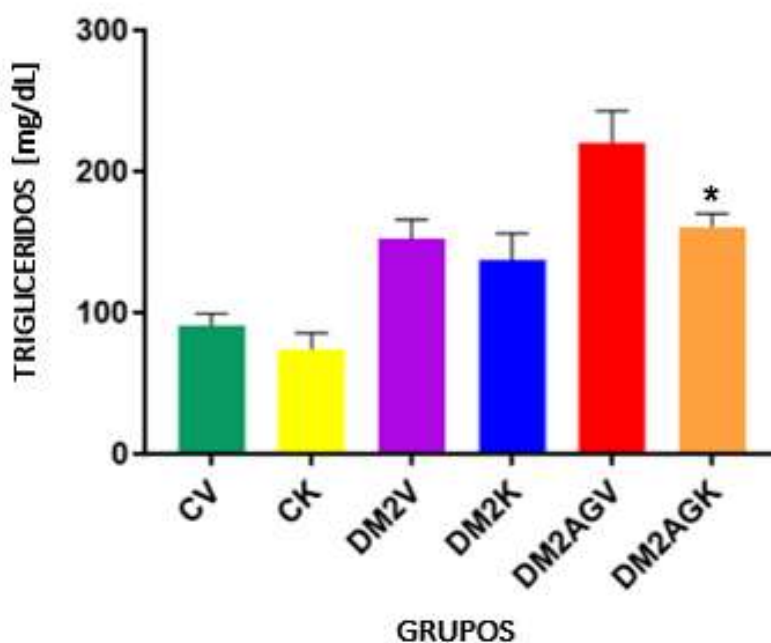


Figura 21. Análisis bioquímico de triglicéridos al sacrificio. $\bar{X} \pm E:E$ de 4 a 5 animales por grupo. * $p < 0.05$.

7. DISCUSION

La administración de kaempferol en modelos experimentales de DM2 propuesto como un hipoglucemiante demostró regresar a la normalidad los niveles elevados de glucosa plasmática en un tiempo relativamente corto aun cuando los animales seguían sometidos a la dieta alta en calorías por lo que se supuso que los efectos regulatorios de la hiperglicemia del KMF no se deben a alteraciones del consumo de alimento (Alkhalidy y Cols.2015; Moore, 2017; Zang y Cols.,2015).

Además, en el perfil bioquímico no se obtuvieron resultados que sugirieran un efecto del KMF (a excepción de la glucosa) y los triglicéridos del grupo DM2AGM en el que se redujeron a comparación de su respectivo grupo vehículo y a diferencia de los grupos DM2K Y DM2V en el que no existió tal efecto, lo que podría deberse a que en la primera dieta mencionada el consumo de ácidos grasos llevo a un mayor aumento en los niveles plasmáticos de triglicéridos y el KMF al poseer un efecto promotor de la peroxidación de lípidos (Chang y Cols., 2011) conllevo a la regulación de la concentración de triglicéridos en plasma.

En los modelos experimentales de DM2 no se mejoró la condición de intolerancia a la glucosa, ni la sensibilidad a la insulina, esto debido posiblemente a que el peso y la cantidad de grasa permanecieron constantes por lo que probablemente no existió un efecto del KMF sobre la obesidad de los animales ya que la esta es la principal causa de la insulinoresistencia (Bray,2004) por lo que la regulación de la hiperglicemia debe ser regulada posiblemente por un mecanismo en el que se aumenten los transportadores de glucosa mediante AMPK (Zhang y Cols.2009).

Por otra parte, debido a que la hiperglicemia en la DM2 es la clave en la patogénesis, el KMF claramente tiene un gran potencial para la profilaxis de esta enfermedad crónica degenerativa por ser un compuesto de bajo costo por su abundancia en la naturaleza (Vinayagam y Cols.,2015).

8. CONCLUSIÓN

El tratamiento con KMF disminuyó la hiperglucemia en modelos experimentales de diabetes mellitus tipo II cuando la carga de glucosa no es muy alta.

9. BIBLIOGRAFÍA

1. Alfaro, J., Simal, A., & Botella, F. (2000). Tratamiento de la diabetes mellitus. *Inf Ter Sist Nac Salud*, 24(2), 33-43.
2. Alkhalidy, H., Moore, W., Zhang, Y., McMillan, R., Wang, A., Ali, M. & Hulver, M. (2015). Small molecule kaempferol promotes insulin sensitivity and preserved pancreatic β -cell mass in middle-aged obese diabetic mice. *Journal of diabetes research*, 2015.
3. American Diabetes Association. (2016). Standards of medical care in diabetes (volumen 39). Recuperado de http://fmdiababetes.org/wp-content/uploads/2016/01/Gui%CC%81a-ADA_2016.pdf
4. Bray, G. A. (2004). Medical consequences of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(6), 2583-2589.
5. Cambrón Mora Diego.(2018).Implementación de un modelo de diabetes mellitus tipo 2 en rata. Tesis de Licenciatura.Facultad de Químico Farmacobiología. U.M.S.N.H.
6. Chang, C. J., Tzeng, T. F., Liou, S. S., Chang, Y. S., & Liu, I. M. (2011). Kaempferol regulates the lipid-profile in high-fat diet-fed rats through an increase in hepatic PPAR α levels. *Planta medica*, 77(17), 1876-1882.
7. Consejo Nacional de Población [CONAPO] (2015b). La situación demográfica de México, 2015. Recuperado el 19 de mayo de 2017, de: http://www.conapo.gob.mx/es/CONAPO/Panorama_de_la_salud_sexual_y_reproductiva_2014.
8. Diabetes Teaching Center at the University of California. (2017). Diabetes tipo1. 02/10/2017, de University of California Sitio web: <https://dtc.ucsf.edu/es/tipos-de-diabetes/diabetes-tipo-1/compreension-de-la-diabetes-tipo-1/que-es-la-diabetes-tipo-1/>
9. Diabetes Teaching Center at the University of California. (2017). Diabetes tipo2. 02/10/2017, de University of California Sitio web: <https://dtc.ucsf.edu/es/tipos-de-diabetes/diabetes-tipo-2/>
10. Estrada, R., Suárez, D. & Araujo, A.G. (2012). Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central. *SciELO*, vol.35, 1-9.
11. Fukumoto, H., Ishiguro, K., Murashima, T., Yamaki, M., & Isoi, K. (1994). Structure determination of a kaempferol 3-rhamnosyldiglucoside from *Impatiens balsamina*. *Phytochemistry*, 37(5), 1486-1488.
12. García, M. Z. U. (2011). Efectos crónicos de la cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con diabetes mellitus experimental.

13. Instituto Nacional de Estadística y Geografía [INEGI] (2015). Encuesta Nacional de la Dinámica Demográfica. Tabulados básicos. Recuperado el 9 de mayo de 2017, de: <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/enchogares/especiales/enadid/2014/default.html>.
14. Instituto Nacional de Salud Pública. (2016). Encuesta nacional de salud y nutrición de medio camino. Recuperado de http://promocion.salud.gob.mx/dgps/descargas1/doctos_2016/ensanut_mc_2016-310oct.pdf
15. Kahn, B. B., & Flier, J. S. (2000). Obesity and insulin resistance. *The Journal of clinical investigation*, 106(4), 473-481.
16. Kim E. Barrett, Susan M. Barman, Scott Boitano, Heddwen L. Brooks. (2012) Ganong. Fisiología médica, 24e: www.accessmedicina.com
17. King, H., Aubert, R. E., & Herman, W. H. (1998). Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes care*, 21(9), 1414-1431.
18. Luo, H., Jiang, B., Li, B., Li, Z., Jiang, B. H., & Chen, Y. C. (2012). Kaempferol nanoparticles achieve strong and selective inhibition of ovarian cancer cell viability. *International journal of nanomedicine*, 7, 3951.
19. Martinez-Perez, C., Ward, C., Cook, G., Mullen, P., McPhail, D., Harrison, D. J., & Langdon, S. P. (2014). Novel flavonoids as anti-cancer agents: mechanisms of action and promise for their potential application in breast cancer.
20. Moore, W., Alkhalidy, H., Mcmillan, R., Zhen, W., Wang, A., & Liu, D. (2014). Small Molecule Kaempferol Prevents Type 2 Diabetes by Promoting Insulin Sensitivity and Reducing Hepatic Gluconeogenesis. *ADA*: 504-505.
21. Muniyappa, R., Lee, S., Chen, H., & Quon, M. J. (2008). Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 294(1), E15-E26.
22. Niering, P., Michels, G., Wätjen, W., Ohler, S., Steffan, B., Chovolou, y & Kahl, R. (2005). Protective and detrimental effects of kaempferol in rat H4IIE cells: implication of oxidative stress and apoptosis. *Toxicology and applied pharmacology*, 209(2), 114-122
23. Nolan, C. J., Damm, P., & Prentki, M. (2011). Type 2 diabetes across generations: from pathophysiology to prevention and management. *The Lancet*, 378(9786), 169-181.

24. Okita, K., Iwahashi, H., Kozawa, J., Okauchi, Y., Funahashi, T., Imagawa, A., & Shimomura, I. (2014). Usefulness of the insulin tolerance test in patients with type 2 diabetes receiving insulin therapy. *Journal of diabetes investigation*, 5(3), 305-312.
25. Ozougwu, J. C., Obimba, K. C., Belonwu, C. D., & Unakalamba, C. B. (2013). The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Journal of Physiology and Pathophysiology*, 4(4), 46-57
26. Rowley, W. R., & Bezold, C. (2012). Creating public awareness: state 2025 diabetes forecasts. *Population Health Management*, 15(4), 194-200.
27. Satoh, H., Nguyen, M. A., Miles, P. D., Imamura, T., Usui, I., & Olefsky, J.M. (2004). Adenovirus-mediated chronic "hyper-resistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *Journal of Clinical Investigation*, 114(2), 224.
28. Secretaria de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación. (2001). NOM-062-ZOO-1999. Recuperado de <https://www.gob.mx/senasica/documentos/nom-062-zoo-1999>.
29. Shafir, E., Ziv, E., & Mosthaf, L. (1999). Nutritionally Induced Insulin Resistance and Receptor Defect Leading to β -Cell Failure in Animal Models. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 892(1), 223-246.
30. Srinivasan, K., & Ramarao, P. (2007). Animal models in type 2 diabetes research: an overview. *Indian Journal of Medical Research*, 125(3), 451.
31. Stumvoll, M., Goldstein, B. J., & van Haeften, T. W. (2005). Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet*, 365(9467), 1333-1346.
32. Vinayagam, R., & Xu, B. (2015). Antidiabetic properties of dietary flavonoids: a cellular mechanism review. *Nutrition & metabolism*, 12(1), 60.
33. World Health Organization. Media Service. (2017). Diabetes. Geneva : World Health Organization. <http://www.who.int/iris/handle/10665/62244>
34. Zanatta, L., Rosso, Â., Folador, P., Figueiredo, M. S., Pizzolatti, M. G., Leite, L. D., & Silva, F. R. (2008). Insulinomimetic effect of kaempferol 3-neohesperidoside on the rat soleus muscle. *Journal of natural products*, 71(4), 532-535.
35. Zanatta, L., Rosso, A., Folador, P., Figueiredo, M., Pizzolatti, M & Leite, L.D., Silva, F. (2007). Insulinomimetic Effect of Kaempferol 3-Neohesperidoside on the Rat Soleus Muscle. *J.Nat.Prod*, 71:532-535.

36. Zang, Y., Zhang, L., Igarashi, K., & Yu, C. (2015). The anti-obesity and anti-diabetic effects of kaempferol glycosides from unripe soybean leaves in high-fat-diet mice. *Food & function*, 6(3), 834-841.
37. Zhang, B. B., Zhou, G., & Li, C. (2009). "AMPK: an emerging drug target for diabetes and the metabolic syndrome, " *Cell Metabolism*, vol.9, no.5, pp. 407–416