

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

Efecto hipoglucemiante de extractos de hojas
de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas
Wistar con diabetes experimental

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA
GUILLERMO PÉREZ PÉREZ

Directora

Dra. Dolores Guadalupe Vidal López

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNICACH

Asesora

Dra. Claudia Azucena Durán Ruiz

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNICACH



Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Septiembre de 2023



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas;
Fecha: 22 de septiembre de 2023

C. Guillermo Pérez Pérez

Pasante del Programa Educativo de: Licenciatura en Biología

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:
Efecto hipoglucemiante de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) en ratas

Wistar con diabetes experimental

En la modalidad de: Tesis Profesional

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dra. María Adelina Schlie Guzmán

Dr. José Antonio De Fuentes Vicente

Dra. Dolores Guadalupe Vidal López

Firmas:

Ccp. Expediente



Pág. 1 de 1
Revisión 4

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ciencia, Tecnología e Innovación del Estado de Chiapas (ICTIECH) por otorgarme la beca con base al eje 3 Educación, Ciencia y Cultura del Plan Estatal de Desarrollo; con numero de apoyo: 25301. Con la que fue posible el financiamiento de una parte de esta investigación.

A mi directora de tesis la Dra. Dolores Guadalupe Vidal por darme la confianza y el apoyo para la elaboración de este proyecto, por su compromiso y disposición en la ejecución y revisión de esta tesis, por haberme brindado el lugar de trabajo para realizar los bioensayos en el laboratorio multidisciplinario y bioterio. Por siempre animarme con sus acciones tan positivas y sobre todo proporcionarme su amistad.

A mi asesora la Dra. Claudia Azucena Durán Ruiz por apoyarme con la elaboración del extracto utilizado en esta investigación, así como proporcionarme el lugar de trabajo en el Laboratorio de Fisiología y Química Vegetal del Instituto de Ciencias Biológicas. Por siempre alentarme y aconsejarme en mis momentos más estresados en la elaboración de la tesis y por su tiempo, esfuerzo en la revisión de esta misma.

Al Biólogo Jesús y al Medico Irvin por su amistad y apoyo con el mantenimiento de los roedores utilizados.

Al Ing. Leonel Robles y a mi abuelita adoptiva Amanda Vázquez, por darme la oportunidad de trabajar en su negocio con las facilidades de horarios y permisos que necesitaba para todas las actividades que realice en la carrera. Así como su apoyo emocional y moral en mi vida personal.

DEDICATORIA

A Dios por siempre cuidar de mi en cada momento, así como darme la paciencia, fuerza y sabiduría para concluir la carrera y la tesis.

Este trabajo también es gracias a todo mi esfuerzo invertido, por no rendirme y seguir adelante a pesar de los altos y bajos que esto ha conllevado. A mi gran perseverancia en cumplir cada logro de mi vida.

A mi madre: Sra. Catalina Perez Gómez, por sus consejos y regaños, por sus cuidados y atenciones, por estar siempre conmigo cuando la necesito, compartiendo cada circunstancia de mi vida, sea buena o mala. Y, sobre todo, por enseñarme a ser un hombre de bien en esta vida. Te amo infinitamente madre.

A mis hermanos: Lic. Ángel Alejandro, Lic. Rigoberto, Lic. Raúl y Susi Janeth, por siempre apoyarme en sus distintos modos, por motivarme a seguir cumpliendo mis metas. Los quiero mucho.

A Ingrid Viridiana Cisneros Marrero, por siempre apoyarme incondicionalmente (I LOVE YOU).

A mis mejores amigos: Ing. Biomédico Braulio Roy Gómez Vázquez, Médico Cirujano General Dulce Alexandra Montero López, Lic. en Informática Bryan Gálvez Vázquez, Lic. en Enfermería Karina Monserrath Ruiz Ruiz, MVZ Lizeth Guadalupe Macdonal Montero, Lic. en Fisioterapia Mónica Lilí Aguilar Cahuaré. Y a los Lics. En biología: Luis Fernando Morales Álvarez, Cecilia Elizabeth Vargas Gómez, Mauricio López Altamirano, Alejandro David Velasco Reyes, Luz Elena Espinosa Hernández y Ángel Ulises De La Cruz Matuz. Por siempre apoyarme en todos mis proyectos y metas, animándome en mis momentos más difíciles y siempre impulsándome a ser mejor persona. A todos ustedes los aprecio y quiero mucho.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xii
ABSTRACT	xiv
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Modelos empleados para el estudio de la diabetes tipo 2.....	3
2.1.1. Modelos espontáneos.....	3
2.1.2. Modelos análogos.....	4
2.1.3. Modelos intrínsecos	5
2.1.4. Modelos inducidos	7
2.2. Uso de plantas medicinales para el tratamiento de DM en México.....	9
2.3. Generalidades de <i>Annona muricata</i> L.....	11
2.4. Clasificación taxonómica.....	12
2.5. Descripción Botánica	12
2.6. Requerimientos.....	16
2.6.1. Clima y temperatura.....	16
2.6.2. Suelo.....	17
2.7. Usos Etnomedicinales.....	17
2.8. Las anonáceas como producto biológico para la obtención de nuevos medicamentos.....	18
2.9. Definición de diabetes mellitus (DM).....	18
2.10. Clasificación de la DM.....	18

2.10.1. Diabetes tipo 1	19
2.10.2. Diabetes tipo 2.....	19
2.10.3. Diabetes gestacional (DMG).....	19
2.11. Agentes inductores de la diabetes tipo 2	20
2.12. Importancia de la DM	20
2.13. Complicaciones Agudas.....	21
2.13.1. Hipoglucemia	21
2.13.2. Hiperglucemia	21
2.13.3. Cetoacidosis diabética	21
2.13.4. Coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico.....	22
2.14. Complicaciones Crónicas.....	22
2.14.1. Macrovasculares.....	22
2.14.2. Microvasculares	22
2.14.3. Retinopatía	22
2.14.4. Nefropatía diabética.....	23
2.14.5. Neuropatía diabética.....	23
2.14.6. Pie diabético	23
2.15. Tratamientos actuales de la DM.....	23
2.16. Diagnóstico	24
III. ANTECEDENTES	25
3.1. Estudios en modelos animales.....	25
3.2. Estudios clínicos.	26
IV. OBJETIVOS	28
4.1. General	28
4.2. Particulares	28

V. AREA DE RECOLECTA	29
5.1. Clima.....	29
5.2. Vegetación	30
5.3. Suelo.....	30
VI. MÉTODO.....	31
6.1. Material vegetal.....	31
6.2. Obtención del extracto acuoso de <i>A. muricata</i> L.....	32
6.3. Animales experimentales.....	33
6.4. Inducción de la diabetes.	34
6.5. Condiciones de laboratorio.	35
6.6. Grupos experimentales	35
6.7. Administración del tratamiento.....	36
6.7.1 Administración del extracto para la curva de tolerancia.....	36
6.8. Análisis de datos	37
VII. RESULTADOS	38
7.1. Inducción de ratas Wistar a diabetes experimental.....	38
7.2. Obtención del extracto acuoso de hojas de <i>A. muricata</i> L.	38
7.3. Incremento (Δ) de peso durante la evaluación de hiperglucemia.....	39
7.3.1. Consumo de alimento y agua de los animales experimentales	40
7.4 Determinación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso en ratas Wistar con diabetes experimental.	41
7.4.1. Curva de tolerancia a la glucosa a los 120 minutos.....	42
VIII. DISCUSIÓN.....	44
IX. CONCLUSIONES.....	46
X. RECOMENDACIONES.....	47

XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES..... 48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Plantas con efecto antidiabético usadas en el estado de Oaxaca, México.	9
Cuadro 2. Diseño experimental (n= número de ratas).	35
Cuadro 3. Promedio de la glucosa inicial e inducida de los grupos.	38
Cuadro 4. Promedios de peso con consumo ad libitum de las ratas durante su evaluación (8 semanas).	39
Cuadro 5. Promedios del consumo ad libitum del alimento en gramos (g), medidos en un período de la segunda a la décima semana.	41
Cuadro 6. Promedios del consumo de agua en mililitros (ml) durante el estudio.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Hojas de <i>A. muricata</i> L.	13
Figura 2.	Fruta de <i>A. muricata</i> L.	14
Figura 3.	Características botánicas de algunas partes de la planta de guanábana (<i>Annona muricata</i> L.)	15
Figura 4.	Flor <i>Annona muricata</i> .	16
Figura 5.	Mapa de ubicación del municipio de Tuxtla Gutiérrez.	29
Figura 6.	Árbol de <i>A. muricata</i> L., de donde se recolectó la muestra vegetal.	31
Figura 7.	Proceso de secado y obtención del polvo de hojas de <i>A. muricata</i> L. a) y b) secado de hojas, c) inicio de proceso de trituración, d) Polvo obtenido de las hojas molidas.	32
Figura 8.	Preparación del extracto acuso <i>A. muricata</i> L. a) Hojas molidas, b) Extracción mediante la técnica de reflujo continuo c) filtración al vacío, d) extracto acuoso.	33
Figura 9.	Ratas macho de la cepa Wistar. proporcionados por el Laboratorio Multidisciplinario Experimental y Bioterio.	33
Figura 10.	Inducción a la diabetes experimental por medio de inyección intraperitoneal.	34
Figura 11.	Medición de glucosa en sangre con glucómetro Optium Xceed®.	34
Figura 12.	Suministro del extracto acuoso de <i>A. muricata</i> L.	36
Figura 13.	Administración del extracto por medio de una aguja esofágica calibre 18 G.	37
Figura 14.	Extracto cristalizado y pulverizado.	38
Figura 15.	Resultados de la ganancia o pérdida de peso de los animales en la fase experimental. (S0 C) semana cero grupo control, (S0 E) semana cero grupo experimental, (S2 C) semana dos grupo control, (S2 E) semana dos grupo experimental, (S3 C) semana tres grupo control, (S3 E) semana tres grupo experimental, (S4 C) semana	40

cuatro grupo control, (S4 E) semana cuatro grupo experimental, (S5 C) semana cinco grupo control, (S5 E) semana cinco grupo experimental, (S6 C) semana seis grupo control, (S6 E) semana seis grupo experimental, (S7 C) semana siete grupo control, (S7 E) semana siete grupo experimental, (S8 C) semana ocho grupo control, (S8 E) semana ocho grupo experimental.

Figura 16. Resultados de los niveles de glucosa a lo largo de 60 días en el grupo control y con el tratamiento (extracto). *** $p=1.4E-05$. ANOVA de doble vía seguido de una prueba post hoc de Tukey. 42

Figura 17. Curva de tolerancia a glucosa, posterior al tratamiento crónico. *** $p= 2E-16$. ANOVA de doble vía seguido de una prueba post hoc de Tukey. 43

Figura 18. Resultados del área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en el grupo experimental y el control (** $p= 2E-16$., t de Student). 43

RESUMEN

Diversos procesos patológicos están involucrados en el desarrollo de la Diabetes Mellitus (DM), se caracterizan por causar hiperglucemia, que con el tiempo daña gravemente a los órganos y sistemas del cuerpo, sobre todo los nervios. El páncreas es el principal órgano que regula las concentraciones de azúcar en sangre, si presenta algún fallo, la enfermedad se desarrolla.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que hay más de 250 millones de personas con diabetes en el mundo, siendo en México la segunda causa de muerte. Los altos índices de mortalidad causados por la diabetes y los elevados costos en los medicamentos convencionales, ha motivado a la búsqueda de tratamientos con plantas (fitoterapia), para combatir los signos de la DM. Se ha demostrado que *Annona muricata* L., (guanábana), presenta actividad biológica: antidiabética, relacionada con la presencia, de metabolitos secundarios como las acetogeninas, flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos.

En este sentido, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de hojas de *A. muricata* L., en ratas Wistar con diabetes inducida con aloxano. Se recolectó hojas de guanábana para la obtención del extracto acuoso, se indujeron a diabetes a 17 ratas Wistar, mediante la administración intraperitoneal de 200 mg/kg de aloxano, distribuidas en: cuatro del grupo control, con suministro exclusivo de agua, y 13 ratas del grupo que recibió el tratamiento de extracto de hojas de *A. muricata* a una concentración de 200 ml/kg.

La inducción a diabetes de las ratas del grupo control y experimental fue exitosa, 72 horas después de la inyección con aloxano los valores de glucemia fueron de 180 ± 15.7 . El grupo control presentó un ligero aumento en el promedio de glucosa al transcurrir 60 días (200 mg/dL), mientras que el grupo de animales tratados con dosis de 200 mg/kg de extracto de forma oral, presentaron una disminución de la glucosa de 185 mg/dL a 100 mg/dL a partir del día 30, observándose una disminución progresiva a los 45 y 60 días de 70 y 68 mg/dL respectivamente, encontrándose diferencias

estadísticamente significativas entre tratamientos ($p=1.4E-05$) en el periodo de 30 a 60 días.

En la curva de tolerancia a la glucosa, se observó que el rango valores de la glucosa de los animales que conforman el control (195 a 270 mg/dL) es mayor que el de las ratas a las que se les administró extractos acuosos de hojas de guanábana (100 a 180 mg/dL) desde la administración inicial (minuto 0) hasta los 120 minutos, obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p= 2E-16$), durante todo el intervalo de tiempo estudiado. Por lo que, la administración intraperitoneal de 200 mg/kg de aloxano, fue eficaz, al inducir a los animales a la hiperglucemia, el extracto acuoso de *Annona muricata* L. en dosis de 200 mg/kg tuvo un efecto significativo a partir de los 30 días y 90 minutos posteriores a su administración vía oral, presentando valores de glicemia dentro del parámetro normal, evidenciando su eficacia como posible alternativa para el control de diabetes.

Palabras claves: Diabetes Mellitus, aloxano, extracto acuoso.

ABSTRACT

Several pathological processes are involved in the development of Diabetes Mellitus (DM), characterized by causing hyperglycemia, which over time severely damages the body's organs and systems, especially the nerves. The pancreas is the main organ that regulates blood sugar concentrations, if it presents any failure, the disease develops.

The World Health Organization (WHO) estimates that there are more than 250 million people with diabetes in the world, being the second leading cause of death in Mexico. The high mortality rates caused by diabetes and the high costs of conventional medicines have motivated the search for treatments with plants (phytotherapy) to combat the signs of DM. It has been demonstrated that *Annona muricata* L., (soursop), presents biological activity: antidiabetic, related to the presence of secondary metabolites such as acetogenins, flavonoids, tannins, alkaloids and phenolic compounds.

In this sense, the present study aimed to evaluate the hypoglycemic effect of aqueous extracts of *A. muricata* L. leaves in Wistar rats with alloxan-induced diabetes. Soursop leaves were collected to obtain the aqueous extract, 17 Wistar rats were induced with diabetes by intraperitoneal administration of 200 mg/kg of alloxan, distributed in: four of the control group, with exclusive water supply, and 13 rats of the group that received the treatment of *A. muricata* leaves extract at a concentration of 200 ml/kg.

The induction of diabetes in the rats of the control and experimental groups was successful, 72 hours after the injection with alloxan, the glycemia values were 180 ± 15.7 . The control group presented a slight increase in the average glucose after 60 days (200 mg/dL), while the group of animals treated with doses of 200 mg/kg of extract orally, presented a decrease in glucose from 185 mg/dL to 100 mg/dL from day 30, observing a progressive decrease at 45 and 60 days of 70 and 68 mg/dL respectively, finding statistically significant differences between treatments ($p=1.4E-05$) in the period from 30 to 60 days.

In the glucose tolerance curve, it was observed that the range of glucose values of the control animals (195 to 270 mg/dL) was greater than that of the rats to which aqueous

extracts of soursop leaves were administered (100 to 180 mg/dL) from the initial administration (minute 0) to 120 minutes, obtaining statistically significant differences between treatments ($p= 2E-16$), during the entire time interval studied. Therefore, the intraperitoneal administration of 200 mg/kg of alloxan was effective in inducing the animals to hyperglycemia. The aqueous extract of *Annona muricata* L. in a dose of 200 mg/kg had a significant effect from 30 days and 90 minutes after its oral administration, presenting glycemia values within the normal parameter, evidencing its efficacy as a possible alternative for the control of diabetes.

Key words: Diabetes Mellitus, alloxan, aqueous extract.

I. INTRODUCCIÓN

Diversos procesos patológicos están involucrados en el desarrollo de la Diabetes Mellitus (DM), aunque en la mayoría de los casos pueden incluirse en dos categorías la de tipo 1 y la de tipo 2; ambas se caracterizan por causar hiperglucemia (definición corta) que con el tiempo daña gravemente a los órganos y sistemas del cuerpo, sobre todo los nervios y los vasos sanguíneos (Almaguer-Herrera *et al.*, 2012). El páncreas es el principal órgano o glándula endocrina que regula las concentraciones de azúcar en sangre, si presenta algún fallo entonces la enfermedad se desarrolla.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) calcula que hay más de 250 millones de personas con diabetes en el mundo (Figuroa *et al.*, 2013), se pronostica que la cifra de casos aumentará a 592 millones en 2035, lo que afectará a 8.8% de la población (Guariguata *et al.*, 2014).

En 2014, el 8.5% de las personas mayores de 18 años padecían DM. En 2019, esta enfermedad fue la causa directa de 1.5 millones de defunciones, de éstas el 48% era n personas menores de 70 años (Organización Mundial de la Salud, 2021). En México es la segunda causa de muerte y la primera causa de años de vida saludable perdidos (Institute for Health Metrics and Evaluation, 2019).

Considerando que la fisiopatología de la diabetes es bastante compleja, en la cual implican diversos factores, es importante realizar estudios con animales que permitan entender las diferentes alteraciones fisiológicas y comprender varias de sus razones y secuelas, además de obtener adelantos en el procedimiento y control de esta patología (González-Madariaga *et al.*, 2015).

Al respecto, Fleitas-Estevez *et al.* (2000), Szkudelski (2001), González (2002), Fernández-Saavedra *et al.* (2006) y (Figuroa *et al.*, 2013), han reportado que particularmente en ratas, la diabetes se puede presentar de forma espontánea o inducida experimentalmente por distintos métodos. Además, Entes *et al.* (2000), Claypool y Entes (2009), Justil *et al.* (2015) y Aranda y Rosario (2016), han mencionado el uso de modelos experimentales de diabetes en diferentes especies como el perro, el gato, el conejo, el cerdo, el borrego y el ratón.

Los altos índices de mortalidad causados por la diabetes y los elevados costos en los medicamentos convencionales, ha motivado a la búsqueda de tratamientos con plantas (fitoterapia), para combatir los signos de la Diabetes Mellitus. En la literatura, existen reportes de especies vegetales con posible actividad hipoglucemiante (definición corta), como es el caso de *Allium sativum* L. (ajo), *Capparis spinosa* L. (alcaparra), *Trigonella foenum-graecum* L. (fenogreco), *Aloe barbadensis* Mill. (zabila), *Lagerstroemia speciosa*. (flor de Reina), *Cyamopsis tetragonolobus* L. (guar), *Annona muricata* L. (guanábana), entre otras (López, 2006 y Ríos *et al.*, 2016). No obstante, la mayor parte de las plantas empleadas no han sido evaluadas científicamente para revisar su efectividad y estabilidad.

Se ha demostrado que *Annona muricata* L., mejor conocida como guanábana, presenta diversas actividades biológicas: anticancerígena, antiespasmódica, sedativa, antimalárica, vasodilatadora y antidiabética, también es eficiente en el control de enfermedades gastrointestinales y virales. Su actividad biológica está relacionada con la presencia, en los diferentes órganos, de metabolitos secundarios como las acetogeninas, flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos (Arroyo *et al.*, 2005 y Arroyo *et al.*, 2009).

Sin embargo la mayoría de los estudios han evaluado el efecto de extractos etanólicos, siendo pocos los datos reportados acerca de extractos acuosos empleando hojas de *A. muricata*, además, la actividad encontrada se contrasta con la química intrínseca de la planta y su evaluación en modelos animales está destinado a demostrar datos concisos que sostengan el empleo medicinal de la guanábana sobre el control de la diabetes. Por lo tanto, en este estudio se evaluó el efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de hojas de *A. muricata* L., en ratas Wistar con diabetes inducida experimental con aloxano.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Modelos empleados para el estudio de la diabetes tipo 2.

Los animales han sido utilizados por las ciencias biológicas casi desde sus inicios, y la investigación actual en medicina se basa mayoritariamente en esta clase de modelos. Los que se incluyen en la investigación de la DM, son modelos que presentan resistencia a la insulina y/o con daño en células β pancreáticas, ya que éstas compensan la mayor demanda de insulina (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2001 y Arias-Díaz y Balibrea, 2007) .

Existen diversos modelos experimentales, donde los roedores, son los más utilizados debido a razones económicas, por el corto tiempo de generación e hiperglucemia hereditaria y/u obesidad presente en ciertas cepas. Estos se clasifican según su mecanismo de producción, en modelos espontáneos o inducidos. Además, en cada uno de ellos se pueden distinguir dos categorías: modelos análogos y modelos intrínsecos (*ídem*). Los modelos espontáneos incluyen animales en los que se ha detectado diabetes de manera espontánea o se han realizado una serie de cruces selectivos que favorecen cierto rasgo fenotípico de la Diabetes Mellitus humana. Los modelos inducidos reproducen una o más manifestaciones clínicas de dicha enfermedad mediante una variedad de métodos, como nutricionales, farmacológicos, quirúrgicos y genéticos (Arias-Díaz y Balibrea, 2007)

2.1.1. Modelos espontáneos

La diabetes de tipo 2 (DM2) puede presentarse espontáneamente en los animales, habiendo sido reconocida la enfermedad en diversos mamíferos, tanto en animales domésticos como los mantenidos en cautiverio. Esta se logra mediante estirpes que se mantienen relativamente inalteradas mediante cruces endogámicos y que proceden de un animal en el que se ha detectado diabetes espontánea, o bien de una serie de cruces selectivos favoreciendo un determinado rasgo fenotípico de la DM2 humana. A veces no son totalmente "espontáneos" en el sentido que se requieren modificaciones dietéticas adicionales para generar la diabetes en el seno de una predisposición genética (*ídem*).

Algunos ejemplos de animales donde se ha detectado la diabetes espontánea son en los perros, gatos, caballos, ganado, cerdos, ovejas y en algunas especies silvestres como el conejo, hurón, los monos y las tortugas y en la mayoría de los roedores (Rodríguez y Méndez, 1994).

2.1.2. Modelos análogos

La rata, después del ratón, es el modelo animal de experimentación más utilizado en investigaciones biomédicas, particularmente en fisiología, toxicología, farmacología, comportamiento, inmunología y oncología entre otras (Moñivas-Palomero *et al.*, 2015).

Ratas Wistar: Esta cepa es utilizada frecuentemente debido a que es asequible y su tamaño es mayor a la de un ratón lo que permite una mejor manipulación reproducción y fácil mantenimiento, además de ser un modelo de animal fiable, de gran utilidad en la representación de la DM2, debido a que desarrollan resistencia a la insulina y disfunción parcial de las células β pancreáticas, hiperglucemia, desbalance metabólico y del estrés oxidativo (EO), siendo la enfermedad semejante a cómo se presenta en los humanos (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002 y *Bequer et al.*, 2014).

Otras especies utilizadas con este fin son las siguientes:

Rata Goto-Kakizaki (GK): Este modelo reproduce bien las principales características de la DM2 humana: hiperproducción de glucosa, reducción de la tolerancia a la misma, deterioro en la secreción de insulina, aumento de la resistencia periférica a la insulina y alteración en el metabolismo lipídico (Arias-Días y Balibrea, 2007).

Ratón obeso de Nueva Zelanda (NZO): Cepa endogámica de ratones seleccionada por obesidad poligénica. Ambos sexos presentan un elevado peso desde su nacimiento y aumento de su grasa corporal, que refleja predominantemente hipertrofia de los adipocitos más que hiperplasia de estos. El desarrollo de diabetes en este modelo representa un complejo fenómeno tipo umbral en el que la tasa de adiposidad precoz establece un nivel diabetogénico de resistencia a la insulina. Los machos desarrollan hipertensión cuando se les somete a una dieta con elevado contenido graso (*ídem*).

Ratón de la cepa KK: Es uno de los modelos poligénicos más adecuados como análogos de la DM2 con obesidad moderada. Los cuales adquieren obesidad gradual cuando se hacen adultos, además de resistencia a la insulina, hiperinsulinemia compensadora e hiperplasia de células insulares, apareciendo finalmente una discreta hiperglucemia. La ingesta alimenticia es un factor de importancia para la gravedad del fenotipo diabético y la restricción de la ingesta calórica reduce tanto la obesidad como la hiperglucemia en estos ratones (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002 y Arias-Días y Balibrea, 2007).

Rata israelí de la arena (*Psammomys obesus*): En su hábitat natural, sigue una dieta esencialmente vegetariana, sin embargo, cuando se alimenta con dieta estándar de rata de laboratorio, se hace obeso, resistente a la insulina e hiperglicémico. Si además se usa una dieta rica en colesterol, los animales desarrollan hiperlipidemia y aterosclerosis. Al igual que en la DM2 humana, el estado hiperglicémico se asocia con un aumento de los niveles de proinsulina y productos de fragmentación presumiblemente debido a la elevada demanda de secreción insulínica por la resistencia periférica a dicha hormona (Arias-Días y Balibrea, 2007).

Rata OLETF (Otsuka Long-Evans Tokushima fatty rat): Esta manifiesta el cuadro diabético sobre los 90 días de nacidos, pero a diferencia de las anteriores, no presenta linfopenia, pero si manifiesta los mismos síntomas clínicos y subclínicos de las ratas BB (Wistar) y síntomas similares al ser humano. Se plantea que en ellas la diabetes se segrega con al menos 2 genes recesivos. Al igual que los ratones NOD (non obese diabetic), estas ratas son capaces de desarrollar un síndrome parecido al de Sjögren, pero no tiroiditis (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2001 y Arias-Días y Balibrea, 2007).

2.1.3. Modelos intrínsecos

Existen multitud de modelos portadores de mutaciones localizadas que resultan en rasgos fenotípicos imitando alguna de las manifestaciones clínicas de la DM2. En la mayoría de los casos se trata de modelos murinos, por ser los ratones de nuevo más adecuados que las ratas para las técnicas de manipulación y análisis genéticos (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2001). Los más conocidos son:

El ratón db/db: El “gen de la diabetes” (db) se transmite de modo autosómico recesivo y codifica una mutación puntual (G a T) en el gen del receptor de la leptina, dando lugar a un déficit de señalización de dicha hormona adipocitaria. La mutación db/db muestra muchas de las características de la DM2 humana. La evolución de estos ratones es bifásica, mostrando primero hiperinsulinemia y después hipoinsulinemia. La fase hiperinsulinémica aparece alrededor de los 10 días, con discreta elevación de la glucemia alrededor del mes y siendo franca la hiperglucemia a las ocho semanas de edad. A los cinco o seis meses, el peso corporal comienza a descender en paralelo con una degeneración de las células β de los islotes, entrando en la fase hipoinsulinémica (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2002).

El ratón ob/ob: A diferencia de los mutantes db/db, los ratones ob/ob son portadores de una mutación en el gen de la propia leptina. Representa un buen modelo para el estudio de la obesidad, siendo la incidencia de diabetes en estos ratones relativamente baja. Esta cepa tiene además una esperanza de vida más larga y sintomatología menos acentuada que la del mutante db/db (*ídem*).

La rata Zucker (fa/fa): La rata fa/fa ha sido extensamente utilizada como modelo de insulinoresistencia y para investigar el origen de la hiperfagia y la hiperinsulinemia. Este modelo se asemeja al ratón ob/ob, ambos se tornan obesos al disminuir el estímulo termogénico Brown Adipose Tissue (BAT), entonces aparece la hiperfagia y la hiperinsulinemia temprana inapropiada, y están presentes también anomalías hipotalámicas y neuroendocrinas con aumento de la secreción de corticosteroides y pobre fertilidad (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2001 y Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

2.1.4. Modelos inducidos

La inducción de la diabetes se ha logrado por medios de diversos métodos experimentales, por alteraciones dietéticas, el empleo de agentes infecciosos, los procedimientos quirúrgicos y hormonales a través de fármacos o sustancias químicas, así como la manipulación genética, siendo estos últimos los más utilizados actualmente porque generan modelos intrínsecos con mutaciones específicas (Hugués-Hernandorena *et al.*, 2001; Hugués-Hernandorena *et al.*, 2002; Arias-Díaz y Balibrea, 2007).

2.1.4.1. Inducción hormonal

Excesivas dosis de hormonas contrarreguladoras pueden producir estados de hiperglucemia. La administración de corticoides en diversos períodos de la vida del animal puede causar un estado similar a la DM2 humana, por lo que es un modelo apropiado para el estudio de la DM2 que aparece en pacientes con transplante de órganos o en tratamiento esteroideo crónico. Otras hormonas que pueden causar hiperglicemia en animales son la somatostatina, el glucagón, las catecolaminas y la tiroxina (Arias-Días y Balibrea, 2007). La epinefrina y el glucagón ejercen el mismo efecto en los animales y seres humanos cuando se administran en exceso. También la administración de hidrocortisona y hormona adrenocorticotrópica inducen hiperglucemia e hiperplasia de las células β del páncreas (Rodríguez y Méndez, 1994).

2.1.4.2. Inducción por medio de fármacos

Existen drogas o sustancias químicas ya referidas que son capaces de provocar la diabetes en individuos no diabéticos o estados de hiperglucemia en pacientes ya conocidos. Algunas de estas drogas pueden inducir a la resistencia insulínica o al daño de las células β y provocar la enfermedad. En los animales tienen un efecto similar y los biomodelos son empleados para estudiar la inducción de la diabetes y los efectos metabólicos (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2001).

La administración de estreptozotocina (STZ) o alloxano, en altas dosis, induce severa insulinodeficiencia y hasta cetosis, mientras que las bajas dosis causan una parcial reducción de la masa de células β , lo cual puede aprovecharse para producir

un estado diabético sin tendencia a la cetosis. La STZ es preferida por su mayor acción citotóxica, pero la sensibilidad varía según la especie animal, la línea, el sexo, la edad y el estado nutricional. En los ratones recién nacidos, ambas sustancias pueden ser inyectadas alternativamente. Cuando se administran durante la primera semana de vida, provocan la enfermedad tardíamente. Si la STZ es inoculada por vía intravenosa (100 mg/kg) el primer día del nacimiento, las células β se destruyen, aunque aproximadamente la mitad se regenera gradualmente (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2002).

2.1.4.3. Inducción por manipulación genética

Al modificar genes específicos, algunas técnicas de biología molecular permiten, al menos teóricamente, generar modelos deseados, por ejemplo, se pueden producir ratones que sobreexpresen o carezcan de una proteína determinada, que se sospecha juega algún papel en el metabolismo de la glucosa (Arias-Días y Balibrea, 2007).

Los ratones transgénicos transportan múltiples copias del gen de la insulina del humano y muestran hiperinsulinemia basal crónica, una respuesta alterada a la insulina y a la glucosa, insulinoresistencia e intolerancia a la glucosa. Por ejemplo, la secreción de insulina se interrumpe en ratones macho que expresan la oncoproteína humana H-ras y se manifiesta una diabetes con elevadas concentraciones de calmodulina en las células β . Estos pueden expresar transgenes que incluyen receptores de insulina humana, transportadores de glucosa humana GLUT 4 y polipéptidos amiloideos de islotes humanos (Hugues-Hernandorena *et al.*, 2002).

2.1.4.4. Alteraciones dietéticas

El consumo de alimentos enriquecidos con grasas saturadas o azúcares simples, como la sacarosa, puede acrecentar la concentración de insulina y aumentar su deposición en el tejido adiposo lo que reduce la sensibilidad a la insulina y la intolerancia a la glucosa en los tejidos. La aparición de la diabetes evidente requiere de una susceptibilidad genética, presente en los roedores desérticos adaptados y en las ratas diabéticas Cohen. En los neonatos tratados con STZ o en los que se han producido lesiones en el hipotálamo, al ser alimentados con dietas de alto contenido en grasas se realzan los rasgos diabéticos (*ídem*).

2.1.4.5. Inducción por procedimientos quirúrgicos

La inducción quirúrgica es una de las aproximaciones para la producción de diabetes, la cual en sus inicios se llevó a cabo en perros, consiste en la ligadura de los ductos pancreáticos o la remoción parcial o total del páncreas, lo que con lleva a la producción de poliuria y polidipsia, dos de los síntomas patognomónicos de la diabetes. Este procedimiento fue empleado por más de un siglo, aunque poco a poco se ha ido sustituyendo por el uso de fármacos con toxicidad selectiva por las células pancreáticas y usando roedores, lo que permite el uso racional y ético de modelos animales para el estudio experimental de la diabetes y con él se estudian los efectos colaterales como lesiones hepáticas, renales y de la médula ósea (Moreno-Cortes *et al.*, 2020).

2.2. Uso de plantas medicinales para el tratamiento de DM en México

A lo largo de la historia se han utilizado algunas especies vegetales para combatir los signos de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), incluso mucho antes de conocerse su fisiopatología. En los últimos años, se han recopilado datos sobre las plantas medicinales y productos naturales con potencial interés como antidiabéticos (Ríos *et al.*, 2016). En el cuadro 1 se muestran 30 especies de plantas comúnmente usadas para el tratamiento de la DM2 en el estado de Oaxaca, también los nombres comunes asignados de acuerdo con la región, partes de la planta y la forma en la cual se obtienen los preparados fito-terapéuticos (Castro-Juárez *et al.*, 2014).

Cuadro 1. Plantas con efecto antidiabético usadas en el estado de Oaxaca, México (Castro-Juárez *et al.*, 2014).

Familia botánica	Nombre científico	Nombre popular	Parte utilizada	Forma de preparación
Agavaceae	<i>Agave potatorum</i> Zucc.	Maguey del pasmo (potatorum)	Hojas, tallo	Hervida
Apocynaceae	<i>Plumeria rubra</i> L.	Cacaloxochitl (Ahaipuih en mije)	Flores	Desconocido
Asteraceae	<i>Calea ternifolia</i> Kunth.	Caunashana	Hojas, tallo	Mezclado con oreja de ratón*
Asteraceae	<i>Parthenium hysterophorus</i> L.	Altamisa (ujts en mixe)	Ramas	Desconocido

Bignoniaceae	<i>Tecoma stans (L.) Kunth.</i>	Trovador	Hojas	Cocida
Bombacaceae	<i>Pachira aquatica Aubl.</i>	Apompo	Raíces	Infusión
Burseraceae	<i>Bursera simaruba (L.) Sarg.</i>	Palo mulato	Corteza	Decocción
Cactaceae	<i>Ferocactus latispinus Britton & Rose</i>	Biznaga	Toda	Hervida en té
Cactaceae	<i>Opuntia streptacantha Lem.</i>	Nopal (nangachas-nüic en huave)	Penca	Extracto
Brassicaceae	<i>Lepidium virginicum L.</i>	Semilla de lenteja	Ramas	Infusión (agua de tiempo)
Equisetaceae	<i>Equisetum hyemale L.</i>	Cola de caballo, carricillo y cañuela	Desconocido	Desconocido
Equisetaceae	<i>Equisetum laevigatum A. Braun</i>	Cola de caballo, carricillo y cañuela	Desconocido	Desconocido
Equisetaceae	<i>Hippochaete myriochaeta Schlttdl. Cham.</i>	Cola de caballo, carricillo y cañuela	Desconocido	Desconocido
Euphorbiaceae	<i>Cnidocolus chayamansa Mc Vaugh</i>	Chaya	Hojas	Infusión (agua de tiempo)
Lamiaceae	<i>Hyptis suaveolens (L.) Poit.</i>	Salvia	Hojas, tallo	Infusión
Lamiaceae	<i>Salvia splendens Ker Gawl.</i>	Bretonica	Hojas	Cocida, fresca
Lamiaceae	<i>Marrubium vulgare L.</i>	Marrubio	Ramas	Cocida
Leguminosae	<i>Sweetia panamensis Benth.</i>	Huayacán, Guayacan, bálsamo ama-Carrillo	Corteza	Decocción
Leguminosae	<i>Acacia farnesiana (L.) Willd.</i>	Huizache (Bihi en zapoteco)	Ramas	Desconocido

Aloaceae	<i>Aloe vera</i> L.	Sábila	Hoja	Decocción
Cecropiaceae	<i>Cecropia obtusifolia</i> Bertol.	Guarumbo, Chancarro, hormiguillo, Chiflón y Koochlé.	Hojas secas	Infusión
Cecropiaceae	<i>Cecropia peltata</i> T.	Huarumbo, Quina y Guarumbo	Hojas, raíz, tallo	Infusión
Musaceae	<i>Musa sapientum</i> L.	Flor de plátano	Raíz, flores	Infusión, decocción
Nyctaginaceae	<i>Salpianthus macrodonthus</i> Stand.	Catarinita, catarinilla	Hojas, flores, raíz	Decocción
Phytolaccaceae	<i>Phytolacca</i> L.	Sangre de toro o perla china	Fruto	Desconocido
Rhamnaceae	<i>Colubrina elliptica</i> (Sw.) Briz. & WL Stern	Palo de amole	Corteza	Infusión, decocción
Rhizophoraceae	<i>Rhizophora mangle</i> L.	Mangle Rojo (mangle dulce)	Corteza	Desconocido
Rosaceae	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Níspero	Hojas, Flores	La infusión, decocción
Rubiaceae	<i>Hamelia patens</i> Jacq.	Coral	Flor	Infusión (agua de tiempo)
Verbenaceae	<i>Lantana camara</i> L.	Orozuz (toots-kumod en mixe)	Hojas, ramas	Desconocido

2.3. Generalidades de *Annona muricata* L.

Annona muricata L., comúnmente conocida como guanábana o graviola es originaria de las zonas tropicales más cálidas de América del Sur y del Norte y ahora está ampliamente distribuida en las partes tropicales y subtropicales del mundo, incluidas India, Malasia y Nigeria (Adewole y Caxton-Martins, 2006). La guanábana pertenece a la familia Annonaceae, que incluye aproximadamente a 130 géneros y 2300 especies (Moghadamtousi, 2015).

2.4. Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Traqueophyta

Sub División: Spermatophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Magnoliales

Familia: Annonaceae

Género: *Annona* L.

Especie: *Annona muricata* L.

(Sistema Integrado de Información Taxonómica, s.f. y Flores-Lodoño y Martínez-Muñoz, 2010).

2.5. Descripción Botánica

Según Moghadamtousi (2015), *A. muricata* L., es un árbol perennifolio, terrestre, erecto, con tallo único, ramificación simétrica, de copa abierta y redondeada, que alcanza de 5 a 8 m de altura. Logra su pleno desarrollo entre los 6 a 8 años, según las condiciones de clima y suelo. La corteza externa es de color castaño ligeramente lisa, la corteza interna es de una tonalidad rosada, por otro lado, el tronco y las ramas son de color café rojizo con numerosas lenticelas. Las ramas son de forma cilíndrica, ásperas y arrugadas (CONABIO, 2006).

2.5.1. Hojas

Las hojas son grandes, alternas simples, oblongas o elípticas, coriáceas, con el haz de color verde brillante y el envés amarillo mate, con una longitud de entre 6 a 18 cm de largo por 2 a 6 cm de ancho (Figura1) (Moghadamtousi, 2015 y Hernández, 2020).



Figura 1 Hojas de *A. muricata* L., Foto tomada por Guillermo Pérez Pérez.

2.5.2. Fruto y semilla

La fructificación comienza entre los 3 a 5 años. El fruto de guanábana es comestible, clasificado como múltiple de forma oblonga cónica, semejante a un corazón o de forma irregular (Figura 2) (Moghadamtousi, 2015), esto último es debido a un desarrollo inapropiado del carpelo o vacíos producidos por insectos; el fruto alcanza un diámetro que varía entre los 10 a 30 cm, con un peso de entre 1 a 5 kg, con cáscara de color verde oscuro que posee varias espinas pequeñas, suaves y carnosas. Cuando el fruto está maduro la cáscara es de color verde mate y adquiere una consistencia blanda con apariencia verticulada (Jiménez-Zurita *et al.*, 2017).

La pulpa es de color blanco, cremosa, aromática, jugosa y suave, contiene de 80 a 83% de agua, 1% de proteínas, de 14 a 18% de hidratos de carbono, 3.43% de acidez titulable, 24.5% de azúcares no reductores y vitaminas B1, B2, y C, se encuentra adherida a la cutícula, pero se separa fácilmente en segmentos y recubre totalmente las semillas ovoides y aplanadas de color negras, de 15 a 20 mm de largo

con testa oscura y brillante, cada fruto puede tener hasta 200 semillas, una por carpelo (*ídem*) (Figura 2 y 3).



Figura 2. Fruta de *A. muricata* L., Foto tomada por Guillermo Pérez Pérez.

2.5.3. Flor

Las flores son hermafroditas, perfumadas, solitarias o en pares que se forman sobre ramitas cortas auxiliares o directamente sobre el tronco. Poseen tres sépalos color verde oscuro y seis pétalos de color cremoso; los tres pétalos externos de 2 a 3 cm de largo y entre 2 a 4 cm de ancho y coriáceos, mientras que los tres pétalos internos son grandes y alternos con los primeros. El receptáculo es grande y pubescente, con estambres numerosos dispuestos alrededor de los pistilos y abundantes ovarios (Velasco, 2018 y Hernández, 2020) (Figura 3 y 4).

La floración comienza cuando tiene entre tres a cuatro años, aunque algunas veces puede producirse antes, dependiendo de las condiciones ambientales. La antesis o apertura de la flor comienza, con la separación del ápice de los pétalos externos y tarda entre 6 a 8 horas en llevarse a cabo (Pinto *et al.*, 2005).

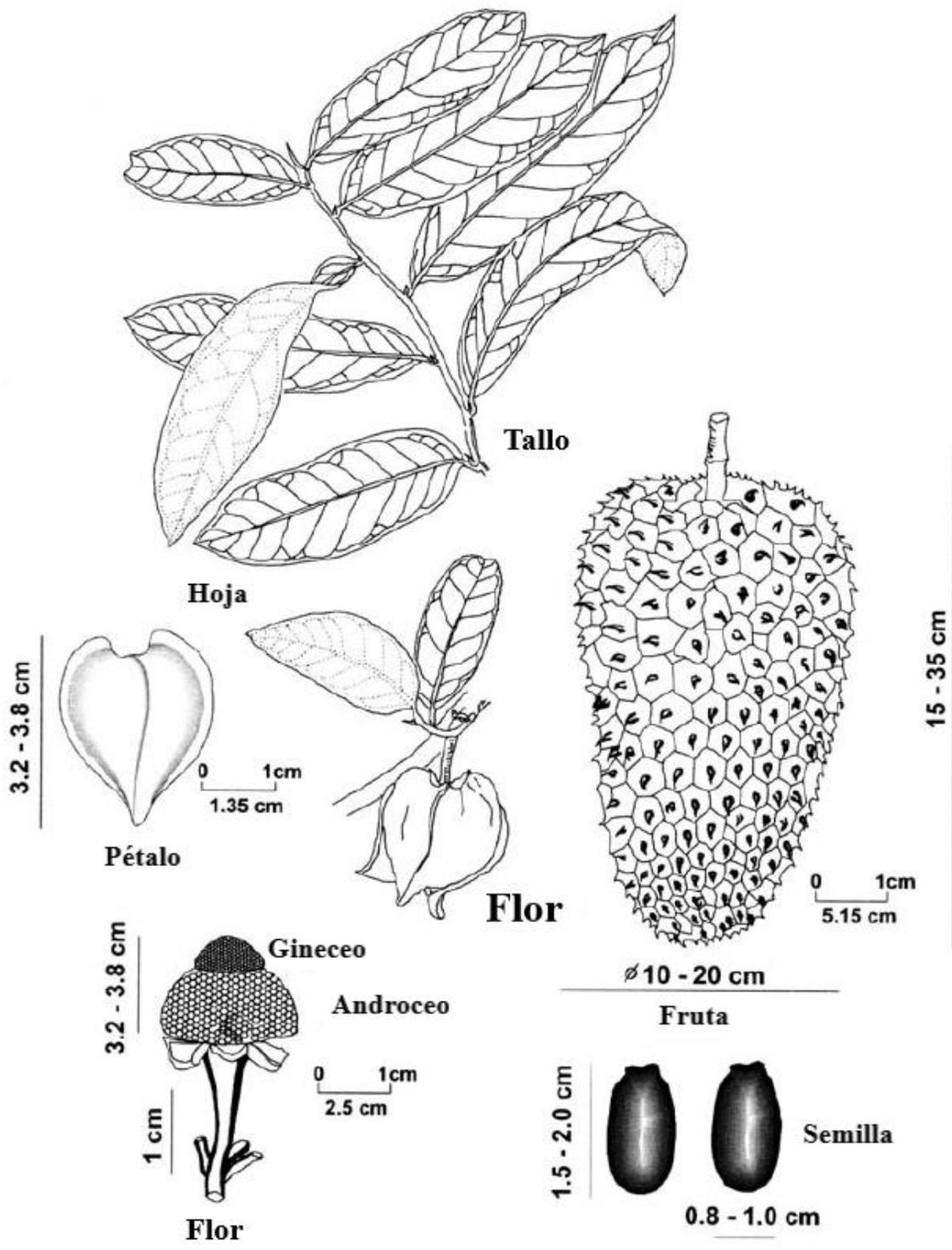


Figura 3. Características botánicas de algunas partes de la planta de guanábana (*Annona muricata* L.) (Pinto *et al.*, 2005).

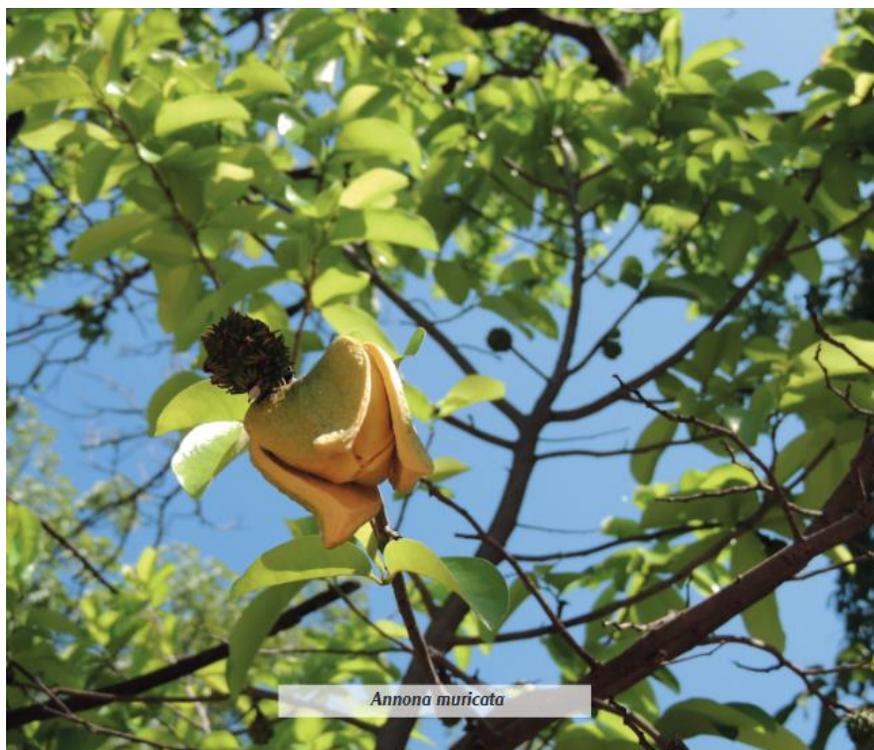


Figura 4. Flor de *Annona muricata*. Foto tomada de De-la-Cruz Chacón *et al.* (2016).

2.5.4. Polinización

La polinización de *A. muricata* L., es realizada principalmente por insectos, o a veces por el viento. El hecho de que las flores sean protóginas, es decir, que los pistilos estén maduros antes de que el polen sea liberado de las anteras, determina que la autopolinización no sea posible. La fructificación puede ser escasa cuando las poblaciones de insectos polinizadores son reducidas, y pueden producirse frutos pequeños y asimétricos, debido a que el tamaño y la forma del fruto dependen del número y la posición de los óvulos fecundados. En consecuencia, el número de frutos por planta, el tamaño y la forma de los frutos dependen en gran medida de una polinización (Pinto *et al.*, 2005).

2.6. Requerimientos

2.6.1. Clima y temperatura

Es una especie susceptible al frío, para su adecuado desarrollo y cultivo requiere clima tropical, húmedo y cálido, con temperaturas de 23 a 30°C, característico de altitudes inferiores a 1000 msnm., precipitaciones mayores a 1500 mm anuales y humedad

relativa de 60 a 80%. Este es un factor crítico en el cultivo de la guanábana, la humedad relativa alta, aumenta la propensión a la antracnosis, y una humedad relativa demasiado baja, dificulta la polinización, afectando los niveles de producción (Sociedad Española de Productos Húmicos, 2010).

2.6.2. Suelo

Los árboles de *Annona* se desarrollan en una amplia gama de tipos de suelos, desde livianos a pedregosos; sin embargo, se logran mejores cosechas en suelos de textura franca o franco-arenosos, con macroelementos (Nitrógeno, Fósforo y Potasio) y microelementos esenciales, bien aireados que permiten un fácil drenaje, así como ricos en materia orgánica, con un pH ligeramente ácido de 5.5 a 6.5, debido a que los suelos ácidos pueden causar deficiencias nutricionales y posiblemente la reducción de tamaño y peso de los frutos (Castro-Retana, 2007; Sociedad Española de Productos Húmicos, 2010).

2.7. Usos Etnomedicinales

En México, se cuenta con documentos como el Códice Florentino y el Códice de la Cruz Badiano que ilustran la riqueza de las especies vegetales utilizadas principalmente por la cultura náhuatl (Argueta *et al.*, 1994; Osuna *et al.*, 2005). Existen varias recopilaciones que logran rescatar esta información, en algunas se mencionan varias especies del género *Annona* que se han utilizado con fines medicinales. Como ejemplo: la cáscara de *A. cherimola*, en cocimiento, se utilizaba para tratar la pulmonía; sin embargo, se advierte que las semillas son venenosas. También se menciona a la *A. glabra* por sus propiedades expectorantes y como remedio en las primeras fases de la tuberculosis. Así como el uso de *A. squamosa*, *A. muricata* y a *A. lutescens* como plantas medicinales (Martínez, 1969; Argueta *et al.*, 1994; Andrade-Cetto y Heinrich, 2005; Osuna *et al.*, 2005).

EL uso especial de *A. muricata* L., en la medicina natural es gracias a que todos los órganos de esta planta tienen una utilidad (cortezas, hojas, raíces y frutos). La fruta se usa como remedio para el dolor artrítico, la neuralgia, artritis, diarrea, disentería, fiebre, malaria, parásitos, reumatismo, juncos y lombrices, y también se come para elevar la leche materna después del parto. Las hojas se emplean para tratar la cistitis,

la diabetes, los dolores de cabeza y el insomnio; también presentan efectos antirreumáticos y neurálgicos. Las hojas cocidas se usan tópicamente para tratar abscesos y reumatismo (Moghadamtousi, 2015).

2.8. Las anonáceas como producto biológico para la obtención de nuevos medicamentos.

Las plantas de esta familia se caracterizan por su gran contenido en diferentes esqueletos químicos con múltiples propiedades farmacológicas (Cabedo *et al.*, 2011), estas propiedades están asociadas a la presencia de metabolitos secundarios, cuyos los principales compuestos activos son las acetogeninas de anonáceas, los flavonoides, compuestos fenólicos, alcaloides y taninos (Ortiz-Septién y Campos-Ortiz, s/d). Estos metabolitos que la naturaleza biosintetiza pueden llegar a utilizarse directamente como fármacos, o constituir la fuente de inspiración en la preparación de nuevos medicamentos de síntesis (Cortes, 2007).

Los MSA más utilizados son las Acetogeninas, Esteéril-lactonas, Benzopiranos prenilados, Isoquinoleinas, Bencilisoquinoleinas, Aporfinas, Protoberberinas, Azafluorenonas, y β -Carbolinas-pirimidinas: "annomontina", que se han utilizado para la realización de diversos medicamentos para el control de distintos padecimientos (*idem*).

2.9. Definición de diabetes mellitus (DM)

Denominamos diabetes a un grupo de enfermedades metabólicas caracterizadas por hiperglucemia crónica. Ésta puede ser consecuencia de defectos en la secreción de insulina, en su acción (o en ambas), así como la disfunción de las células beta del páncreas. La hiperglucemia crónica de la diabetes se asocia con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas, daño a largo plazo en diferentes órganos, especialmente en los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos (Aranda-Ventura *et al.*, 2014 y Barquilla-García, 2017).

2.10. Clasificación de la DM

Actualmente, la clasificación de la DM se basa en criterios etiológicos. Se ha propuesto un modelo de clasificación de la DM centrada en las células β , donde se reconoce la

alteración de la célula β como el defecto primario de la DM y se reconoce interacción de la genética, resistencia a la insulina, factores ambientales y la inflamación/sistema inmunológico sobre la función y la masa de las células β . Esta clasificación centrada en las células β identifica las vías mediadoras de la hiperglucemia que son operativas en cada paciente y dirigen el tratamiento a esas disfunciones específicas (RedGDPS, 2018).

La diabetes se puede clasificar de diferentes tipos, las cuales dependen de varios factores, Incluyendo diversos tipos de diabetes y otras categorías de intolerancia a la glucosa (Rojas *et al.*, 2012).

2.10.1. Diabetes tipo 1

Esta tiene por consecuencia una resistencia a la acción de la insulina, es decir, la hormona se sintetiza con normalidad, pero no surte los efectos deseados y además suele combinarse con una insuficiente producción pancreática de insulina. En general, no presenta sintomatología en su comienzo, por lo que a veces se diagnostica después de varios años de existencia (Rondon, 2011).

2.10.2. Diabetes tipo 2

Es la forma más común y con frecuencia se asocia a la obesidad o incremento en la grasa visceral. Muy raramente ocurre cetoacidosis de manera espontánea. El defecto va desde una resistencia predominante a la insulina, acompañada con una deficiencia relativa de la hormona, hasta un progresivo defecto en su secreción (Rojas *et al.*, 2012).

2.10.3. Diabetes gestacional (DMG)

Clásicamente se ha definido como DMG a toda intolerancia a los hidratos de carbono de intensidad variable o intolerancia a la glucosa que se descubre durante el embarazo. En principio, esto excluye a las diversas formas de diabetes pregestacional (tipo 1 o 2), aunque estas últimas formas de hiperglucemia podrían ser diagnosticadas por primera vez en el transcurso de la gestación. Esta definición abarca grados muy variables de glucosa en sangre, así como cambios muy importantes en la fisiopatología de la embarazada, así como diversas manifestaciones clínicas en la madre, y repercusiones variables en el feto. En la DMG existe una amplia gama de opiniones

en cuanto a su detección y hay discrepancias acerca del tratamiento. Por lo demás, existe evidencia de que incluso hiperglucemias leves son un factor de riesgo para la morbilidad y mortalidad maternofetal (Garcia-Garcia, 2008 y Perez *et al.*, 2012).

2.11. Agentes inductores de la diabetes tipo 2

Los factores de riesgo que pueden inducir el desarrollo de la DM2 son varios destacando la edad debido a que las personas de la tercera edad son más propensas a sufrir alteraciones en la regulación de glucosa (Paulweber *et al.*, 2010), también la raza o etnia influye puesto que los individuos de raza caucásica son menos propensos a padecer diabetes, mientras que los hispanos, asiáticos, negros y grupos nativos americanos como indios, alaskaño, hawaianos, entre otros presentan una evolución más rápida a la diabetes (McCulloch y Robertson *s/f* y Paulweber *et al.*, 2010). Por otra parte, las personas con antecedentes familiares es decir que su padre, madre o ambos presenten DM2, incrementa la posibilidad de desarrollar la enfermedad (Bellamy *et al.*, 2009). Además, los malos hábitos como el sedentarismo, la mala alimentación y el consumo de tabaco, reducen el gasto de energía y promueve el aumento de peso (sobrepeso u obesidad), hipertensión arterial, triglicéridos y/o colesterol, incluso insuficiencia cardiaca avanzada lo que incrementa el riesgo de Intolerancia a la glucosa (ITG) y padecer DM2 (McCulloch y Robertson *s/f* y Paulweber *et al.*, 2010).

2.12. Importancia de la DM

La diabetes mellitus es una enfermedad de primera importancia a nivel de Salud Pública en todo el mundo. En su etapa inicial no produce síntomas y cuando se detecta tardíamente y no se trata adecuadamente ocasiona complicaciones de salud graves como infarto del corazón, ceguera, falla renal, amputación de las extremidades inferiores y muerte prematura (Cruz-Abascal, 2011 y DeFronzo, 2004). Los pacientes diabéticos a menudo tienen hiperlipidemia que se asocia sobre todo con la enfermedad coronaria prematura. La resistencia a la insulina también se incrementa en la hiperlipidemia.

En 2019, la diabetes fue la sexta causa principal de muerte en el continente americano, con un estimado de 244,084 muertes causadas directamente por la diabetes. Es la segunda causa principal de Años de vida ajustados por discapacidad

(AVAD), lo que refleja las complicaciones limitantes que sufren las personas con diabetes a lo largo de su vida (Organización Panamericana de la Salud, 2021).

2.13. Complicaciones Agudas

2.13.1. Hipoglucemia

La definición de hipoglucemia es bioquímica y puede definirse como una concentración de glucosa en sangre venosa inferior a 60 mg/dl o capilar inferior a 50 mg/dl. Constituye la complicación más frecuentemente asociada al tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus. Cualquier persona en tratamiento con antidiabéticos orales o insulina puede sufrirla, aunque ocurre con mayor frecuencia en pacientes que siguen tratamiento intensivo con insulina, presentan una larga evolución de la diabetes mellitus y/o padecen neuropatía autónoma. Esta se puede clasificar en varios niveles (Mediavilla-Bravo, 2001).

2.13.2. Hiperglucemia

La hiperglucemia causa complicaciones metabólicas agudas es resultado del déficit absoluto o relativo de insulina. Este déficit puede desembocar en que los pacientes diabéticos presenten un cuadro de cetoacidosis diabética o un síndrome hiperglucémico hiperosmolar, aunque hasta un tercio de los pacientes presentan una mezcla de las dos situaciones (*ídem*).

2.13.3. Cetoacidosis diabética

Es la complicación metabólica aguda propia de la diabetes mellitus tipo 1, aunque también la podemos encontrar en la diabetes tipo 2 en situaciones de estrés. La falta de insulina o su inadecuada utilización que cursa con hiperglucemia generalmente superior a 300 mg/dl, no permite que las células del organismo usen la glucosa presente en la sangre, que es su principal fuente de energía. Por esa razón, el organismo comienza a quemar las grasas para producir energía. En este proceso, se producen sustancias tóxicas ácidas llamadas cuerpos cetónicos o acetona. La hiperglucemia más la acumulación de cuerpos cetónicos pueden causar una cetoacidosis (Chica-Jama y Robalino-Salazar 2017).

La muerte, debida a la falta de diagnóstico o al retraso de éste, a las complicaciones asociadas al tratamiento o a trastornos asociados desencadenantes

(sepsis, etc.) continúa produciéndose en un 1-10% de los pacientes que la presentan (Mediavilla-Bravo, 2001).

2.13.4. Coma hiperglucémico hiperosmolar no cetósico

Es la complicación metabólica aguda más frecuente entre los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, en especial con edades superiores a los 60 años, provocando una mortalidad superior (> 50%) a la ocasionada por la cetoacidosis diabética (*ídem*).

2.14. Complicaciones Crónicas

Las complicaciones crónicas de la diabetes clasifican en: a) macrovasculares (equivalente a arteriosclerosis), que son las que afectan a las arterias en general produciendo enfermedad cardíaca coronaria, cerebrovascular y vascular periférica; b) microvasculares, que incluiría la retinopatía, nefropatía y neuropatía, y c) el pie diabético, que aparecería como consecuencia de la neuropatía y/o de la afección vascular de origen macroangiopático.

2.14.1. Macrovasculares

La macroangiopatía es la afectación arteriosclerótica de los vasos de mediano y gran calibre. (Mediavilla-Bravo. 2001).

2.14.2. Microvasculares

Existe una relación continua entre el control de la glucemia y la incidencia y progresión de las complicaciones microvasculares. La hipertensión y el tabaquismo tienen también un efecto adverso en las complicaciones microvasculares. (*ídem*).

2.14.3. Retinopatía

Los pacientes diabéticos corren el riesgo de padecer cataratas y glaucoma, pero la retinopatía es la enfermedad ocular más frecuente asociada con la diabetes. Es una enfermedad vascular degenerativa de la retina caracterizada por un aumento anormal de la permeabilidad vascular retiniana, formación de microaneurismas y neovascularización con hemorragias, cicatrización y desprendimiento retinianos asociados. El embarazo, la pubertad y la cirugía por cataratas pueden acelerar la retinopatía. Los principales síntomas de esta enfermedad son: visión borrosa, pérdida gradual de visión, sombras o zonas de visión perdidas y mala visión nocturna. El

paciente no suele darse cuenta de la enfermedad hasta que el daño ya es irreversible. (Lázaro-Carrasco, 2017).

2.14.4. Nefropatía diabética

Se trata de un proceso progresivo en el que, en un primer momento, aparecen lesiones funcionales (hiperfiltración) y, posteriormente, lesiones estructurales. El aumento del filtrado glomerular se produce por un doble mecanismo: un aumento de presión de filtración porque se eleva el flujo sanguíneo del glomérulo, manteniéndose el calibre de la arteriola aferente mayor que de la eferente, y aumento de la constante de filtración porque los glomérulos se hipertrofian, lo que supone un incremento de la superficie de membrana filtrante. El daño irreversible de los mismos lleva a modificaciones hemodinámicas del resto, estableciéndose un mecanismo de auto perpetuación de la lesión, independiente de las modificaciones metabólicas (*ídem*).

2.14.5. Neuropatía diabética

Es la complicación sintomática más frecuente en pacientes con diabetes mellitus (DM) y la principal causa de lesiones y de amputación. Esta patología afecta fibras sensitivas, motoras y autonómicas del sistema nervioso periférico de forma distal en extremidades inferiores. (Botas *et al.*, 2016)

2.14.6. Pie diabético

Las lesiones más habituales a este respecto son las úlceras, con o sin infección, es el resultado de la coexistencia de neuropatía y vasculopatía (que favorecen la aparición de lesiones hísticas) e infección, y puede progresar a situaciones tan graves como la gangrena. Constituye, por tanto, una importante causa de morbimortalidad en los pacientes diabéticos, e incluso puede llegar a ocasionar situaciones francamente invalidantes como consecuencia de las técnicas quirúrgicas empleadas (amputación), o incluso la muerte. Aun así, el pie diabético es la complicación crónica de la diabetes mellitus de más sencilla y fácil prevención. (Garrido *et al.*, 2003).

2.15. Tratamientos actuales de la DM

El tratamiento de la diabetes de tipo 1 se basa en la dieta y la insulina. En los pacientes con diabetes de tipo 2 hay que iniciar un tratamiento dietético acompañado de ejercicio

físico adaptado a la edad y, si después de 3-6 meses la respuesta no es adecuada, se recomienda iniciar el tratamiento con un hipoglucemiante por vía oral. En este caso, las sulfonilureas se consideran de elección si no hay exceso de peso, y en los pacientes obesos se suele recomendar una biguanidina, como la metformina (López, 2006 y Organización Mundial de la Salud, 2023).

2.16. Diagnóstico

El diagnóstico clínico de la diabetes mellitus (DM) se basa en el concepto de que la elevación anormal de la glucemia incrementa el riesgo de complicaciones microvasculares, especialmente retinopatía (menos influida por otros factores). Los umbrales de glucemia para definir un aumento en la mortalidad y en las enfermedades cardiovasculares no están claros, y tampoco existen suficientes datos para definir los niveles de glucemia normales (RedGDPS, 2018).

Los nuevos criterios se basan en niveles menores de glucosa con la finalidad de iniciar precozmente el tratamiento y reducir las complicaciones. Se consideran valores normales de glucemia en ayunas menores a 100 mg/dL y de 140 mg/dL después de dos horas de una carga de glucosa (Rojas *et al.*, 2012). Las alteraciones del metabolismo de la glucosa previas a la aparición de la diabetes están definidas como:

- Glucosa alterada en ayunas (GAA): cuando su valor se encuentra entre 100mg/dL y 125 mg/ dL.
- Intolerancia a la prueba de glucosa (ITG) a las dos horas con cifras entre 140 y 199 mg/dL, después de una carga de 75 gramos de glucosa (*Ídem*).

III. ANTECEDENTES

Las investigaciones que incluyen evaluaciones de los extractos de algunas plantas en el tratamiento de la hiperglucemia, sobre modelos experimentales, como las ratas, han sido pocos, pero con resultados prometedores. Se ha encontrado que los diversos estudios con extractos de las hojas de *A. muricata* L. (guanábana), *A. squamosa* (saramuyo) y *Muntingia calabura* L. (capulín) producen una disminución significativa de los niveles sanguíneos de glucosa, triglicéridos, colesterol total, colesterol LDL e índice aterogénico.

3.1. Estudios en modelos animales.

Los estudios que evalúan los extractos de las hojas de alguna especie de *Annona*, sobre modelos murinos, es bastante reciente, comenzó hace 17 años con Kaleem *et al.* (2006), estos investigadores evaluaron el efecto del extracto acuoso de hojas de *A. squamosa* (300 mg/kg), sobre ratas Wistar diabéticas a través de administración oral. Obtuvieron una reducción significativa en los niveles de glucosa a los 30 días después del tratamiento, que disminuyó desde 98.1 hasta los 8.1 mg/dL.

Palomino-Flores. (2007) determinó el efecto hipoglucemiante de extractos etanólicos de *A. muricata* L. sobre ratas de la cepa Holtzman con hiperglicemia inducida mediante aloxano, usando tres concentraciones (200, 400 y 600 mg/kg) a través de administración oral. La concentración con mejor efecto fue la de 200 mg/kg, ya que redujo los niveles de glucosa, además los autores mencionaron que existió una mejor protección del páncreas, hígado y riñones contra el daño causado por el aloxano.

Adewole y Ojewole. (2009) evaluaron el efecto hipoglicémico, hipolipemiante y propiedades antioxidantes del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* L., en hepatocitos de ratas diabéticas. Las concentraciones utilizadas mostraron una disminución significativa en los niveles de glucosa. Además, se observó un efecto protector en el tejido hepático. Obteniendo que los grupos tratados con extracto acuoso

Florence *et al.* (2014) reportaron que la administración única del extracto acuoso de *A. muricata* L. en ratas diabéticas redujo significativamente, a los 14 días de tratamiento,

los niveles de glucosa en sangre en un 75% y 58,22% a una concentración de 100 mg/kg y 200 mg/kg respectivamente, comparados con el valor inicial,

Palomino-Flores y Arroyo-Acevedo (2017) evaluaron el efecto del extracto etanólico de hojas de guanábana administrado en 90 ratas diabéticas, a una concentración de 100 y 200 mg/kg. Los autores encontraron buenos resultados para ambas dosis, la de 100 mg/kg logró diferencias significativas en las presiones arteriales, en el colesterol total y colesterol LDL-c; mientras que la dosis de 200 mg/kg mostró diferencias significativas en los valores de glicemia y triglicéridos. Además, la dosis de 200 mg/kg mostró un mejor efecto ante la inducción de síndrome metabólico experimental.

Opara *et al.* (2021) estudiaron el potencial hipoglucemiante del extracto etanólico de hojas de *A. muricata* en ~~seis grupos de cinco ratas~~ ratas albinas Wistar inducidas a diabetes por aloxano. Los resultados demostraron que el extracto reduce significativamente los niveles promedio de glucosa en sangre (mg/dl). Ante esto, los autores consideran a este extracto como idóneo para la elaboración de un fármaco potente en el tratamiento y control de la diabetes mellitus y las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.

Solikhah *et al.* (2021) realizaron un estudio para determinar el efecto del extracto de hojas de *Muntingia calabura* L. a una concentración de 300 mg/kg y 600 µg/kg de glibenclamida durante 14 días sobre el nivel de glucosa en sangre y el peso de ratones diabéticos inducidos por aloxano. Los resultados demostraron una disminución significativa en el nivel de glucosa en sangre y el aumento de peso a los 7 y 14 días después del tratamiento, por lo que concluyeron que el extracto puede normalizar el peso de los ratones diabéticos-

3.2. Estudios clínicos.

En la búsqueda de tratamientos para el control de los niveles de glicemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, Arroyo *et al.* (2009) realizaron la comparación de dos tipos de tratamientos, el primero fue la administración de cápsulas de glibenclamida, y el segundo el suministro de cápsulas rellenas con el extracto etanólico de hojas de *A.*

muricata más glibenclamida. De ambas evaluaciones, las cápsulas con el extracto etanólico más glibenclamida fueron las que produjeron una mejor disminución de los niveles de glicemia en los pacientes debido a la sinergia de los componentes del fármaco y las propiedades medicinales de la guanábana.

Chica-Jama y Robalino-Salazar (2017) determinaron el efecto hipoglucemiante de la infusión de hojas de dos especies de plantas, el higo y la guanábana, en pacientes con Diabetes Mellitus tipo II de 40 a 80 años de edad. Se midió la respuesta de glicemia pre y post ingesta de las infusiones ingeridas una vez por semana. Los autores encontraron diferencias significativas en las infusiones de ambas especies.

IV. OBJETIVOS

4.1. General

Evaluar el efecto hipoglucemiante de hojas de *A. muricata* en ratas Wistar hiperglucémicas.

4.2. Particulares

Inducir a las ratas de la cepa Wistar a la diabetes experimental.

Obtener el extracto acuoso de hojas del árbol de *A. muricata* L.

Evaluar el incremento (Δ) de peso en las ratas después del consumo del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* L.

Evaluar la reducción de la glucosa en sangre después de la administración del extracto de *A. muricata*.

V. AREA DE RECOLECTA

Las hojas de *A. muricata* L, se recolectaron en la colonia “San Fernando”, ubicada en el municipio de Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. ($16^{\circ}46'53.4''$ de latitud Norte y $93^{\circ}06'20.0''$ de latitud Oeste). Tuxtla Gutiérrez el cual limita con los municipios de San Fernando y Usumacinta; al este con el de Chiapa de Corzo, al sur con el de Suchiapa y al oeste con los de Ocozocoautla y Berriozábal (Figura 5).

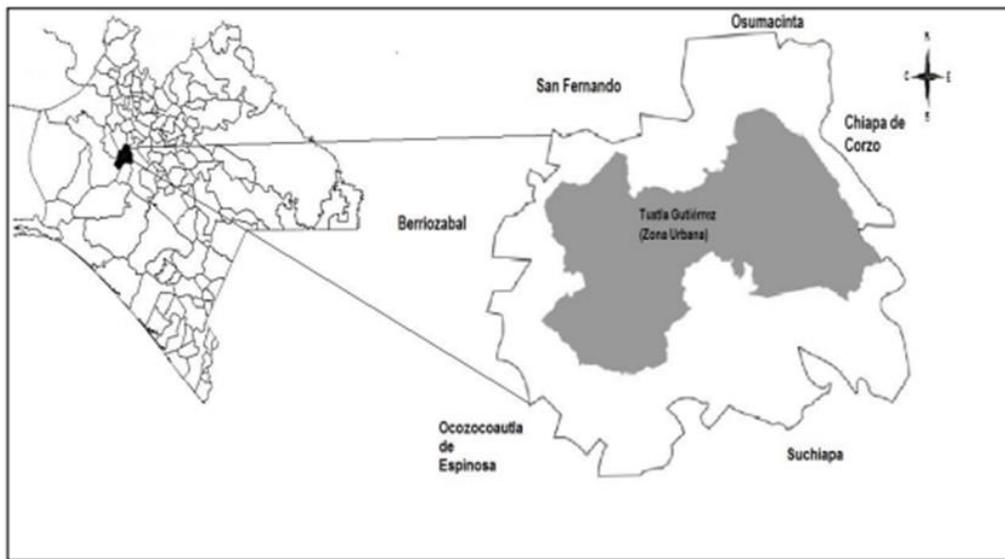


Figura 5. Mapa de ubicación del municipio de Tuxtla Gutiérrez (Gómez, 2014). Falta señalar el punto de ubicación de la zona de recolecta.

5.1. Clima

El clima del municipio se caracteriza por ser cálido húmedo y semicálido húmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual en la mayor parte del territorio predomina entre los 24°C a 26°C , siendo en los meses de mayo a octubre, las temperaturas mínimas promedio que van de los 18 a 21°C . En tanto que las máximas promedio en este periodo son de 33 a 34°C , con precipitaciones fluctúan entre los 900 mm y los $1,200$ mm. Por otro lado, durante los meses de noviembre a abril, las temperaturas mínimas promedio predominantes va de los 12 a 15°C . Mientras que la temperatura máxima promedio en este mismo periodo son de 30 a 33°C y

precipitaciones que van de los 25 mm y hasta los 600 mm (Gobierno del Estado de Chiapas, 2014).

5.2. Vegetación

Se constituye de vegetación secundaria de selvas altas (2.11 %) y medianas subperennifolias (0.66 %), también se presentan la selva baja caducifolia (25.63 %) en áreas de suelos pobres con menor humedad y bosque de encino (1.73 %) en suelos más profundos y mayor humedad ambiental. Al centro de la región localizamos meseta típica, llanuras y valles con lomeríos, que tiene más del 30% de la superficie regional de agricultura de temporal y de riego. En la zona sur la vegetación está conformada en la mayor parte por pastizal inducido (que originalmente soportaba selvas) y el resto de esta zona sur está cubierta actualmente por sabana y vegetación secundaria de selva baja caducifolia (*ídem*).

5.3. Suelo

El valle de Tuxtla Gutiérrez está enmarcado geológicamente por secuencias de sedimentos marinos de edad correspondiente al Cretácico inferior-terciario medio, deformadas por dos eventos orogénicos, uno del Cretácico superior-Terciario inferior (orogenia Laramide) y otro del Terciario medio (orogenia Chiapaneca) (Ordóñez-Ruiz *et al.*, 2015).

En el extremo noroeste de la ciudad se presentan calizas que, de acuerdo con el plano geológico de la región (Figura 6), pertenecen a la Formación Angostura y se extienden también a la zona noreste. Existe una formación terciaria constituida por una serie de areniscas con gravilla y lutitas calcáreas que, probablemente, se depositaron en el Eoceno a consecuencia de los levantamientos que ocurrieron en la región y que recubren concordantemente a las calizas. En algunos lugares se observan limos con gravilla o areniscas con gravilla; por ejemplo, en el contacto con esta formación y las calizas sobre la carretera a San Fernando, localidad ubicada al noroeste de la ciudad (Alonso *et al.*, 1995).

VI. MÉTODO

6.1. Material vegetal

La recolección de las hojas de guanábana (*A. muricata* L.) se realizó de mayo a junio de 2022, las cuales fueron almacenadas en bolsas de papel para su traslado al Laboratorio Multidisciplinario Experimental y Bioterio del Instituto de Ciencias Biológicas de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (UNICACH). Las hojas fueron secadas sobre papel estraza, a temperatura ambiente y luz natural durante 30 días. Una vez secas, las hojas fueron pulverizadas finamente con una licuadora y guardadas en un frasco ámbar (Figura 7).



Figura 6. Árbol de *A. muricata* L., de donde se recolectó la muestra vegetal.



Figura 7. Proceso de secado y obtención del polvo de hojas de *A. muricata* L. a) y b) secado de hojas, c) inicio de proceso de trituración, d) Polvo obtenido de las hojas molidas.

6.2. Obtención del extracto acuoso de *A. muricata* L.

Para la obtención del extracto acuoso se utilizaron 300 gramos del material vegetal molido, éste se colocó en un matraz de fondo redondo de 3000 mL Kimax® y se le agregaron 2000 mL de agua destilada. Posteriormente se llevó a ebullición y la extracción se realizó mediante la técnica de reflujo continuo en una manta de calentamiento Electrothermal® MX durante 30 minutos. Después, el extracto acuoso fue separado del material vegetal por medio de filtración a vacío. Para evitar su contaminación, en espera de su uso, el extracto fue refrigerado. El extracto fue distribuido en placas de cristal para su secado con luz y temperatura ambiente durante 48 horas. Una vez seco, el extracto fue raspado con una navaja Gillette®, obteniendo el extracto en forma de polvo fino. El extracto fue pesado en una balanza de precisión OHAUS® Pioneer^(TM) y posteriormente almacenado en frascos de cristal.

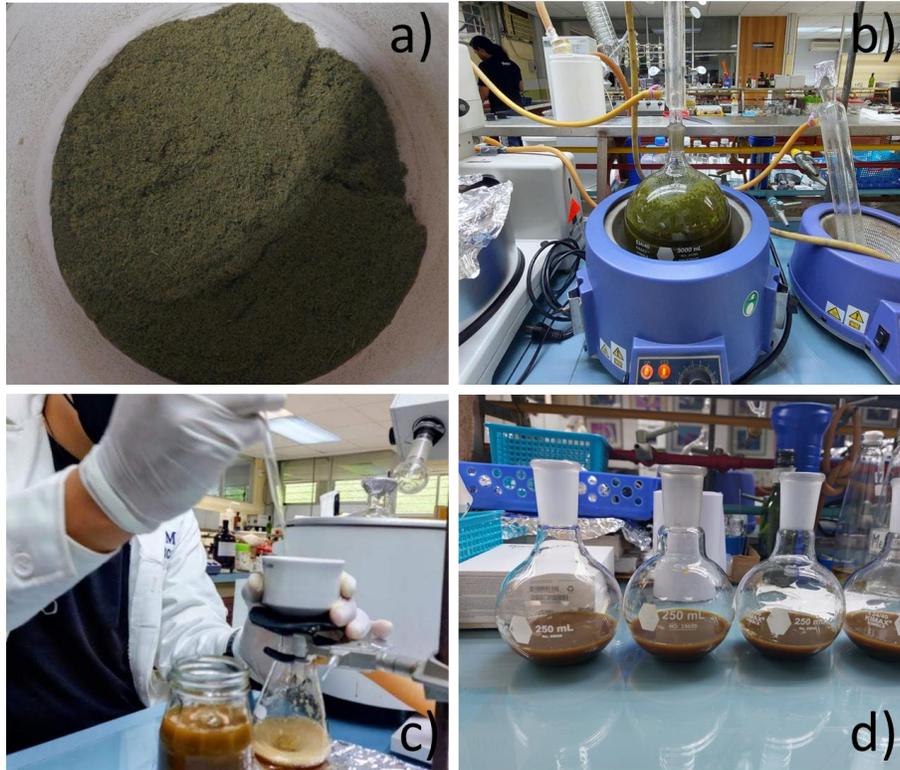


Figura 8. Preparación del extracto acuso *A. muricata* L. a) Hojas molidas, b) Extracción mediante la técnica de reflujo continuo c) filtración al vacío, d) extracto acuso.

6.3. Animales experimentales.

Las ratas de la cepa Wistar (17 machos) fueron proporcionadas por el Laboratorio Multidisciplinario Experimental y Bioterio del Instituto de Ciencias Biológicas de la UNICACH. Los machos pesaban entre 200 y 250 g.



Figura 9. Ratas macho de la cepa Wistar. proporcionados por el Laboratorio Multidisciplinario Experimental y Bioterio.

6.4. Inducción de la diabetes.

La inducción a la diabetes experimental de las 17 ratas se realizó mediante la administración intraperitoneal de 200 mg/kg de aloxano disuelto en un Buffer, constituido por Fosfato de sodio (9 g) y Ácido cítrico (4.8 g) (Figura 10). Los niveles de glucosa en sangre se evaluaron 72 horas después de la aplicación, para ello los animales fueron introducidos en un inmovilizador para realizarles una pequeña incisión con unas tijeras quirúrgicas en la parte distal de la cola, de este corte se obtuvo una gota de sangre y se colocó en una tira reactiva FreeStyle, posteriormente se midió la glucosa con ayuda de un glucómetro Optium Xceed® (Figura 11).



Figura 10. Inducción a la diabetes experimental por medio de inyección intraperitoneal.

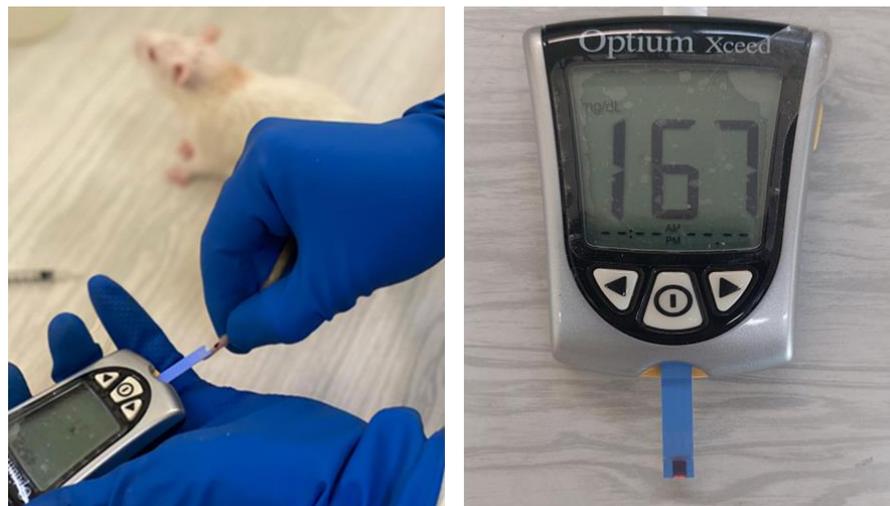


Figura 11. Medición de glucosa en sangre con glucómetro Optium Xceed®.

6.5. Condiciones de laboratorio.

Durante el experimento, los animales se mantuvieron en jaulas dentro del bioterio bajo condiciones de temperatura entre los 24 y 26 °C, con una humedad del 70 %. El mantenimiento de las jaulas se llevó a cabo siguiendo los lineamientos de bioética marcados en la Norma Oficial Mexicana (NOM 062-ZOO-1999).

A las ratas se les proporcionó agua purificada y alimento *ad libitum*, el registro del consumo de agua se realizó cada dos días con una probeta graduada de 250 mL, mientras que el registro del alimento consumido fue cada tercer día. El peso de los animales fue calculado cada ocho días con apoyo de un inmovilizador y una Balanza de precisión Ohaus, Scout Pro®.

6.6. Grupos experimentales

Para la realización del estudio se utilizaron las 17 ratas diabéticas, de las cuales cuatro formaron parte del grupo control, con suministro exclusivo de agua, y 13 ratas constituyeron el grupo que recibió el tratamiento de agua más extracto de hojas de *A. muricata* a una concentración de 200 ml/kg (Cuadro 2).

Cuadro 2. Diseño experimental (n= número de ratas).

Grupos experimentales (diabéticas)	Tratamientos administrados vía oral (ml/kg)	Animales n
Grupo A (Control)	Agua.	4
Grupo B (Experimental)	Agua más extracto acuoso de hoja de <i>A. muricata</i> L. 200 ml/kg	13

6.7. Administración del tratamiento

Antes de la administración del tratamiento se tomó la muestra inicial de sangre de cada rata, cuya medición fue considerada como glucosa cero, posteriormente la medición se realizó cada 14 días durante dos meses. Las lecturas de los niveles de glucosa fueron registradas en una base de datos.

El tratamiento se preparó a una concentración de 200 mg/kg del extracto en polvo diluido en 300 ml de agua, éste se proporcionó en un bebedero cada tercer día de la semana, durante los 60 días que duró la evaluación (Figura 12).



Figura 12. Suministro del extracto acuoso de *A. muricata* L.

6.7.1 Administración del extracto para la curva de tolerancia

Para la realización de la curva de tolerancia a la glucosa, a cada rata del grupo experimental, se le administró por vía oral 0.5 mililitros del extracto a una concentración de 200 mg/kg, utilizando una aguja esofágica calibre 18 G (Figura 13). La aguja se introdujo por la boca hasta el esófago para garantizar la completa administración del extracto, posteriormente se tomaron las muestras de glucosa cada 30 minutos.



Figura 13. Administración del extracto por medio de una aguja esofágica calibre 18 G.

6.8. Análisis de datos

Los datos obtenidos de la glucosa fueron sometidos a las pruebas de normalidad (Shapiro Wilk) y homogeneidad de varianza (Levene), ambos supuestos se cumplieron ($p > 0.05$), por lo que se realizó una prueba paramétrica de ANDEVA, al obtener diferencias significativas ($p < 0.05$), se aplicó una prueba post hoc de Tukey, para saber entre que grupos existen diferencias. De los datos respecto al peso fueron sometidos a la prueba de normalidad ($p < 0.5$), al no cumplir con este supuesto, se realizó una prueba de t-Student. Los análisis se realizaron usando los softwares estadísticos R (versión 4.1.1) y past.

VII. RESULTADOS

7.1. Inducción de ratas Wistar a diabetes experimental

La inducción a diabetes de las ratas del grupo control y experimental fue exitosa. Los animales presentaron valores de glucosa inicial de 60 a 62 mg/dL, mientras que 72 horas después de la inyección con aloxano los valores de glucemia casi se triplicaron (Cuadro 3).

Cuadro 3. Promedio de la glucosa inicial e inducida de los grupos de ratas Wistar.

Grupos	Glucosa Inicial	Glucosa Inducida
Control	62.8 ± 13.2	180 ± 15.7
Experimental	60.1 ± 9.70	172 ± 14.3

Los datos representan las medias ± SD (desviación estándar).

7.2. Obtención del extracto acuoso de hojas de *A. muricata* L.

Con la extracción a través de reflujo continuo se logró obtener 1,300 mL de extracto acuoso el cual, al ser secado y raspado hasta polvo fino, se obtuvo un rendimiento de 545 g (Figura 14).



Figura 14. Extracto cristalizado y pulverizado.

7.3. Incremento (Δ) de peso durante la evaluación de hiperglucemia

Se evaluó el incremento (a la ganancia y/o pérdida) de peso de las ratas analizadas. Al inicio de la evaluación, el peso de los animales fue de 250 g para el grupo control y 242 g para el grupo experimental. En cuanto a las ratas del grupo control, cada semana fueron perdiendo peso, entre los 2 y 7 g, por lo que en la última semana el peso promedio fue de 232 g, mostrando una reducción de peso de 18 g desde su peso inicial hasta su peso en la semana ocho. Sin embargo, esta pérdida de peso no es significativa.

El grupo experimental, al contrario del control, tuvo ganancia de peso a partir de la semana cuatro, pese a una leve baja que tuvieron en la segunda semana. El aumento de peso final fue de 18 g, sin embargo, la ganancia no fue significativa (Figura 15). No se encontraron diferencias significativas ($p= 2.502$) (Cuadro 4) (Figura 15).

Cuadro 4. Promedios de la ganancia o pérdida de peso en las ratas.

Grupos	Semana 0	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semana 8
Control	250 \pm 10.05	248 \pm 8.66	245 \pm 7.79	239 \pm 9.39	232 \pm 6.86
Experimental	242 \pm 51.05	238 \pm 50.03	231 \pm 48.10	250 \pm 48.05	260 \pm 44.10

Los datos representan las medias \pm SD (desviación estándar). ($p= 2.502$, t de Student).

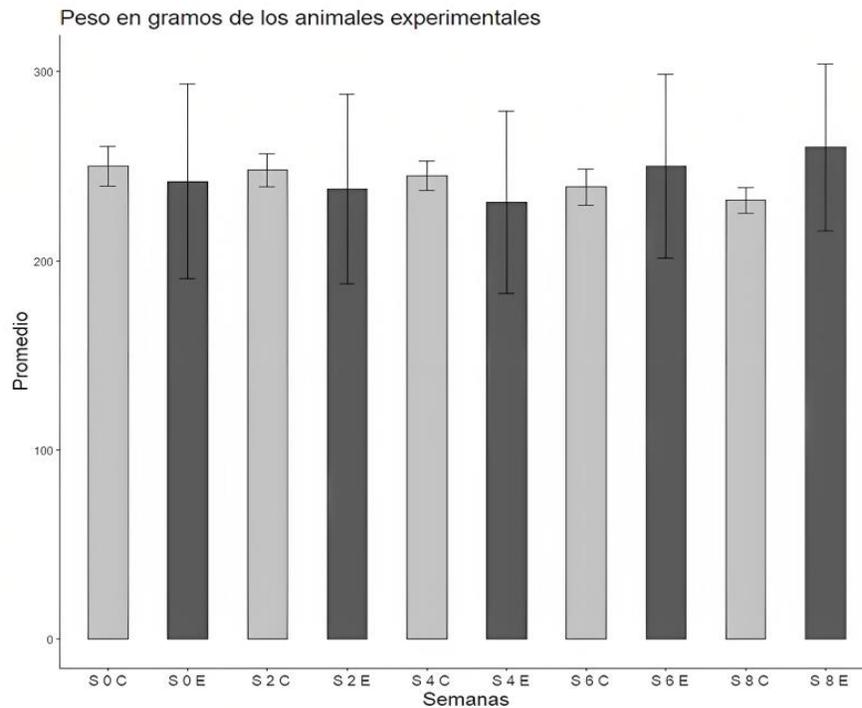


Figura 15. Resultados de la ganancia o pérdida de peso de los animales en la fase experimental. (S0 C) semana cero grupo control, (S0 E) semana cero grupo experimental, (S2 C) semana dos grupo control, (S2 E) semana dos grupo experimental, (S3 C) semana tres grupo control, (S3 E) semana tres grupo experimental, (S4 C) semana cuatro grupo control, (S4 E) semana cuatro grupo experimental, (S5 C) semana cinco grupo control, (S5 E) semana cinco grupo experimental, (S6 C) semana seis grupo control, (S6 E) semana seis grupo experimental, (S7 C) semana siete grupo control, (S7 E) semana siete grupo experimental, (S8 C) semana ocho grupo control, (S8 E) semana ocho grupo experimental.

7.3.1. Consumo de alimento y agua de los animales experimentales

Con el monitoreo de la hidratación y alimentación de las ratas durante las ocho semanas de evaluación se observó algunas variaciones, En cuanto al consumo de alimento, en el grupo control hubo una disminución a partir de la semana cuatro hasta la semana ocho con una diferencia significativa $p= 0.0318$, y en el grupo experimental presentó una disminución en el consumo en la semana cuatro y la seis, aumentando en la última semana de evaluación (Cuadro 5).

Cuadro 5. Promedios del consumo *ad libitum* del alimento (g), medidos en las 8 semanas

Grupos	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semana 8
	Consumido			
Control	549 ± 4.2	532 ± 6.2	519 ± 7.8	495 ± 8.3
Experimental	581 ± 6.1	576 ± 5.3	542 ± 5.9	595 ± 9.5

Los datos representan las medias ± SD (desviación estándar).

Con respecto al consumo de agua, el grupo control, aumentó su consumo promedio (de 1989 mL a 3298 mL (Cuadro 6) de la segunda a la octava semana, mientras que el grupo experimental redujo su consumo de líquidos a partir de la sexta semana, de 1226 mL a 976 mL), reflejando diferencias estadísticamente significativas respecto al consumo de líquido entre el grupo control y experimental (Cuadro 6).

Cuadro 6. Promedios del consumo de agua en mililitros (ml) durante el estudio.

Grupos	Semana 2	Semana 4	Semana 6	Semana 8
	Consumido			
Control	1989 ± 23.5	2115 ± 45.6	3016 ± 45.6	3264 ± 26.4
Experimental	1123 ± 10.5	1264 ± 26.4	1226 ± 3.1	1118 ± 2.2

Los datos representan las medias ± SD (desviación estándar).

7.4 Determinación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso en ratas Wistar con diabetes experimental.

Se obtuvo un valor inicial de glucemia similar de 180 y 185 mg/dL respectivamente, es decir se logró inducir a los animales a diabetes, puesto que los valores obtenidos son superiores a los parámetros establecidos como normales (80 a 100 mg/dL). El grupo control presentó un ligero aumento en el promedio de glucosa al transcurrir 60 días (200 mg/dL) (Figura 16), mientras que el grupo de animales tratados con el extracto de forma oral, presentaron una disminución de la glucosa de 185 mg/dL a 100 mg/dL a partir del día 30, observándose una disminución progresiva a los 45 y 60 días de 70

y 68 mg/dL respectivamente, encontrándose diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p=1.4E^{-05}$) en el periodo de 30 a 60 días (Figura 16).

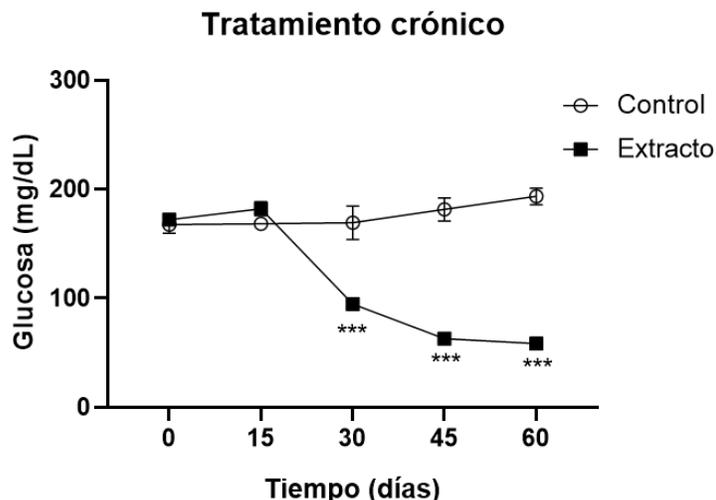


Figura 16. Resultados de los niveles de glucosa a lo largo de 60 días en el grupo control y con el tratamiento (extracto). *** $p=1.4E-05$. ANOVA de doble vía seguido de una prueba post hoc de Tukey.

7.4.1. Curva de tolerancia a la glucosa a los 120 minutos

Al realizar la curva de tolerancia a la glucosa, se observó que el rango valores de la glucosa de los animales que conforman el control (195 a 270 mg/dL) es mayor que el de las ratas a las que se les administró extractos acuosos de hojas de guanábana (100 a 180 mg/dL) desde la administración inicial (minuto 0) hasta los 120 minutos, obteniendo diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos ($p= 2E-16$), durante todo el intervalo de tiempo estudiado (Figura 17). Es decir, el extracto fue efectivo para disminuir los niveles de glucosa hasta el punto de obtener valores dentro del parámetro normal.

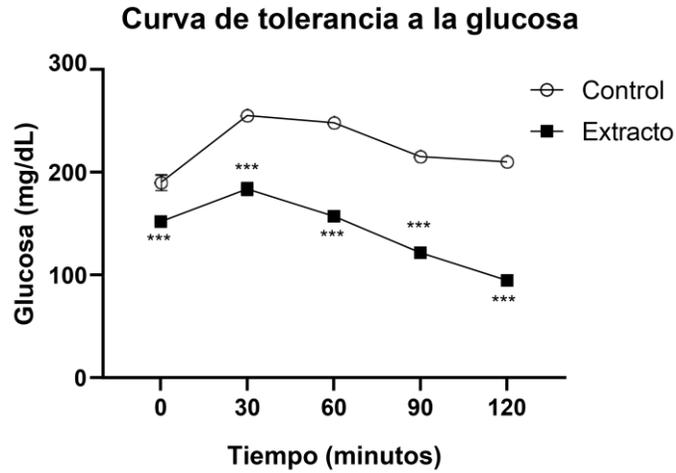


Figura 17. Curva de tolerancia a glucosa, posterior al tratamiento crónico. *** $p= 2E-16$. ANOVA de doble vía seguido de una prueba post hoc de Tukey.

Se obtuvo un área bajo la curva de 980 en el control y de 700 en el grupo experimental al que se le administro el extracto, además al realizar la prueba de *t de Student* se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p= 2E^{-16}$) (Figura 20).

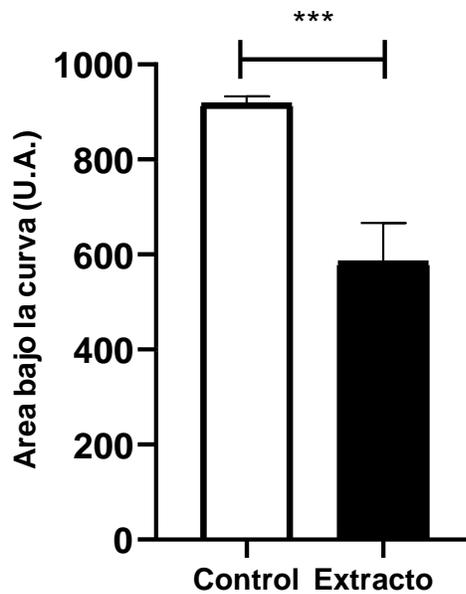


Figura 18. Resultados del área bajo la curva de tolerancia a la glucosa en el grupo experimental y el control (***) $p= 2E^{-16}$, *t de Student*).

VIII. DISCUSIÓN

El uso de animales como modelos experimentales para la investigación de la diabetes ha permitido comprender algunas de las causas y consecuencias, además de obtener alternativas de respuesta en el tratamiento y el control de la enfermedad.

Con el análisis de los resultados se observó variaciones aparentemente variables en la concentración de glucosa en sangre de los animales inducidos con aloxano a una dosis de 200 mg/kg, los cuales presentaron hiperglucemia con un promedio de 172 mg/dL., a las 72 horas después de la aplicación, valores que permitieron provocar diabetes en los animales experimentales. En otros estudios, los niveles de glucosa han sido diferentes a los encontrados en esta investigación, por ejemplo, en el trabajo de Inocente-Camones *et al.*, (2015), los niveles de glucosa en las ratas fueron de 154 mg/dL, mientras que fue mayor a 250 mg/dL., en lo reportado por Palomino-Flores (2007). Estas diferencias pueden deberse a la cantidad de aloxano y al modelo utilizado.

Los parámetros de ganancia de peso, consumo de alimento y agua se encontraron resultados que expresan una respuesta lógica durante la investigación para satisfacer las necesidades de readaptación metabólica en los animales. El peso disminuyó paulatinamente desde la segunda semana en los animales diabéticos del grupo control; Drucker (2007) y Figueroa *et al.* (2013) quienes indican que la disminución de peso es un síntoma característico en animales diabéticos. Similar a los pacientes con diabetes Tipo 2 establecida que presentan una pérdida progresiva de peso corporal.

Linares *et al.* (2017), hace énfasis que la ausencia de insulina impide que la glucosa sea incorporada en las células, lo cual provoca que estas mismas en el organismo utilicen las reservas de lípidos intracelulares del tejido adiposo o proteínas del músculo, provocando la repentina pérdida de peso en el animal. En el grupo experimental también bajaron de peso, pero a la sexta semana de tratamiento con el extracto acuoso nuevamente aumentaron su peso. De acuerdo con la prueba de t de Student, entre los pesos del grupo control y el experimental no se encontraron

diferencias significativas ($p= 2.502$). Esto puede explicarse también que los animales del grupo control fueron disminuyendo el consumo de alimento con respecto al grupo experimental 54 g menos del inicio al final con una diferencia significativa $p= 0.0318$.

En cuanto al consumo de agua, en los animales diabéticos tratados con el extracto de *A. muricata* L., se observó una disminución significativamente en su consumo de líquidos conforme los valores de glicemia en sangre disminuían considerablemente en la sexta y octava semana del tratamiento, caso contrario con las ratas diabéticas del grupo control. Este aumento en la ingesta de líquidos puede deberse al desarrollo de una afección denominada polidipsia o también conocida como diabetes insípida dipsogénica, en la cual se presenta una sed constante. Álvarez-Linares *et al.* (2017) mencionan que esta sintomatología es recurrente en pacientes con diabetes no controlada, que produce un exceso de orina y por lo tanto un aumento en la ingesta de agua.

En las ratas diabéticas del grupo control la concentración de glucosa osciló por arriba de los valores normales de 180 a 270 mg/dL; y en las ratas con la administración del tratamiento del extracto acuoso las lecturas de glucosa en sangre fueron, 30 días después de su aplicación, de 100 mg/dL, encontrándose dentro del rango normal. 60 días después, la glucosa se estableció a 68 mg/dL, ya dentro de los valores normales de glucosa. observándose diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos ($p=1.4E^{-05}$) Estos resultados demuestran el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de hojas de *Annona muricata* L.

Por otra parte, al evaluar la dosis respuesta a los 120 minutos posteriores a la administración vía oral, se obtuvo que la curva de tolerancia a la glucosa sangre tuvo un efecto en las ratas con el tratamiento del extracto de *A. muricata* L., partir de los 90 minutos. El área bajo la curva fue de 980 y 700 en las ratas diabéticas sin tratamiento (control) y las experimentales (extracto acuoso de *A. muricata* L.) respectivamente con una diferencia significativa con un valor de $p= 2E^{-16}$.

Los resultados obtenidos demuestran el efecto hipoglucemiante de las hojas del extracto acuoso de *A. muricata* L., por lo que en un futuro y con más análisis puede ser un potencial fármaco para el control de esta enfermedad.

IX. CONCLUSIONES

- La administración intraperitoneal de 200 mg/kg de aloxano en ratas de la cepa Wistar, fue eficaz, al inducir a los animales a la hiperglucemia (197 mg/dL).
- Con el registro de los parámetros de ganancia de peso, consumo de alimento y agua se encontraron resultados que expresan una respuesta lógica durante la investigación para satisfacer las necesidades de readaptación metabólica en los animales experimentales con tratamiento y sin tratamiento.
- El extracto acuoso de *Annona muricata* L. en dosis de 200 mg/kg tuvo un efecto significativo a partir de los 30 días posteriores a su administración vía oral, presentando valores de glicemia dentro del parámetro normal, evidenciando su eficacia como posible alternativa para el control de diabetes.
- El extracto acuoso de *Annona muricata* L. en dosis de 200 mg/kg, presenta su mayor eficacia a partir de los 90 minutos.

X. RECOMENDACIONES

- Realizar futuras investigaciones con base en el método establecido en este trabajo, implementando diferentes dosis de aloxano así como el uso de otros fármacos, para determinar si existe una concentración que permita la inducción de diabetes antes de las 72 horas.
- Emplear diferentes tipos de extractos (acuosos, etanólicos, etéreos y secos) a diferentes concentraciones y usando diferentes partes de la planta (raíces, tallos, hojas y semillas).
- Extender el periodo del estudio para determinar si el extracto sigue siendo eficaz en el estado crónico de la enfermedad (diabetes).
- Evaluar posibles efectos secundarios.

XI. REFERENCIAS DOCUMENTALES

- Adewole, S. O. y Caxton-Martins, E. A. 2006. Morphological Changes and Hypoglycemic Effects of *Annona Muricata* Linn. (Annonaceae) Leaf Aqueous Extract on Pancreatic B-Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. *African Journal of Biomedical Research*. 9: 173-187.
- Adewole, O. S., y Ojewole, O. J. A. 2009. Efectos protectores de *Annona muricata* linn. (Annonaceae) extracto acuoso de hoja sobre perfiles de lípidos séricos y estrés oxidativo en hepatocitos de ratas diabéticas tratadas con estreptozotocina. *Revista Africana de Medicinas Tradicionales, Complementarias y Alternativas*. 6(1): 30-41.
- Andrade-Cetto, A. y Heinrich, M. 2005. Mexican plants with hypoglycaemic effect used in the treatment of diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*. 99: 325-348.
- Ahalya, B., Shankar, K. y Kiranmayi, G. 2014. Exploration of anti-hyperglycemic and hypolipidemic activities of ethanolic extract of *Annona muricata* bark in alloxan induced diabetic rats. *Revista Internacional de Revisión e Investigación de Ciencias Farmacéuticas*. 25(2): 21-27.
- Almaguer-Herrera, A., Miguel-Soca, P. E., Reynaldo-Será, C., Mariño-Soler, A. L. y Oliveros-Guerra, R. C. 2012. Actualización sobre diabetes mellitus. *Correo Científico Médico*. 16(2): 1-16.
- Alonso, G., Cruz, R., Santos, F., Ramírez, M., Ruiz Sandoval, M., y Iglesias, J. 1995. Zonificación sísmica de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez, Universidad Autónoma de Chiapas, Universidad Metropolitana, México, D.F.
- Álvarez-Linares, B., Ávila-Ramos, F. y López-Briones, S. 2017. Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en perros. *Abanico veterinario*. 7(1): 53-67.
- Aranda-Ventura, J. y Rosario-Mego, J. V. 2016. Efecto hipoglicemiante de los extractos de *Tabebuia obscura* (Tahuari oscuro) sobre ratas con diabetes mellitus experimental. *Revista peruana de medicina integrativa*. 1(1): 19-24.

- Aranda-Ventura, J., Villacrés, J., Mego, R., & Delgado, H. 2014. Efecto de los extractos de *Geranium ayavacense* W. (Pasuchaca) sobre la glicemia en ratas con diabetes mellitus experimental. *Revista peruana de medicina experimental y salud pública*. 31: 261-266.
- Argueta, V.A., Cano, A.L. y Rodarte, M.E. (Coord). 1994. Atlas plantas medicinales. Instituto Nacional Indigenista (Edit). México.
- Arias-Díaz, J. y Balibrea, J. 2007. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*. 22(2): 160-168.
- Arroyo, J., Prashad, M., Vásquez, Y., Li, E., y Tomás, G. 2005. Actividad citotóxica *in vitro* de la mezcla de *Annona muricata* y *Krameria lappacea* sobre células cancerosas de glándula mamaria, pulmón y sistema nervioso central. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 22(4): 247-253.
- Arroyo, J., Martínez, J., Ronceros, G., Palomino, R., Villarreal, A., Bonilla, P., Palomino, C. y Quino, M. 2009. Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L (guanábana), en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de glibenclamida. UNMSM. Facultad de Medicina. *In Anales de la Facultad de Medicina*. 70(3): 163-167.
- Barquilla-García, A. 2017. Actualización breve en diabetes para médicos de atención primaria. *Revista Española de Sanidad Penitenciaria*. 19(2): 57-65.
- Basurto, S. D., Lorenzana, J. M. y Magos, G. G. A. 2006. Utilidad del nopal para el control de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 2. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM*. 49(4): 157-161.
- Bellamy, L., Casas, J. P., Hingorani, A. D., y Williams, D. 2009. Type 2 diabetes mellitus after gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*. 373(9677): 1773-1779.
- Bequer, L., Gómez, T., Molina, J. L., López, F., Gómez, C. L. y Clapés, S. 2014. Inducción de hiperglucemias moderadas en ratas wistar por inoculación

neonatal de estreptozotocina. ¿Inyección subcutánea o intraperitoneal?
Revista argentina de endocrinología y metabolismo. 51(4): 178-184.

Botas-Velasco, M., Cervell-Rodríguez, D., Rodríguez-Montalbán, A. I., Vicente-Jiménez, S. y Fernández de Valderrama Martínez, I. 2016. Actualización en el diagnóstico, tratamiento y prevención de la neuropatía diabética periférica. *Angiología*. 69(3): 174-181.

Bracamonte, M. Y. 2018. Efecto de la concentración del extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) sobre su actividad hipoglicemiante. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica. Lima, Perú.

Cabedo, N., Moreno, L., López, S., Marín, P., Párraga, J. y Cortes, D. 2011. Las anonáceas: fuente de inspiración para la obtención de nuevos medicamentos. En: González Esquinca, A. R., Luna Cazares, L. M., Gutiérrez Jiménez, J., Schlie Guzmán, M. A. y Vidal López, D. G. (Editores). Anonáceas: Plantas antiguas, estudios recientes. Editorial Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. México. Pp. 37-60.

Cabrera, L. A. 2023. Comparación del efecto hipoglucemiante de los extractos etanólicos de las hojas de *Annona muricata* L. (Guanábana) y de *manguifera indica* (Mango) en hiperglucemia inducida en animales de experimentación. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Medicina. Universidad César Vallejo (Perú). Trujillo, Perú.

Castro-Juárez. C. J., Villa-Ruano. N., Ramírez-García. S. A., y Mosso-González. C. 2014. Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico oaxaqueño. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 19(1): 101-120.

Castro-Retana, J. J. 2007. Cultivo de la anona (*Annona cherimola*, Mill). Ministerio de Agricultura y Ganadería. San José, Costa Rica, Pp. 18.

Chica Jama, K. B. y Robalino Salazar, B. S. 2017. Comparación del efecto hipoglucemiante de la infusión a base de hojas de higo y de guanábana, en pacientes con diabetes mellitus tipo II, de 40 a 80 años de edad, que asisten a

ASVOLH en la ciudad de Guayaquil. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador. 88 pp.

Claypool, M. D. y Entes, L. J. 2009. Experimental rodent models of type 2 diabetes: a review. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*. 31(4): 249-26.

CONABIO. 2006. *Species Plantarum* 1. México. http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/5-annon2m.pdf. Consultado el 14 de Julio de 2022.

Cortes, D. 2007. Farmacoquímica natural. Editorial Moliner. Valencia, España.

Cruz-Abascal, R. E., Fuentes-Febles, O., Gutiérrez-Simón, O., Garay-Padrón, R., y Águila-Moya, O. 2011. Nefropatía diabética en pacientes diabéticos tipo 2. *Revista Cubana de Medicina*. 50(1): 29-39.

DeFronzo, R. A. 2004. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *Medical clinics*. 88(4): 787-835.

De-la-Cruz-Chacon, I., Castro-Moreno, M., Luna-Cázares, L. C., y González-Esquinca, A. R. 2016. 2016La familia Annonaceae Juss. En México. *Revista Lacandonia*. 10(2): 73-86.

Drucker, D. J. 2007. The role of gut hormones in glucose homeostasis. *The Journal of clinical investigation*. 117(1): 24-32.

Entes, L. J., Claypool, M. D., Pinkett, J. G., Gadbois, T. M. y Reaven, G. M. 2000. A new rat model of type 2 diabetes: the fat-fed, streptozotocin-treated rat. *Metabolism Clinical and Experimental*. 49(11): 1390-1394.

Estrada-Reyes, R., Parra-Delgado, H. y Martínez-Vázquez, M. 2011. Metabolitos secundarios aislados de algunas especies del género *Annona* como fuente de potenciales fármacos. En: González Esquinca, A. R., Luna Cazares, L. M., Gutiérrez Jiménez, J., Schlie Guzmán, M. A. y Vidal López, D. G. (Editores).

- Anonáceas: Plantas antiguas, estudios recientes. Editorial Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. México. Pp. 61-77.
- Fernández-Saavedra, G., Jardón-Delgado Ángel y Figueroa-Hernández, J. L. 2006. Modelos experimentales utilizados para el estudio e investigación de la diabetes mellitus. 2º Congreso Nacional de Química Médica. Querétaro, México.
- Figueroa, G. C., Pérez, I. H. y Mejía, R. Z. 2013. Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia de Córdoba*. 18: 3699-3707.
- Fleitas-Estevez, A. S., Simón-Carballo, R., Almeida-Carralero, G., Quintela-Pena, A. M. y Alfonso-Valiente, M. A. 2000. Modelo experimental de diabetes en conejos. *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vascul*. 1(1): 10-15.
- Florence, N. T., Benoit, M. Z., Jonas, K, Alexandra T., Désiré, D. D. P., Pierre K. y Théophile, D. 2014. Antidiabetic and antioxidant effects of *Annona muricata* (Annonaceae), aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 151(2): 784-790.
- Flórez-Londoño, Y., y Martínez-Muñoz, E. 2010. Obtención y evaluación de extractos bioactivos presentes en semillas de *Annona muricata* de la región cafetera. Tesis de Licenciatura. Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira. Pereira, Colombia. 76 pp.
- García-García, C. 2008. Diabetes mellitus gestacional. *Medicina interna de México*. 24(2): 148-156.
- Garrido-Calvo, A. M., Cía-Blasco, P. y Pinós-Laborda, P. J. 2003. El pie diabético. *Medicina Integral*. 41(1): 8-17.
- Gaviria-Calle, M. M., posada-Arias, S. y Mira-Hernández, J. 2018. Acetogeninas, alternativa en el tratamiento de cáncer en caninos. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 13(2): 157-172.

- Giraldo-Bardalama, L. J. 2014. Efecto del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana* ("Aguaymanto") sobre la glucemia en animales de experimentación. Tesis de Maestría. Facultad De Farmacia Y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú.
- Gobierno del estado de Chiapas. Región I - metropolitana. https://www.ceieg.chiapas.gob.mx/productos/files/MASTEMREG/REGION_I_METROPOLITANA_post.pdf. Consultado el 14 de septiembre de 2022.
- Gómez, C. A. 2014. Actividad biológica de *Cedrela odorata* L. (Meliaceae) e identificación de sus metabolitos secundarios. Tesis de Licenciatura. Instituto de Ciencias Biológicas. Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas. Tuxtla Gutiérrez, Chiapas. 79 pp.
- González, E. 2002. Diabetes mellitus experimental: etiología de las malformaciones congénitas en descendientes de ratas diabéticas. *Revista Cubana de Endocrinología*. 13(1): 3-63.
- González-Madariaga, Y., Castillo-Alfonso, O., Llerena-Bernal, T., Alfonso-Perdomo, O., De la Barca-Barrera, M. y González-Machado, Y. 2015. Síndrome metabólico en ratas Wistar inducido por dieta rica en sacarosa. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 49(3): 301-309.
- Guariguata, L., Whiting, D. R., Hambleton, I., Beagley, J., Linnenkamp, U. y Shaw, J. E. 2014. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 103(2): 137-49.
- Hernández, P. 2020. Extractos de plantas de *Annona muricata* L, y *Tagetes erecta* L, para control biológico en larvas de *Aedes aegypti* L. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Huejutla. Municipio de Huejutla. Hidalgo, México. 93 pp.
- Hugues-Hernandorena, B., Rodríguez-González, J. C. y Rodríguez-García, J. C. 2001. Animales de laboratorio en la endocrinología: Biomodelos de la diabetes mellitus tipo 1. *Revista Cubana de Endocrinología*. 12(3): 168-177.

- Hugués-Hernandorena, B., Rodríguez-García, J. C., Rodríguez-González, J. C. y Marrero-Rodríguez, M. T. 2002. Animales de experimentación como modelos de la diabetes mellitus tipo 2. *Revista Cubana de Endocrinología*. 13(2): 160-168.
- Institute for Health Metrics and Evaluation. 2019. Analysis for the Global Burden of Disease (GBD) Compare. Both sexes, all ages. <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>. Consultado el 21 de agosto de 2022.
- Integrated Taxonomic Information System (ITIS). s.f. *Annona muricata* L. https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=18098#null. Consultado el 13 de abril del 2022.
- Inocente-Camones, M. A., Guija-Poma, E., Zarzosa-Norabuena, E., Loja-Herrera, B. y Ponce-Pardo, J. E. 2015. Efecto hipoglicemiante de los extractos acuoso y etanólico de *Psidium guajava* L. (Guayaba) en ratas diabéticas inducidas por aloxano. *Horizonte Médico (Lima)*. 15(2): 41-48.
- Jiménez-Zurita, J. O., Balois-Morales, R., Alia-Tejacal, I., Juárez-López, P., Jiménez-Ruiz, E. I., Sumaya-Martínez, M. T. y Bello-Lara, J. E. 2017. Tópicos del manejo poscosecha del fruto de guanábana (*Annona muricata* L.). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8(5): 1155-1167.
- Justil, G. C., Angulo, P., Arroyo, A. J. y Justil, G. H. 2015. Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en ratas con diabetes inducida por aloxano. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 26(2): 206-212.
- Kaleem, M., Asif, M., Ahmed, Q. U. y Bano, B. 2006. Antidiabetic and antioxidant activity of *Annona squamosa* extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Singapore Medical Journal*. 47(8): 670-675.
- Lachin, T., y Reza, H. 2012. Anti diabetic effect of cherries in alloxan induced diabetic rats. *Recent Patents on Endocrine, Metabolic and Immune Drug Discovery*. 6(1): 67-72.

- Lázaro-Carrasco, H. I. 2017. Complicaciones crónicas de la diabetes mellitus tipo 2. Trabajo Fin de Grado. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid. España. 20 pp.
- López, L. T. 2006. Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante. Características, administración y efectos adversos. *Offarm: farmacia y sociedad*. 25(5): 82-88.
- Martínez, M. 1969. Plantas medicinales de México. 5 ed. Ediciones Botas. México
- McCulloch, D. K. y Robertson, R. P. s/f. Risk factors for type 2 diabetes mellitus. UpToDate. <http://www.uptodate.com/contents/risk-factors-for-type-2-diabetes-mellitus>. Consultado el 25 de abril de 2022.
- Mediavilla-Bravo, J. J. 2001. Complicaciones de la diabetes mellitus. Diagnóstico y tratamiento. *SEMERGEN*. 27(3): 132-145.
- Moghadamtousi, S. Z., Fadaeinasab, M., Nikzad, S., Mohan, G., Ali, H. M. y Kadir, H. A. 2015. *Annona muricata* (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 16(7): 15625-15658.
- Moñivas-Palomero, C., García-López, P., Arias-Sanz, P., Izquierdo-Hernández, A., López-Carrizosa, C. y Guijarro-Sánchez, D. 2015. Estudio experimental para la valoración de la cicatrización ósea con Ácido Zoledrónico en ratas Wistar. *Sanidad Militar*. 71(4): 232-238.
- Moreno-Cortés, M. L., Gutiérrez-García, A. G. y Contreras, C. M. 2020. ¿Los protocolos experimentales son un símil real de la diabetes humana? *CienciaUAT*. 14(2): 51-61.
- Naranjo-Hernández Y. 2016. La diabetes mellitus: un reto para la Salud Pública. *Revista Finlay*. 6: 1-3.
- Opara, P. O., Enemor, V. H. A., Eneh, F. U. y Emengaha, F. C. 2021. Blood Glucose—Lowering Potentials of *Annona muricata* Leaf Extract in Alloxan—Induced Diabetic Rats. *European Journal of Biology and Biotechnology*. 2(2): 106-113.

- Ordóñez-Ruiz, J., Auvinet-Guichard, G. y Juárez-Camarena, M. 2015. Caracterización del subsuelo y análisis de riesgos geotécnicos asociados a las arcillas expansivas de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez. *Ingeniería, investigación y tecnología*. 16(3): 453-470.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). 2021. Diabetes. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>. Consultado el 10 de febrero de 2022.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2021. Diabetes. <https://www.paho.org/es/temas/diabetes>. Consultado el 19 de febrero de 2022.
- Ortiz-Septián, G. y Campos-Ortiz, S. s.f. Propiedades curativas de las hojas de guanábana (*Annona muricata*) y su impacto potencial fármaco-industrial. Facultad de Ciencias Biológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. 1-12 pp.
- Osuna, T. L., Tapia, P. M. E. y Aguilar C. A. 2005. Plantas medicinales de la medicina tradicional Mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: Estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Publicacions I. Edicions de la Universitat de Barcelona.
- Palomino-Flores, C. M. 2007. Efecto del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* L. (Guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. Tesis de Maestría. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima, Perú. 44 pp.
- Palomino-Flores, C. y Arroyo-Acevedo, J. 2017. Efecto del extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) sobre síndrome metabólico inducido en ratas. *Revista Peruana de Medicina Integrativa*. 2(1): 30-37.
- Paulweber, B., Valensi, P., Lindstrom, J., Lalic, N. M., Greaves, C. J., McKee, M., y Yilmaz, T. 2010. A European evidence-based guideline for the prevention of type 2 diabetes. *Hormone and Metabolic research*. 42(1): 3-36.

- Pérez, O., Saba, T., Padrón, M. A., y Molina, V. R. 2012. Diabetes mellitus gestacional. *Revista Venezolana de Endocrinología y metabolismo*. 10: 22-33.
- Pinto, A. D. Q., Cordeiro, M. C. R., De Andrade, S. R. M., Ferreira, F. R., Filgueiras, H. D. C., Alves, R. E. y Kinpara, D. I. 2005. Annona species. Centro Internacional de Cultivos Infrutilizados, Universidad de Southampton, Southampton, Reino Unido. Pp. 6-7.
- RedGDPS, 2018. Diagnóstico y clasificación de diabetes. https://www.redgdps.org/gestor/upload/colecciones/11_guiadm2_capGuia%20DM2_web.pdf. Consultado el 05 de marzo del 2021.
- Ríos, L. J., Schinella, R. G. y Francini, F. 2016. Productos naturales para el tratamiento de la diabetes (II): Ensayos clínicos. *Revista de Fitoterapia*. 16(2): 49-55.
- Rodríguez, H. G. R. y Méndez, J. D. 1994. Diabetes mellitus experimental. *Ciencia Veterinaria*, México. 6: 347-377.
- Rojas, De P. E., Molina, R. y Rodríguez, C. 2012. Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*. 10(1): 7-12.
- Rondón, B. J. E. 2011. Variables psicosociales implicadas en el mantenimiento y control de la diabetes mellitus: Aspectos conceptuales, investigaciones y hallazgos. *Revista Electrónica de Psicología Iztacala*. 14(2): 126-162.
- Sánchez-Martínez, B., Vega-Falcón, V., Gómez-Martínez, N. y Vilema-Vizueté, G. E. 2020. Estudio de casos y controles sobre factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en adultos mayores. *Revista Universidad y Sociedad*. 12(4): 156-164.
- Seguro Social de Salud (SSS). 2013. La guanábana es una aliada en la lucha contra el cáncer y la diabetes, asevera EsSalud. <http://www.essalud.gob.pe/la-guanabana-es-una-aliada-en-la-lucha-contra-el-cancer-y-la-diabetes-asevera-essalud/>. Consultado el 27 de abril de 2022.

- Shyam, K. y Kadalmani, B. 2014. Antidiabetic Activity of *Bruguiera cylindrica* (Linn.) Leaf in Alloxan Induced Diabetic Rats. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*. 1(1): 56-60.
- Sociedad Española de Productos Húmicos. 2010. Cultivo de la guanábana, recomendaciones para solucionar problemas de floración, cuajado y aborto de flores.
https://www.interempresas.net/FeriaVirtual/Catalogos_y_documentos/81972/046---11.05.10---Cultivo-de-la-Guana--769-bana.pdf. Consultado el 20 de abril del 2022.
- Solikhah, T. I. y Solikhah, G. P. Effect of *Muntingia calabura* L. 2021. Leaf Extract on Blood Glucose Levels and Body Weight of Alloxan-Induced Diabetic Mice. *Pharmacognosy Journal*. 13(6): 1450-1455.
- Szkudelski, T. 2001. The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of rat páncreas. *Physiological Research*. 50(6): 537-546.
- Velasco, D. F. 2018. Efecto de los extractos etanólicos de dos especies de anonáceas sobre los parámetros biológicos de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) del cultivo de babaco (*Vasconcellea heilbornii*) *in vitro*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 64 pp.