

Congreso Cubafarmacia 2012

Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa

EFFECTO HIPOGLUCÉMICO DE PLANTAS ANTIDIABÉTICAS Y SU INFLUENCIA SOBRE LA EXPRESIÓN DE PPAR- γ EN ADIPOCITOS

Autores: Dr. Julio César Almanza-Perez^I, B.E. Cristina Hernández Cruz^{II}, B.E. José Sánchez Baltazar^{III}, M. en B.E. Vladimir Hernández Rosado^{IV}, Dr. Rubén Román-Ramos^V, Dr. Francisco Javier Alarcon-Aguilar^{VI}.

^IDoctor en Biología Experimental. Profesor titular. Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. México D.F., México.

^{II}Biologa Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. México D.F., México.

^{III}Biologo Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. México D.F., México.

^{IV}Master en Biología Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. México D.F., México.

^VDoctor on Philosophy (Ph.D) in Medicine. Endocrinólogo. Profesor titular. Universidad Autónoma Metropolitana–Iztapalapa. México D.F., México.

^{VI}Doctor en Ciencias Biológicas. Profesor titular. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. México D.F., México.

Autor de Correspondencia

J.C. Almanza-Perez: S. Rafael Atlixco186, Col. Vicentina. Iztapalapa, P.O. 09340., México D.F. Tel.: +52 55 58046483. Fax: +52 55 58044727.

E-mail: jcap@xanum.uam.mx

Resumen

Objetivo: evaluar la expresión del receptor activado por el proliferador de peroxisomas tipo gamma (PPAR- γ), en adipocitos tratados con *Ibervillea sonora*, *Musa ensete*, *Lepechinia caulescens* y *Catharanthus roseus*.

Métodos: ratones sanos de la cepa CD-1 fueron tratados vía intragástrica por 15 días con el extracto acuoso de cada una de las plantas mencionadas a dosis de 200 mg/kg. Así mismo, se formaron 7 grupos de cultivos celulares de adipocitos 3T3-L1 y se trataron con el extracto acuoso de cada planta (100 μ g/ml) por 24 h. Al finalizar el tratamiento se extrajo el RNA y se realizó la cuantificación de la expresión de PPAR- γ y GLUT-4 mediante RT-PCR en tiempo real. Resultados: los extractos de *I. sonora*, *M. ensete* y *C. roseus* tienen efecto hipoglucémico, tanto en ratones sanos como en ratones con diabetes experimental; el extracto de *L. caulescens* no presentó dicho efecto. Por otro lado, el tratamiento con *I. sonora* produjo un aumento significativo en los niveles de expresión de PPAR- γ , tanto en ratones como en el cultivo de adipocitos, mientras que *L. caulescens* sólo lo produjo en el modelo animal. Esto refleja el gran potencial terapéutico que poseen dichas plantas, ya que este receptor promueve la respuesta antiinflamatoria del adipocito, además de que regula el metabolismo de la glucosa por aumento en la sensibilización de la insulina. Así mismo, *I. sonora* produjo un incremento significativo de GLUT-4, lo cual refleja la capacidad de esta planta para regular el metabolismo de la glucosa. Conclusión: estos datos permiten proponer a ambas plantas como fuentes potenciales para la obtención de nuevos agonistas de PPAR- γ , así como para el desarrollo de nuevos fitomedicamentos con actividad sensibilizadora de los receptores de insulina.

Palabras clave: *Ibervillea sonora*, *Musa ensete*, *Lepechinia caulescens*, *Catharanthus roseus*, *Diabetes mellitus*, *Plantas antidiabéticas*, PPAR- γ .

Abstract

Aim. To evaluate the expression of activated receptor gamma peroxisome proliferator-type (PPAR- γ) in adipocytes treated with *Ibervillea sonora*, *Musa ensete*, *Lepechinia caulescens* and *Catharanthus roseus*. **Methods.** Healthy mice of strain CD-1 were intra-gastrically treated for 15 days with the aqueous extract of each of the plants specified at doses of 200 mg/kg. In addition, 7 groups of 3T3-L1 adipocytes cell cultures were treated with the aqueous extract of each plant (100 μ g/ml) for 24 h. After treatment the RNA was extracted and the quantification of the expression of PPAR- γ and GLUT-4 by RT-PCR in real time was performed. **Results.** The extracts of *I. sonora*, *M. ensete* and *C. roseus* showed hypoglycemic effect in both healthy and experimental diabetes mice; the extract of *L. caulescens* did not show this effect. On the other hand, treatment with *I. sonora* increased the levels of expression of PPAR- γ , both in mice and in adipocytes cell culture, whereas that in the animal model this only occurred with exposition to *L. caulescens*. These plants exhibit a great therapeutic potential to modulate the adipocyte inflammatory response and increasing insulin sensitivity. Interesting, *I. sonora* significantly increased GLUT-4, indicating a great potential to regulate glucose metabolism. **Conclusion.** *I. sonora* and *L. caulescens* may be propose as potential sources for obtaining new PPAR- γ agonists and for the development of new phyto-medicines with insulin-sensitizers properties.

Keywords. *Ibervillea sonora*, *Musa ensete*, *Lepechinia caulescens*, *Catharanthus roseus*, *Diabetes mellitus*, anti-diabetic plants, PPAR- γ .

Introducción

La diabetes mellitus (DM) es una de las enfermedades más importantes a nivel mundial. En México ocupa el primer sitio de morbilidad y mortalidad.¹ Se trata de un grupo de enfermedades metabólicas caracterizado por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas, como consecuencia de defectos en la producción y/o acción de la insulina.²⁻⁴ Así mismo, la DM provoca el desarrollo de complicaciones vasculares agudas y crónicas, tales como cetoacidosis, coma hiperosmolar, macro y microangiopatías, e infecciones recurrentes. Estas complicaciones son las principales causas de invalidez y mortalidad de los pacientes con DM.⁵

En relación con la terapia farmacológica, aparte de la insulina que es el fármaco hipoglucemiante más efectivo, existen también fármacos con efecto hipoglucemiante o antihiper glucémico que se administran por vía oral, como: sulfonilureas, que estimulan el páncreas a producir más insulina; biguanidas, que disminuyen la cantidad de glucosa producida por hígado; inhibidores de las alfa-glucosidasa, que actúan haciendo más lenta la absorción de los almidones ingeridos; las incretinas, que inhiben a la enzima DPP encargada de degradar secretagogos endógenos, alargando su efecto; y las tiazolidinedionas, que promueven la producción de transportadores de glucosa.⁶⁻⁷ Las tiazolidinedionas (también llamadas glitazonas o sensibilizadores de insulina); actúan aumentando la sensibilidad a la insulina sin afectar la secreción de la misma; específicamente se unen a los PPARs (receptores activadores del factor proliferador de peroxisomas), los cuales actúan como factores de transcripción que regulan la expresión de genes determinantes en el

metabolismo de carbohidratos y lipoproteínas. Uno de los receptores más importantes es el PPAR- γ , el cual, además de promover la transcripción de los transportadores de glucosa tipo 4 (GLUT-4), se encarga de promover la transcripción de moléculas que regulan la adipogénesis y la lipogénesis, como es el caso de adiponectina (AdipoQ) y la enzima ácido graso síntasa (AS).^{3,8} Esto lleva a un aumento en los transportadores GLUT-4 y un aumento en el contenido de ácidos grasos en el adipocito, que a su vez se traduce en un descenso en los niveles de VDL y triglicéridos. A nivel hepático también se produce un aumento en los transportadores de glucosa, lo cual ocasiona que se inhiba la gluconeogénesis hepática. En músculo esquelético y músculo cardíaco producen efectos similares ya que incrementan la captación de glucosa por las proteínas transportadoras GLUT-1 y GLUT-4. En los últimos años, se le ha dado una gran importancia a este grupo de fármacos, ya que por el mecanismo de acción que poseen permiten una mejora considerable aun cuando la insulina se encuentre abatida. En particular, PPAR- γ se ha propuesto como modelo de estudio para la obtención de nuevos agentes capaces de mejorar la sensibilidad a la insulina.⁹ En este sentido, las plantas medicinales representan una fuente interesante de nuevos agentes agonistas de PPAR- γ . Según datos de la Organización Mundial de la Salud, más del 70% de la población mundial tiene que recurrir a la medicina tradicional, como única alternativa a su alcance para resolver sus principales problemas de salud. En México se utilizan alrededor de 270 plantas en el control de la diabetes mellitus, entre las cuales se encuentran *Ibervillea sonorae*, *Lepechinia caulescens*, *Catharanthus roseus* y *Musa ensete*. Estas especies han mostrado efecto hipoglucémico en diversos modelos experimentales, sin embargo, aún

no se ha evaluado su potencial como agonistas de PPAR- γ . El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de cuatro plantas antidiabéticas sobre la expresión del RNAm de PPAR- γ y GLUT-4 *in vivo* (en adipocitos de ratón) e *in vitro* (en la línea 3T3-L1).

Métodos

Material vegetal.

La raíz de *Ibervillea sonorae* se colectó en el poblado de Carbó en el estado de Sonora, México. Las semillas de *Musa ensete* fueron obtenidas en el municipio de Uruapan en el estado de Morelos, México. Las flores de *Cataranthus roseus* y *Lepechinia caluscens* fueron obtenidas en la Ciudad de México. La identificación taxonómica de las especies se realizó por medio del cotejo de ejemplares (Herbario-IMSSM, Herbario-MEXU y Herbario-UAMI).

Obtención de los extractos

Para la obtención de los extractos se realizó una maceración de las especies vegetales, liofilizando el producto resultante. Para ello se utilizó la metodología reportada en estudios previos.¹⁰⁻¹¹

Material biológico.

Se usaron ratones *Mus musculus*, cepa CD-1, machos (30-35 g), del bioterio de la UAM Iztapalapa, mantenidos con una dieta básica para roedores y ciclo de luz/oscuridad por 12 horas. Así mismo, se emplearon células de la línea 3T3-L1 adquiridas en ATCC, y diferenciados a adipocitos, mantenidos a 37°C y 5% de CO₂, bajo 90% de humedad.

Evaluación del efecto hipoglucémico de los extractos vegetales.

Para evaluar el efecto hipoglucémico de los extractos obtenidos se formaron 6 grupos de 5 animales por grupo de ratones normoglucémicos y ratones con

diabetes experimental por la administración de STZ. Bajo condiciones de ayuno: el grupo 1 recibió 4 ml/kg de solución salina isotónica; el grupo 2 recibió pioglitazona a dosis de 135 mg/kg, fungiendo como control positivo, del grupo 3 al 6 recibieron 200 mg /kg de los extractos a evaluar, por vía intragástrica, y se monitorearon las concentraciones de glucosa en sangre en el minuto 0, 120, 240 y 360 después de haber dado los tratamientos. Posteriormente se realizó un estudio similar, modificando las dosis de los extractos a una dosis de 400 mg/kg. Después se realizó un estudio similar, administrando los extractos vegetales a dosis de 400 mg/kg pero en animales con diabetes experimental. Una vez corroborado el efecto hipoglucémico de los extractos, se continuó con el estudio *in vivo* e *in vitro*.

Evaluación de los extractos en ratones.

Se formaron 6 grupos (con una n de 10 animales para cada grupo) para el ensayo biológico: el grupo 1 recibió 4 ml/kg de solución salina isotónica (el cual fungió como control normoglucémico); el grupo 2 recibió pioglitazona (135 mg/kg); el grupo 3 recibió *Ibervillea sonorea* 400 mg/kg; el grupo 4 fue tratado con *Musa ensete* a 400 mg/kg; el grupo 5 recibió 400 mg/kg de *Catharanthus roseus*; el grupo 6 fue tratado con 400 mg/kg de *Lepechinia caulescens*. La administración fue hecha por vía intragástrica durante 15 días. Al finalizar el tratamiento los animales se sacrificaron y se obtuvieron muestras de tejido adiposo (TA) para posteriormente extraer el RNA total y llevar a cabo la cuantificación de la expresión de PPAR- γ y GLUT-4.

Evaluación de los extractos en adipocitos de la línea 3T3-L1.

Los adipocitos se diferenciaron a partir de fibroblastos precursores conocidos como preadipocitos. Los fibroblastos de la línea 3T3-L1 de ratón se cultivaron a

confluencia a 37° C con atmósfera de 5% de CO₂ en placas de cultivo con medio DMEM (“Dulbecco’s modified Eagle’s medium”) (8 X 10⁵ células por pozo), con glucosa 25.5 mM, piruvato de sodio 1 mM, glutamina 2 mM, aminoácidos no esenciales (0.1mM), gentamicina, complementado con 10% de suero fetal bovino. Dos días después de la confluencia (día 0), la diferenciación de fibroblastos a adipocitos fue inducida con metilhidroxibutilxantina (MIX, 0.5 mM), dexametasona (DX, 0.25 µM) e insulina (5 µg/ml) en DMEM con 10% de suero fetal bovino. Al segundo día se cambió el medio adicionado con insulina (5 µg/ml), sin MIX, sin DX y se mantuvo por dos días más. A partir del cuarto día, el medio sin suplemento de insulina se reemplazó cada dos días. Las células fueron usadas para experimentación los días 0 y 8 de diferenciación, en este último, más del 95% de las células expresaron el fenotipo de adipocitos, presentando una forma circular-oval con depósitos de grasa en forma de pequeñas vacuolas y en las que está reportado que el transporte de glucosa mediado por insulina es el máximo.¹² En ese momento, las células fueron tratadas con el extracto correspondiente por 24 h; al finalizar este tiempo, se extrajo el RNA y llevó a cabo la cuantificación de la expresión de PPAR-γ y GLUT-4.

Evaluación de la expresión del RNAm de PPAR-γ y GLUT-4.

La reacción de transcripción en reversa (RT) se llevó a cabo para sintetizar DNA complementario (cDNA) a partir de RNA, mediante la reacción catalizada por la enzima transcriptasa reversa ImProm II a partir de 2 µg de RNA total. Un volumen total de 20 µl de reacción se incubó en el termociclador con el siguiente programa de ciclos: inicio 25° C por 5 min, seguido por la extensión a 42° C por 55 min y, por último, se detuvo la reacción inactivando la enzima

calentando a 70° C por 15 min y enfriando a 4° C por 5 min. El cDNA se amplificó mediante la enzima DNA polimerasa del kit de "DNA master plus SYBR Green 1" para cada uno de los genes: PPAR- γ y GLUT-4. El proceso se llevó a cabo empleando la tecnología SYBR Green. Se siguió un programa de amplificación para SYBR Green con un primer segmento de 10 min a 95° C para la preincubación de la enzima, un segundo segmento de amplificación constituido por 35 ó 40 ciclos y cada ciclo constituido por una desnaturalización de 95° C por 10 seg a una rampa térmica de 20° C por seg; un alineamiento a 61° C por 7 seg a una rampa térmica de 20° C por seg; una amplificación a 72° C por 10 seg a una rampa térmica de 20° C por seg. La adquisición de la fluorescencia se realizó de manera sencilla al terminar este ciclo de PCR. Los iniciadores fueron los siguientes: PPAR- γ (F-CCAGAGTCTGCTGATCTGCG , R-GCCACCTCTTTGCTCTGCTC), GLUT-4 (F-GATTCTGCTGCCCTTCTGTC, R-ATTGGACGCTCTCTCTCCAA); y como gen de normalización 36B4 (F-AAGCGCGTCCTGGCATTGTCT, R-CCGCAGGGGCAGCAGTGTT). Se realizó un programa por el análisis de temperatura de fusión (melting) para verificar la amplificación específica. Posteriormente se verificó la especificidad de los productos del PCR mediante el corrimiento de los productos de amplificación por electroforesis en geles de agarosa al 2%, teñidos con bromuro de etidio.

Tinción con rojo oleoso.

Los fibroblastos 3T3-L1 se cultivaron en cajas de 12 pozos y se trataron con los extractos correspondientes para evaluar la diferenciación. Las células se tiñeron al finalizar el proceso de diferenciación. Para ello, se eliminó el medio de cultivo y las células se lavaron dos veces con 1 ml de PBS estéril y frío, se

adicionaron 200 µl de solución de rojo oleoso (rojo oleoso al 0.5% en isopropanol al 60%) y se incubaron a temperatura ambiente por 20 minutos. Enseguida se lavaron con PBS y se observaron al microscopio. Se obtuvieron fotografías de las diferentes tinciones celulares.

Análisis estadístico.

Los resultados se analizaron mediante un análisis de varianza (ANOVA), utilizando la prueba complementaria de Duncan para evaluar las diferencias entre los grupos. La significancia estadística fue del 95%, con una $P < 0.05$.

Resultados

Evaluación del efecto hipoglucémico. Los extractos de *M. ensete*, *I. sonorae* y *C. roseus* mostraron efecto hipoglucémico en animales normoglucémicos a dosis de 400 mg/kg (Tabla 1), mientras que a dosis de 200 mg/kg sólo se observó una ligera tendencia a disminuir las glucemias (datos no mostrados). Por su parte el extracto de *L. caulescens* no produjo efecto hipoglucémico en los ratones normoglucémicos en ninguna de las dosis evaluadas (Tabla 1). Por otro lado, la administración de los extractos de *I. sonorea* y *C. roseus* (400mg/kg) a ratones con diabetes experimental, produjeron descenso significativo en los niveles de glucosa, sin embargo el efecto hipoglucémico registrado en ratones normoglucémicos por parte de *M. ensete* se perdió en este modelo experimental, mientras que *L. caulesen* sólo produjo un ligero descenso, no significativo, en los niveles de glucosa (Tabla 2).

Evaluación de la expresión de PPAR-γ en adipocitos y ratones tratados con los extractos vegetales. Adipocitos de la línea 3T3-L1 fueron tratados por 24 h con los extractos vegetales. El tratamiento con *I. sonorae* y *L. culesens* produjo un incremento significativo en los niveles de expresión de este receptor en el

cultivo de adipocitos, al igual que el control positivo utilizado, que fue la pioglitazona. El resto de los extractos vegetales no produjeron ningún cambio significativo (Figura 1A). Por otro lado, el tratamiento con *I. sonoreae* a ratones sanos de la cepa CD-1 produjo un incremento significativo en los niveles de expresión de PPAR- γ en tejido adiposo (Figura 1B).

Efecto de los extractos vegetales sobre los niveles de expresión de GLUT-4. El tratamiento con el extracto de *I. sonoreae* a células de la línea 3T3-L1 diferenciadas a adipocitos, produjo un incremento significativo en los niveles de expresión del RNAm del GLUT-4. Sin embargo, el resto de los extractos vegetales no produjeron cambios significativos en los niveles de expresión de esta molécula (Figura 2A). Así mismo, el tratamiento con el extracto de *I. sonoreae* a ratones de la cepa CD-1 incrementaron significativamente los niveles de expresión de GLUT-4 en el tejido adiposo, mientras que el resto de los extractos no produjo ningún cambio importante en los niveles de expresión de este receptor (Figura 2B).

Influencia de los extractos vegetales sobre la adipogénesis. La línea celular 3T3-L1 fue tratada con los extractos para evaluar la adipogénesis mediante la tinción con rojo oleoso. En la Figura 3 se muestra el cultivo de fibroblastos (A), así como el cultivo de adipocitos (B). El tratamiento con pioglitazona produjo un incremento en la diferenciación celular y por tanto en la adipogénesis, evidenciado mediante la tinción con rojo oleoso (C). Por otra parte, únicamente el extracto de *I. sonoreae* produjo un ligero aumento en la adipogénesis, ya que se observó incremento en la tinción con rojo oleoso.

Discusión

Durante el desarrollo de la humanidad las plantas medicinales han representado una alternativa muy importante para el tratamiento de diversas enfermedades.¹³ Sin embargo, en muchas de estas plantas el conocimiento que se tiene sobre su uso sólo es empírico y aún se desconocen sus modos y mecanismos de acción. Tal es el caso de *M. enesete*, conocida popularmente como platanillo, de la cual sólo se cuenta con información etnobotánica de su uso para el tratamiento de la DM. En el presente estudio se observó que el tratamiento con el extracto acuoso de *M. enesete* tiene efecto hipoglucémico en animales normoglucémicos. Sin embargo, cuando tal extracto se administró a ratones diabéticos, no se observó efecto hipoglucémico. Por su parte, *C. roseus* e *I. sonorae* son especies vegetales que cuentan con reportes científicos sobre sus actividad hipoglucemiante,^{11,14-17} aunque aún se desconocen sus modos de acción. En el presente estudio ambas especies mostraron efecto hipoglucémico, tanto en ratones normoglucémicos como hiperglucémicos, lo cual refleja su potencial terapéutico en el control de la DM. Para avanzar en el estudio de sus modos de acción, se planteó evaluar el efecto de los extractos vegetales sobre moléculas importantes en el adipocito, en particular sobre el proceso de adipogénesis. La adipogénesis es regulada por el receptor activado por el proliferador de peroxisomas tipo gamma (PPAR- γ). La activación de este receptor promueve la transcripción de transportadores de glucosa, así como de adiponectina (AdipoQ) y de la enzima ácido graso sintasa (AS). Esto lleva a un aumento en los transportadores de glucosa (GLUT-1 y GLUT-4) y del contenido de ácidos grasos en el adipocito, lo que a su vez se traduce en un descenso en los niveles de VLDL y triglicéridos.¹⁸⁻²¹ A

nivel hepático también se produce un aumento en los transportadores de glucosa, lo cual ocasiona que se inhiba la gluconeogénesis hepática. El tratamiento con *I. sonorae* a ratones sanos de la cepa CD-1 y a adipocitos de la línea 3T3-L1 produjo un incremento significativo en los niveles de expresión de PPAR- γ . Este hecho se puede correlacionar con el efecto hipoglucémico que mostró esta planta tanto en animales sanos como diabéticos, ya que el extracto de *I. sonorae* también produjo un incremento significativo en los niveles de expresión de GLUT-4 en ambos modelos de experimentación. Por lo tanto, es probable que el extracto de *I. sonorae* contenga moléculas agonistas del receptor PPAR- γ que promuevan la activación del mismo y, como consecuencia, la producción de transportadores de glucosa y disminución en los niveles de glucosa. Una de estas moléculas pueden ser alguno de los ácidos grasos que contiene *I. sonorae*, dentro de los que se destaca el ácido oleico, ácido palmítico, ácido esteárico y ácido margárico.²² Para evaluar si el extracto de *I. sonorae* contiene agonistas de PPAR- γ , células de la línea 3T3-L1 se sometieron a un tratamiento crónico con el extracto de esta planta y se evaluó el proceso de adipogénesis mediante la tinción con rojo oleoso, la cual es selectiva para teñir vesículas que contengan ácidos grasos. Se observó que el extracto de *I. sonorae* promueve ligeramente la diferenciación de algunas células a adipocitos. Por lo tanto, el extracto de *I. sonorae* puede contener agonistas de PPAR- γ que promueven su activación y, como consecuencia, la producción de diversas moléculas, entre las que se puede destacar al GLUT-4, mejorando así las concentraciones de glucosa. Aunado a esto, el tratamiento con *I. sonorae* puede mejorar el perfil proinflamatorio característico de la DM, ya que los agonistas de PPAR- γ inhiben la expresión del factor de necrosis

tumoral alfa (TNF- α) en el tejido adiposo de ratones obesos y disminuye la resistencia a la insulina inducida por esta citocina proinflamatoria.¹⁸ Por otro lado, *L. caulecens* sólo produjo un incremento significativo en los niveles de expresión de PPAR- γ en adipocitos, sin producir modificaciones importantes en la expresión de GLUT-4. Es probable que esta especie vegetal influya más en el metabolismo de lípidos que en el metabolismo de carbohidratos, lo cual permite proponer futuras investigaciones para esclarecer este fenómeno. Estos resultados permiten concluir que *I. sonorae* representa una fuente potencial para la obtención de nuevos agonistas de PPAR- γ , así como para el desarrollo de nuevos fitomedicamentos con actividad sensibilizadora de los receptores de insulina.

Agradecimientos

Nosotros agradecemos a la Universidad Autónoma Metropolitana (posgrado en Biología Experimental), así como al Programa de Mejoramiento del profesorado SEP-PROMEPE por el apoyo otorgado al Dr. Julio César Almanza-Pérez. Se extiende un agradecimiento especial al Fondo para la Dra. María del Carmen Escobar Villanueva, Dra. Elizabeth Hernández Pérez, M en BE. Angeles Fortis Barrera por la asesoría técnica brindada.

Referencias bibliográficas

1. FMD. Federación Mexicana de Diabetes. www.fmdiabetes.com. (Fecha de consulta: 18/Febrero/2011).
2. Hu FB, van Dam RM, S. Diet and risk of Type 2 diabetes: the role of types of fat and carbohydrate. *Diabetologia*. 2001; 44:805-17.
3. Tahrani AA, Piya MK, Kennedy A, Bammet AH. Glycemic control in type 2 diabetes: Targets and new therapies. *Pharmacol Ther*. 2010; 125: 328-61.
4. Federación Internacional de Diabetes. www.idf.org. (Fecha de consulta: febrero/ 2012).
5. Nathan DM. Long-term complication of diabetes mellitus. *New Eng J Med*. 1993; 328:1676-85.
6. Committee Report. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20:1183-98.
7. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. International Diabetes Federation: a consensus on type 2 diabetes prevention. *Diabetes Med*. 2007; 24:451-63.
8. Dunn FL, Higgins LS, Fredrickson J, DePaoli AM. Selective modulation of PPAR γ activity can lower plasma glucose without typical thiazolidinedione side-effects in patients with Type 2 diabetes. *J Diabetes and Complica*. 2011; 25:151-8.
9. Xu Me, Xia SZ, Sun YH, Ou Yang Y, Guan C, Zheng XX. A preadipocyte differentiation assay as a method for screening potential anti-type II diabetes drugs from herbal extracts. *Plan Med*. 2006; 72:14-9.
10. Alarcon-Aguilar FJ, Roman-Ramos R, Jimenez-Estrada M, Reyes-Chilpa R, Gonzalez-Paredes B, Flores-Saenz JL. Effects of three Mexican medicinal

- plants (Asteraceae) on blood glucose levels in healthy mice and rabbits. *J Ethnopharmacol.* 1997; 55:171-7.
11. Hernández-Galicia E, Calzada F, Román-Ramos R, Alarcón-Aguilar FJ. Monoglycerides and fatty acids from *Ibervillea sonora* root: Isolation and hypoglycemic activity. *Planta Med.* 2007; 73:1-5.
 12. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Adiponectin gene expression is inhibited by beta-adrenergic stimulation via protein kinase A in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett.* 2001;507:142-6.
 13. Aguilar CA, Xolalpa MS. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia.* 2002;1:24-35.
 14. Alarcon-Aguilar FJ, Campos-Sepulveda AE, Xolalpa-Molina S, Hernández-Galicia E, Román-Ramos R. Hypoglycaemic activity of *Ibervillea sonora* roots in healthy and diabetic mice and rats. *Pharm Biol.* 2002;40:570-5.
 15. Alarcon-Aguilar FJ, Calzada-Bermejo F, Hernández-Galicia E, Ruiz-Ángeles C, Román-Ramos R. Acute and chronic hypoglycemic effect of *Ibervillea sonora* roots extracts-II. *J Ethnopharmacol.* 2005; 97:447-52.
 16. Islam MA, Akhtar MA, Khan MR, Hossain MS, Alam AH, Ibne-Wahed MI, Amran MS, Rahman BM, Ahmed M. Oral glucose tolerance test (OGTT) in normal control and glucose induced hyperglycemic rats with *Coccinia cordifolia* L. and *Catharanthus roseus* L. *Pak J Pharm Sci.* 2009;22:402-4.
 17. Ahmed AU, Ferdous AH, Saha SK, Nahar S, Awal MA, Parvin F. Hypoglycemic effect of *Catharanthus roseus* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Mymensingh Med J.* 2007; 16:143-8.
 18. Berger J, Moller DE. The mechanisms of action PPARs. *Ann Rev Med.* 2002; 53:409–35.

19. Gegick CG, Alltheimer MD. Comparison of effects of thiazolidinediones on cardiovascular risk factors: observations from a clinical practice. *Endocr Pract.* 2001; 7:169.
20. Lebovitz HE, Banerji MA. Insulin resistance and its treatment by thiazolidinediones. *Rec Prog Horm Res.* 2001;56; 265-94.
21. Mudaliar S, Henry RR. New oral therapies for type 2 diabetes mellitus: The glitazones or insulin sensitizers. *Ann Rev Med.* 2001; 53:239-57.
22. Alarcón Aguilar Francisco Javier, Pérez Gutiérrez María Salud, Verde Calvo José Ramón, Zavala Sánchez Miguel Angel, Jasso Villagómez Edgar Iván, Sánchez Villavicencio Mayra Luz, Almanza Pérez Julio Cesar, Román Ramos Rubén. Efecto hipoglucémico y contenido de ácidos grasos en tubérculos de *Ibervillea sonora* colectados a lo largo del año. *Anuario de investigación en etnomedicina, medicinas complementarias y utilización de plantas medicinales.* UAM-I 2009; 69-74.

Tabla 1. Efecto de los extractos vegetales sobre las concentraciones de glucosa en sangre de ratones normoglucemicos

	Tiempo (minutos)			
	T0	T120	T240	T360
CONTROL	91 ± 19.79	97 ± 32.52	96 ± 32.52	82.5 ± 20.50
<i>I. sonora</i>	96 ± 16.66	75 ± 12.85	21 ± 10.03	11 ± 13.50 *#
<i>M. ensete</i>	88 ± 9.92	129 ± 26.23	68 ± 11.36	57 ± 10.23 *#
<i>L. cualescens</i>	77 ± 19.48	201 ± 56.39	92 ± 15.07	76 ± 9.20
<i>C. roseus</i>	85 ± 18.63	96 ± 14.34	83 ± 10.47	65 ± 19.21 *#
PIOGLITAZONA	80 ± 5.56	83 ± 27.43	66 ± 15.80	63.5 ± 4.99 *#

dif. significativa con respecto al tiempo inicial (p< 0.05)

n=5

Media ± S.E.M.

* dif. significativa con respecto al control (p< 0.05)

Tabla 2. Efecto de los extractos vegetales sobre las concentraciones de glucosa en sangre de ratones diabéticos por SZT

	Tiempo (minutos)			
	T0	T120	T240	T360
CONTROL	467.4 ±39.7	467.8 ±29.2	446.2 ± 59.8	426.6 ±60.31
<i>I. sonora</i>	584 ±16	544.5 ± 47.8	532 ± 58.1	440.2± 11.9#
<i>M. ensete</i>	593.7 ± 6.2	592 ± 8	594.5 ± 5.5	600 ± 0
<i>L. cualescens</i>	492.2 ± 87	587.5± 12.5	531.2 ± 30.8	451.5± 46.9
<i>C. roseus</i>	582 ± 18	573.6 ± 26.3	518.3 ± 42.3	495 ± 59.7#
PIOGLITAZONA	435 ± 34.3	499.8 ± 45.8	362.4 ± 44.1	319.2 ± 46.2#*

dif. significativa con respecto al tiempo inicial (p< 0.05) n=5
 Media ± S.E.M.
 * dif. significativa con respecto al control (p< 0.05)

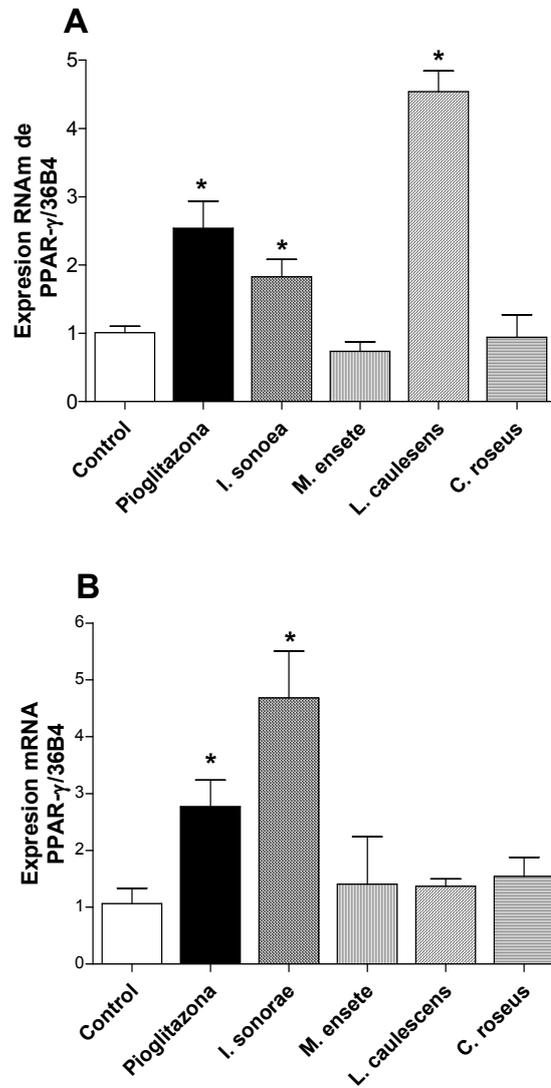


Figura 1. Niveles de expresión del RNAm de GLUT -4 en adipocitos de la línea 3T3-L1 (A) y en tejido adiposo de ratones sanos (B) tratados con 100 µg/ml de los extractos vegetales. Media + S.E.M. * Diferencia significativa con respecto al control (p<0.05).

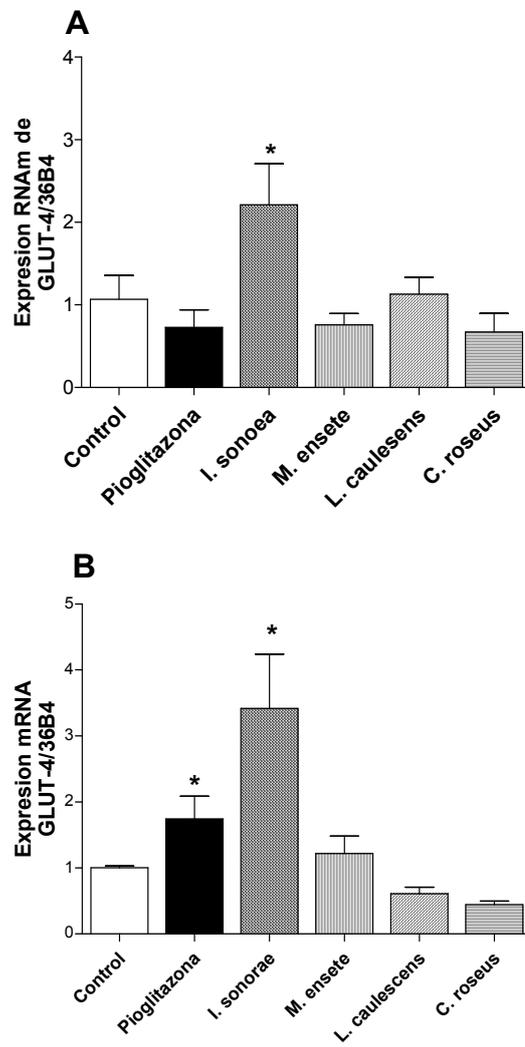


Figura 2. Niveles de expresión del RNAm de PPAR- γ en adipocitos de la línea 3T3-L1 (A) y en tejido adiposo de ratones sanos (B) tratados con 100 $\mu\text{g/ml}$ de los extractos vegetales. Media + S.E.M. * Diferencia significativa con respecto al control ($p < 0.05$).

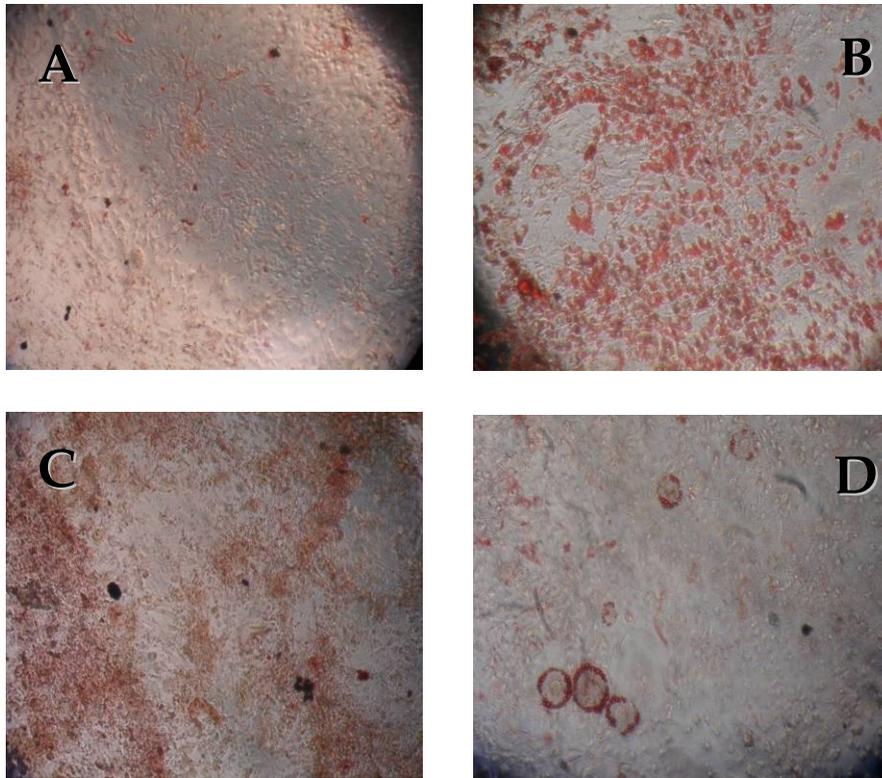


Figura 3. Tinción con rojo oleoso de las células 3T3-L1 en estado de fibroblastos (A), en estado de adipocito maduro (B), bajo el tratamiento con un agonista de PPAR- γ , pioglitazona (C), y bajo el tratamiento con 100 $\mu\text{g/ml}$ del extracto de *I. sonorae* (D).