



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



Facultad  
de Farmacia  
Conocimiento al servicio de la salud

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS**

FACULTAD DE FARMACIA

“ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**TESIS PROFESIONAL**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN FARMACIA**

P R E S E N T A:

**L.F. HUGO MARQUINA RODRÍGUEZ**

**CODIRECTORES**

Dr. SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO

Dr. RAFAEL VILLALOBOS MOLINA

**CUERNAVACA, MORELOS**

**mayo, 2022**



“ESTUDIOS ANTIDIABETICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE  
*Ludwigia octovalvis* en modelos murinos”



“Antes de ser un buen profesional, hay que ser un buen ser humano”

“Si lo puedes soñar, lo puedes lograr”

## AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Farmacia por facilitarme el uso de sus instalaciones.

A CONACyT por la beca de maestría proporcionada con número 761152

A CONACyT por el apoyo con el proyecto de ciencia básica # A1-S-13540

Al jurado revisor de Tesis Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez, Dra. Dea Herrera Ruiz, Dr. Julio Cesar Almanza Pérez, Dra. Vanessa López Guerrero y Dr. Samuel Enoch Estrada Soto.

Al Dr. Samuel Enoch Estrada Soto y al Dr. Rafael Villalobos Molina por los consejos, el apoyo, confianza brindada para la realización del presente proyecto.

A la Dra. Angélica Flores Flores del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) por la realización de las placas histológicas del ensayo toxicológico.

Al Dr. Rogelio Hernández Pando del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por la interpretación y estudio de las placas histológicas.

Al Dr. Luis Arias Durán por el apoyo y enseñanzas para la realización del ensayo antihipertensivo *in vivo*.

Al M.F. Emmanuel Gaona Tovar por el apoyo y asesoría en la realización del ensayo *in vitro*.

## DEDICATORIAS

A Dios, por permitirme culminar un logro más en mi vida académica.

A mis amigos de laboratorio, quienes me apoyaron e hicieron más amenos los días en el laboratorio a Paulina, Omara, Erandi, Marlen, Julia, Gaona, Armando, Diana, Monse, Kenia, Kata, Kati, Luis, Martín, Wilson.

A mi novia y compañera de vida, por el apoyo incondicional que me ha brindado.

A mi familia, quienes son el pilar de mi vida, gracias por apoyarme en todo momento y por estar siempre pendiente de mí.

## ÍNDICE

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS .....	0
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1. ABSTRACT.....	3
2. ANTECEDENTES.....	5
2.1 Endotelio muscular.....	8
2.1.1 Funciones del endotelio .....	8
2.1.1.2 Óxido nítrico (NO) .....	10
2.1.1.3 Contracción del músculo liso vascular .....	11
2.1.1.4 Relajación del músculo liso vascular.....	12
2.1.1.5 Presión arterial .....	13
2.1.1.5.1 Control humoral de la presión arterial .....	14
2.1.1.5.2 Mecanismos de regulación nerviosa de la presión arterial.....	15
2.1.1.6 Hipertensión.....	15
2.2.1 Clasificación de la hipertensión arterial sistémica.....	16
2.2.2 Sintomatología de la hipertensión.....	16
2.2.3 Diagnóstico de la hipertensión arterial .....	17
2.2.4 Tratamiento.....	18
2.2.4.1 Tratamiento no farmacológico.....	19
2.2.4.2 Tratamiento farmacológico.....	20
2.2 Factores de riesgo y enfermedades concomitantes.....	24
2.3. Diabetes.....	24

2.3.1 Clasificación de la diabetes.....	24
2.3.2 Sintomatología de la diabetes .....	26
2.3.3 Diagnóstico de la diabetes .....	26
2.3.4 Tratamiento de la diabetes.....	28
2.3.4.1 Tratamiento no farmacológico.....	29
2.3.4.2 Tratamiento farmacológico.....	29
2.4 Importancia de la medicina tradicional .....	33
2.4.1 <i>Ludwigia octovalvis</i> .....	34
2.4.2 Antecedentes del género <i>Ludwigia</i> .....	35
2.4.3 Antecedentes etnomédicos de <i>Ludwigia octovalvis</i> .....	35
2.4.4 Antecedentes fitoquímicos de <i>Ludwigia octovalvis</i> .....	35
2.4.5 Antecedentes farmacológicos de <i>Ludwigia octovalvis</i> .....	36
2.4.6 Antecedentes toxicológicos de <i>Ludwigia octovalvis</i> .....	37
3. JUSTIFICACIÓN.....	38
4. HIPÓTESIS.....	40
5. OBJETIVOS.....	42
5.1 Objetivo general .....	43
5.2 Objetivos específicos .....	43
6. METODOLOGÍA .....	44
6.1 Recolección de la materia vegetal .....	45
6.2 Secado y molienda del material vegetal.....	45
6.3 Obtención de los extractos orgánicos .....	45
6.5 Uso y manejo de animales de experimentación.....	45
6.6 Reactivos .....	46

6.7 Determinación del efecto vasorrelajante de los extractos orgánicos de <i>L. octovalvis</i> en un modelo <i>ex vivo</i> .....	46
6.7.1 Obtención de la aorta de rata.....	47
6.7.2 Sistema para determinar el efecto vasorrelajante .....	47
6.7.3 Evaluación del efecto vasorrelajante.....	47
6.7.4 Determinación del mecanismo de acción sobre aorta aislada de rata del extracto más activo (EHLo).....	48
6.7.5. Participación de los canales de calcio en contracciones inducidas por CaCl <sub>2</sub> y KCl .....	49
6.7.8 Participación de los receptores α1-adrenérgicos .....	50
6.8 Determinación del efecto antihipertensivo agudo no invasivo en ratas SHR 51	
6.9. Determinación del efecto antihiper glucémico <i>in vivo</i> en ratas.....	51
6.9.1 Curvas de tolerancia a glucosa y a sacarosa.....	52
6.10 Determinación del efecto antidiabético agudo.....	52
6.10.1 Diabetización.....	52
6.10.2 Evaluación antidiabética .....	53
6.11 Evaluación toxicológica.....	53
6.12 Determinación del efecto toxicológico agudo <i>in vivo</i> de EHLo.....	54
6.12. Determinación del efecto toxicológico subcrónico <i>in vivo</i> de EHLo.....	54
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	56
7.1 Evaluación del efecto relajante en aorta .....	57
7.2 Participación de los receptores α1-adrenérgicos. ....	58
7.3 Participación de los canales de calcio en contracciones inducidas por KCl y CaCl <sub>2</sub> .....	60

7.4 Ensayo antihipertensivo <i>in vivo</i> .....	62
7.5 Curva de tolerancia a la glucosa .....	65
7.6 Curva de tolerancia a la sacarosa .....	66
7.8 Determinación del efecto toxicológico agudo <i>in vivo</i> del EHLo .....	68
7.9 Determinación del efecto toxicológico subcrónico <i>in vivo</i> del EHLo .....	69
7.9.1 Variación de peso de los animales .....	69
7.9.2 Variación de peso de órganos .....	70
7.9.3 Histología de los órganos extraídos .....	71
7.9.4 Perfil bioquímico de la sangre extraída .....	74
8 CONCLUSIONES .....	77
9 PERSPECTIVAS .....	79
10.REFERENCIAS .....	81

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1.</b> Sustancias producidas por el endotelio (Modificado de <b>Su, 2013</b> ). .....	9
<b>Tabla 2.</b> Criterios de clasificación de la presión arterial .....	16
<b>Tabla 3.</b> Criterios de diagnóstico para la hipertensión arterial .....	18
<b>Tabla 4.</b> Recomendaciones del tratamiento no farmacológico (Modificado de <b>Gijón, 2018</b> ). .....	19
<b>Tabla 5.</b> Fármacos de primera elección para el tratamiento de la hipertensión arterial (Modificado de <b>IMSS, 2017</b> ). .....	20
<b>Tabla 6.</b> Antidiabéticos orales .....	30
<b>Tabla 7.</b> Categorías de peligro de toxicidad aguda por ingestión (modificado de <b>SGA, 2015</b> ). .....	68

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Generación del NO (Tomada de <b>Centelles, 2004</b> ).....	10
<b>Figura 2.</b> Proceso de contracción del músculo liso vascular. ....	11
<b>Figura 3.</b> Proceso de relajación del tejido muscular vascular (Tomado de <b>Gallego, 2016</b> ).....	13
<b>Figura 4</b> Síntomas de la diabetes (Modificado de la <b>ADA, 2018</b> ).....	26
<b>Figura 5.</b> Criterios para el diagnóstico de prediabetes ( <b>Tomado de ADA, 2019</b> ). 27	
<b>Figura 6.</b> Criterios para el diagnóstico de la diabetes ( <b>Tomado de ADA, 2019</b> )..	27
<b>Figura 7.</b> Algoritmo diagnóstico de diabetes. Tomada de ( <b>SEMERGEN, 2016</b> )... 28	
<b>Figura 8.</b> <i>Ludwigia octovalvis</i> . Tomada de: Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana.....	34
<b>Figura 9.</b> Compuestos aislados del extracto hidroalcohólico de <i>L. octovalvis</i> . ....	36
<b>Figura 10.</b> Evaluación del efecto vasorrelajante sobre aorta aislada de rata. ....	48
<b>Figura 11.</b> Determinación de la participación de canales de calcio en contracciones inducidas por KCl [80mM]. ....	49
<b>Figura 12.</b> Determinación de la participación de canales de calcio en contracciones inducidas por CaCl <sub>2</sub> .....	50
<b>Figura 13.</b> Determinación de receptores $\alpha$ 1-adrenérgicos en anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ....	51
<b>Figura 14.</b> Toxicidad oral aguda evaluada siguiendo las pautas modificadas de la prueba de la OCDE (OCDE, 2001). ....	53

## Índice de Gráficas

- Gráfico 1.** Efecto vasorrelajante de los extractos obtenidos de *L. octovalvis* sobre aorta aislada de rata. EHLo vs EDLo, EMLo, EHiLo (\* $p < 0.05$ ). ..... 58
- Gráfica 2.** Efecto de la  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo sobre la contracción inducida por noradrenalina sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *pos hoc* Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  control noradrenalina vs. NA +  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo..... 59
- Gráfico 3.** Efecto de la  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo en la contracción inducida por  $\text{CaCl}_2$  sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *pos hoc* Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  control  $\text{CaCl}_2$  vs.  $\text{CaCl}_2$  +  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo..... 61
- Gráfico 4.** Efecto de la  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo en la contracción inducida por KCl sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *pos hoc* Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  control Nifedipina vs. KCl +  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo ..... 62
- Gráfico 5.** Curva de tolerancia a la glucosa en ratas normoglucémicas del EDLo (100 mg/kg), vehículo (tween 80 al 10%, 0.1 mL) y glibenclamida (10 mg/kg), administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto (\* $p < 0.05$ ). ..... 65
- Gráfico 6.** Curva de tolerancia a la sacarosa en ratas normoglucémicas del EDLo (132 mg/kg), vehículo (tween 80 al 10%, 0.1 mL) y acarbosa (10 mg/kg), administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto (\* $p < 0.05$ ). ..... 66
- Gráfico 7.** Determinación del efecto antidiabético del extracto diclorometano de *L. octovalvis* (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida (10 mg/kg), administrados vía intragástrica, vehículo vs EHiLo (\* $p < 0.05$ ). ..... 67
- Gráfico 8.** Variación de peso de peso de los ratones durante el estudio subcrónico administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto vs. agua (\* $p < 0.05$ ). ..... 70

<b>Gráfico 9.</b> Variación de peso de los órganos aislados de ratones CD-1 .....	71
<b>Gráfico 10.</b> Perfil lipídico de ratones CD-1. ....	75
<b>Gráfico 11.</b> Perfil hepático de ratones CD-1.....	76

## Abreviaturas y formulas

ACC	American College of Cardiology
ADA	American Diabetes Association
ADP	Adenosina Difosfato
AHA	American Heart Association
Hb1Ac	Hemoglobina glicosilada
AMPc	Adenosina Monofosfato cíclico
AMPK	Proteína Cinasa Activada por Monofosfato de Adenina
ALT	Alanina Aminotransferasa
ALP	Fosfatasa Alcalina
ARA II	Antagonistas de los Receptores de Angiotensina II
AST	Aspartato Aminotransferasa
ATP	Adenosina Trifosfato
Ca <sup>2+</sup>	Calcio
CaCl <sub>2</sub>	Cloruro de Calcio
CCF	Cromatografía de Capa Fina
CCR	Curva de Concentración-Respuesta

CE	Célula Endotelial
CIQ-UAEM	Centro de Investigaciones Químicas de la UAEM
cGMP	Monofosfato de Guanosina Cíclico
GTP	Trifosfato de guanosina
cm	Centímetros
COFEPRIS	Comisión Federal de Protección Contra el Riesgo Sanitario
DDTA	Determinación Domiciliaria de la Tensión Arterial
DENID	Diabetes Experimental No Insulino Dependiente
DG	Diacilglicerol
DG	Diabetes Gestacional
DL <sub>50</sub>	Dosis Letal Media
DT1	Diabetes Tipo 1
DT2	Diabetes Tipo 2
DPP4	Dipeptidil peptidasa-4
EDLo	Extracto Diclorometánico de <i>L. octovalvis</i>
EHLo	Extracto Hexánico de <i>L. octovalvis</i>
EHiLo	Extracto Hidroalcohólico de <i>L. octovalvis</i>
EM	Espectro de Masas

eNOS	Óxido Nítrico Sintasa Endotelial
FC	Frecuencia Cardiaca
GA	Glucosa en Ayuno
GC	Guanilato Ciclasa
GLP-1	Glucagon-Like Peptide-1
GP	Glucosa postprandial
HAS	Hipertensión Arterial Sistémica
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
IDF	Federación Internacional de Diabetes
IECA	Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina
IMSS	Instituto Mexicano del Seguro Social
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
iNOS	Óxido Nítrico Sintasa inducible
IP <sub>3</sub>	Trisfosfato de inositol
IR	Infrarrojo
ITNF	Intervenciones Terapéuticas No Farmacológicas
<i>L. octovalvis</i>	<i>Ludwigia octovalvis</i>
MAPA	Monitorización Ambulatoria de la Presión Arterial

mmHg	milímetros de mercurio
MLC fosfatasa	Fosfatasa de las Cadenas Ligeras de miosina
MLCK	Cinasa de las Cadenas Ligeras de miosina
MODY	Maturity-Onset Diabetes of the Young
nNOS	Óxido Nítrico Sintasa neuronal
NO	Óxido Nítrico
NOS	Óxido Nítrico Sintasa
OECD	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos
OMS	Organización Mundial de la Salud
PA	Presión Arterial
PAD	Presión Arterial Diastólica
PAS	Presión Arterial Sistólica
PKC	Proteína Cinasa C
PPAR $\gamma$	Receptor gamma Activado por Proliferador de Peroxisoma
RCV	Riesgo Cardiovascular
RMN H <sup>1</sup>	Resonancia Magnética Nuclear de Protón
SGLT	Co-transportadores de Sodio-Glucosa
SAGARPA	Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural

SEMERGEN	Sociedad Española de Médicos de Atención Primaria
SHR	Ratas Espontáneamente Hipertensas
SNA	Sistema Nervioso Autónomo
SNS	Sistema Nervioso Simpático
SNP	Sistema Nervioso Parasimpático
SOG	Sobrecarga Oral de Glucosa
STZ	Estreptozotocina
TA	Tensión Arterial
UAEM	Universidad Autónoma del Estado de Morelos
UNAM	Universidad Nacional Autónoma de México

# 1. INTRODUCCIÓN



La diabetes es una afección crónico-degenerativa que se produce cuando se eleva la glucemia, debido a que el organismo deja de producir o no se produce la suficiente insulina (**IDF, 2021**), se clasifica en: diabetes tipo 1, tipo 2, gestacional y otros tipos de diabetes. Actualmente, la diabetes se encuentra entre las 10 principales causas de muerte en el mundo, se estima que hay más de 536.6 millones de personas con diabetes y se prevé que en 2045 la cifra aumente a 783.2 millones (**IDF, 2021**). Tan solo en México se estima que hay más de 8.6 millones de personas mayores a 20 años con diabetes (**ENSANUT, 2018**). Al igual que la diabetes, la hipertensión es un problema de salud pública mundial, contribuyendo a la carga de cardiopatías, accidentes cerebrovasculares e insuficiencia renal, presentando alta incidencia, se clasifica en primaria y secundaria, siendo la primaria la responsable del 90-95% de los casos (**Flores, 2011**) en 2008 se estimó que hay 1,000 millones de adultos mayores de 25 años que padecen hipertensión (**OMS, 2013**), durante 2012 el 31.5% de mexicanos mayores a 20 años fueron diagnosticados con hipertensión, incrementando la tasa de mortalidad a 29.9%, y ubicando a esa patología como el principal factor de riesgo de muertes prevenibles en 2015 (**Campos, 2018**).

Actualmente existen tratamientos para ambas enfermedades que incluyen cambio en el estilo de vida mediante dieta y ejercicio, así como terapia con fármacos cuya finalidad es disminuir y regular los valores de presión arterial y glucosa en sangre, para prevenir futuras complicaciones; sin embargo, parte de la población recurre a alternativas terapéuticas como el uso de plantas medicinales. Dentro de las plantas medicinales se encuentra *Ludwigia octovalvis*, la cual se ha seleccionado por los antecedentes etnomédicos y farmacológicos que reporta propiedades antihipertensivas y antidiabéticas, por lo que el presente proyecto se planteó para evaluar el extracto hexánico (EHLo) en modelos murinos, como antihipertensivo agudo y en un estudio toxicológico agudo y subagudo; mientras que el extracto diclorometánico (EDLo) fue evaluado en un modelo murino DENID agudo, de igual manera a ambos extractos se estudiaron por fitoquímica.

# 1. ABSTRACT

Diabetes is a chronic-degenerative condition that occurs when blood glucose rises, which is caused when the body stops producing or does not produce enough insulin **(IDF, 2021)**, it is classified as: type 1 diabetes, type 2, gestational and other types of diabetes. Currently, diabetes is one of the 10 leading causes of death in the world, and it is estimated that affects more than 536.6 million people, numbers that increase every year, it is expected that in 2045, 783.2 million people will have the disease **(IDF, 2021)**. In Mexico, there are more than 8.6 million people over 20 years of age with diabetes **(ENSANUT, 2018)**. As important as diabetes, hypertension is a global public health problem, contributing to the burden of heart disease, stroke and kidney failure, presenting a high incidence. It is classified into primary and secondary, being primary responsible for 90-95% cases **(Flores, 2011)**. In 2008 it was estimated that there are 1,000 million adults over 25 years of age suffering from hypertension **(WHO, 2013)**. In 2012, 31.5% Mexicans over 20 years of age were diagnosed with hypertension, increasing the rate of mortality to 29.9 %, and placing this pathology as the main risk factor for preventable deaths in 2015 **(Campos, 2018)**.

Currently, there are treatments for both diseases that include changes in lifestyle through diet and exercise, and drug therapy that helps to lower and regulate blood pressure and blood glucose values, to prevent future complications; however, part of the population still looks for therapeutic alternatives such as the use of medicinal plants. Within the medicinal plants is *Ludwigia octovalvis*, which has been selected for the ethnomedical and pharmacological background that reports biodirected antihypertensive and antidiabetic properties. Because of this the project was proposed to evaluate the hexane extract (EHL<sub>o</sub>) in murine models, as an acute antihypertensive and in an acute and subacute toxicological studies; while the dichloromethane extract (EDL<sub>o</sub>) was evaluated in an acute DENID murine model, in the same way both extracts were studied by phytochemistry.

## 2. ANTECEDENTES

En la actualidad el uso de plantas en la medicina tradicional es de gran interés para la ciencia, ya que se continúan estudiando los compuestos bioactivos que puedan contener esas especies para el tratamiento o cura de algunas enfermedades; los estudios tienen la finalidad de obtener los principios activos y determinar sus estructuras fisicoquímicas, para dar a conocer los resultados a la humanidad **(Vasconsuelo, 2007)**. Se estima que existen al menos 35,000 especies vegetales que puedan presentar potenciales efectos terapéuticos, y el 80 % de la población mundial emplea la medicina tradicional para tratar sus enfermedades **(García, 2012)**.

En el mundo, las enfermedades cardiovasculares son responsables de 17 millones de muertes por año, entre las que más destacan son las complicaciones por hipertensión, las cuales causan 9.4 millones de muertes al año; esa patología causa el 45% de mortalidad por cardiopatías y el 51% por accidentes cerebrovasculares. En 2008 el 40% de adultos mayores de 25 años fueron diagnosticados con hipertensión **(OMS, 2013)**. De manera general se estima que la prevalencia de la hipertensión es menor en países con ingresos elevados que en países con menores ingresos, lo cual puede ser atribuido a que estos países presentan problemas en sus sistemas de salud, por lo cual pueden existir personas hipertensas sin diagnóstico, tratamiento y control de la enfermedad; otro aspecto que es atribuible a la alta incidencia son los factores de riesgo, que están relacionados con el comportamiento, como son: la dieta, el consumo de alcohol, inactividad física, entre otras **(OMS, 2013)**.

Por otro lado, durante 2012 el 31.5% de mexicanos mayores a 20 años fue diagnosticado con hipertensión, incrementando la tasa de mortalidad a 29.9%, ubicando a esa patología como responsable del 18.1% de las muertes y el principal factor de riesgo de muertes prevenibles en 2015 **(Campos, 2018)**. Sin embargo, se calcula que en 2025 la hipertensión arterial sistémica (HAS), se incrementará 24% en los países desarrollados, y más del 80% en países en desarrollo como México,

lo cual presentará un reto para los servicios de salud en el diagnóstico y control de la enfermedad **(Román, 2016)**.

Actualmente, México ocupa el séptimo lugar mundial con 14.1 millones de personas diabéticas, se estima que en 2045 México ocupe el octavo lugar con 21.2 millones **(IDF, 2021)**; de acuerdo con la Federación Mexicana de Diabetes, la prevalencia de diabetes en México es de 10.3% en mujeres y 8.4% en hombres, es importante destacar que del total de los casos de diabetes en el país, el 90% corresponden a Diabetes tipo 2 (DT2) **(Federación Mexicana de Diabetes, 2018)**, esta patología es la segunda causa de muerte en México con 106, 525 defunciones **(INEGI, 2018)**.

El principal objetivo en el tratamiento de esas enfermedades es regular los valores de presión arterial y glucosa, previniendo o retardando la aparición de complicaciones de la enfermedad y mejorando la calidad de vida del paciente **(Rivera, 2000; Flores, 2011)**; sin embargo, el impacto económico y los efectos adversos de los tratamientos farmacológicos son factores por los que gran parte de la población recurre a alternativas terapéuticas, como el uso de plantas medicinales, y en el contexto investigativo, representan una de las principales fuentes de obtención de nuevas moléculas bioactivas.

Estudios previos han demostrado el efecto antidiabético, vasorrelajante y traqueorrelajante de *Ludwigia octovalvis*, conocida como clavillo o flor de calavera, y es utilizada en la medicina tradicional mexicana para el tratamiento de enfermedades de la piel, diarrea, granos y diabetes **(UNAM, 2009)**.

## 2.1 Endotelio muscular

El endotelio vascular forma una monocapa de células endoteliales, en arterias, venas y capilares. Esta estructura metabólicamente activa es una barrera con alta selectividad y con función fundamental en la homeostasis vascular y se localiza en la superficie interna de los vasos sanguíneos **(Widlansky, 2011)**. La homeostasis vascular implica mantener el balance regulado entre la vasodilatación, asociada con eventos antiinflamatorios, antitrombóticos, antioxidantes, y la vasoconstricción relacionada con eventos proinflamatorios, prooxidantes y protrombóticos **(Mudau, 2012)**; en caso de no mantener la homeóstasis vascular podrían desarrollarse aterosclerosis, desórdenes vasculares y algunas enfermedades crónicas **(Steyers, 2014)**.

### 2.1.1 Funciones del endotelio

Las células endoteliales sintetizan y liberan una gran variedad de sustancias vasoactivas, las que regulan el tono vascular, la presión y el flujo sanguíneo, sustancias que participan en la coagulación, en la fibrinólisis, en reacciones inflamatorias e inmunológicas y factores de crecimiento que promueven el crecimiento celular **(Su, 2015)** (Tabla 1). Por otro lado, la función del endotelio es modulada por receptores presentes en la membrana para moléculas como proteínas, hormonas, partículas transportadoras, por proteínas de unión y receptores que regulan las interacciones célula-célula y célula-matriz **(Yau, 2015)**, entre las funciones de la célula endotelial (CE) encontramos:

**Tabla 1.** Sustancias producidas por el endotelio (Modificado de **Su, 2013**).

Sustancias vasoactivas	Mediadores inmunológicos e inflamatorios
<b>Vasodilatadores</b> Adrenomedulina Kininas Óxido nítrico Factor hiperpolarizante derivado del endotelio Prostaciclina	<b>Citoquinas</b> Interleuquinas Proteína quimioatrayente de monocitos 1 Factor de necrosis tumoral $\alpha$ (TNF $\alpha$ )
<b>Vasoconstrictores</b> Angiotensina II Prostanoides vasoconstrictores	<b>Moléculas de adhesión</b> Moléculas de adhesión intercelular Moléculas de adhesión célula endotelial-plaqueta Selectinas Moléculas de adhesión de células vasculares
<b>Coagulación y fibrinólisis</b>	<b>Especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno</b>
<b>Coagulación</b> Factor V Heparán sulfato Proteína C y S Trombomodulina Factor tisular Factor von Willebrand	<b>Especies reactivas del oxígeno</b> Peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) Hidroperóxido ( $HO_2$ ) Superóxido ( $O_2^-$ )
<b>Fibrinólisis</b> Inhibidor del activador del plasminógeno Activador tisular del plasminógeno Urokinasa	<b>Especies reactivas del nitrógeno</b> Nitrito ( $NO_2^-$ ) Dióxido de nitrógeno ( $NO_2$ ) Peroxinitrito ( $ONOO^-$ ) Cloruro de nitrilo ( $NO_2Cl$ )
<b>Factores de crecimiento</b> Factor básico de crecimiento de fibroblastos Factor de crecimiento similar a insulina Factor de crecimiento transformante	

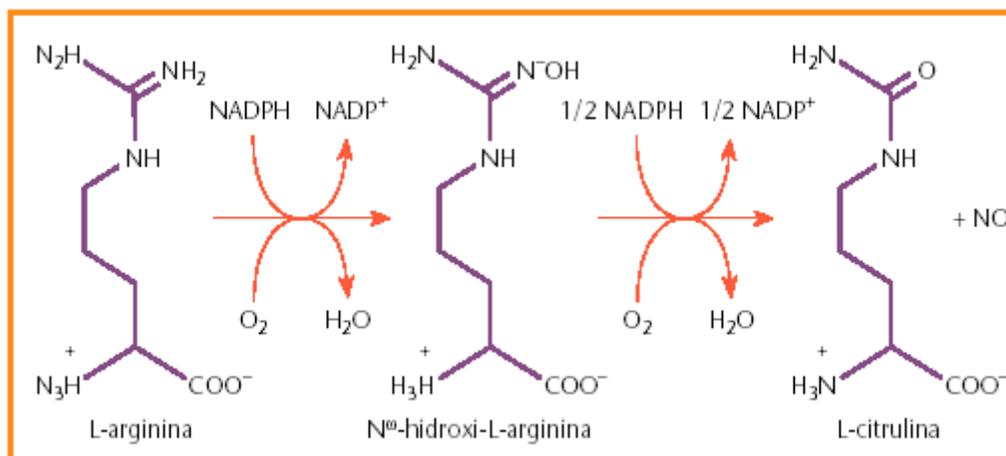
### 2.1.1.1 Función vasomotora

La principal función del endotelio es la regulación del flujo sanguíneo y la perfusión tisular, lo cual ocurre por los cambios en el tono vascular/diámetro de los vasos sanguíneos. El control del tono vascular depende de la producción de óxido nítrico (NO), prostaciclina y factor hiperpolarizante; mientras que la vasoconstricción es mediada por la producción de endotelina-1, angiotensina II, y tromboxano A2 (Mikhed, 2015).

### 2.1.1.2 Óxido nítrico (NO)

Es un vasodilatador liberado por células endoteliales y por su naturaleza gaseosa, difunde hacia las células musculares y los tejidos; el NO es sintetizado a partir de la L-arginina y oxígeno por oxidación del grupo amino, por la enzima óxido nítrico sintasa (NOS), donde el agente oxidante es el oxígeno molecular, el cual pasa de un estado de oxidación de 0 a 2, proceso complejo que requiere un segundo agente reductor como el NADPH para llevar a cabo la reacción (**Centelles, 2017**).

La NOS tiene 3 isoformas: NOS neuronal (nNOS), NOS inducible (iNOS) y NOS endotelial (eNOS); la nNOS y la eNOS son enzimas calcio-dependientes que producen NO en baja cantidad, mientras que la iNOS es calcio-independiente y su expresión aumenta por citocinas proinflamatorias, generando gran cantidad es de NO, ~1,000 veces más que las isoformas nNOS y eNOS (**Carvajal, 2017**) (Figura 1).

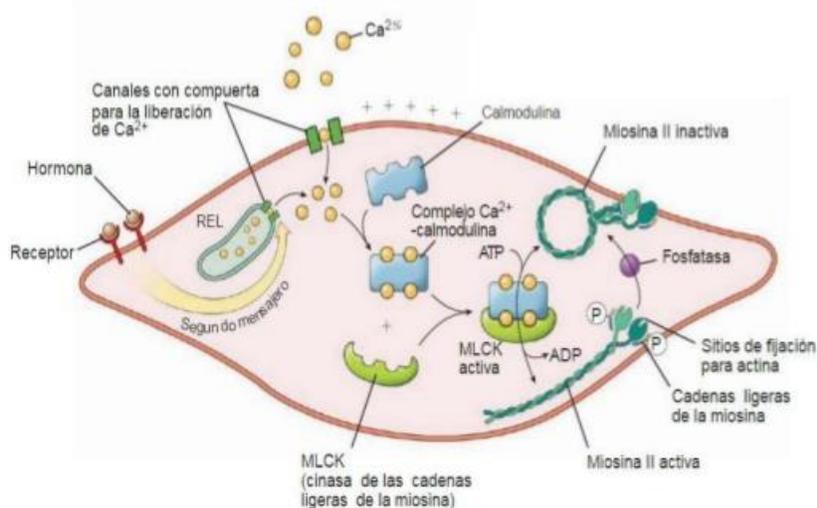


**Figura 1.** Generación del NO (Tomada de **Centelles, 2004**).

### 2.1.1.3 Contracción del músculo liso vascular

El proceso de contracción inicia cuando la concentración de calcio intracelular aumenta, provocado por estimulación nerviosa u hormonal, los cuales inducen la activación de las proteínas contráctiles como la actina y la miosina.

La contracción inicia cuando un agonista se une a su receptor acoplado a proteína G heterotrimérica estimulando la actividad de la fosfolipasa C, la cual cataliza la formación de dos segundos mensajeros, trifosfato de inositol (IP3) y diacilglicerol (DG). Donde IP3 se unirá a sus receptores-canal en el retículo sarcoplásmico permitiendo la liberación de calcio hacia el citosol; por su parte, el DG junto con el  $\text{Ca}^{2+}$  activan a la proteína cinasa C (PKC) que fosforila a proteínas específicas, además, el  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular aumentará y se unirá con la calmodulina formando el complejo calcio-calmodulina, que activa a la cinasa de las cadenas ligeras de miosina (MLCK) para fosforilar la cadena ligera de miosina, mientras los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L dependientes de voltaje se abren en respuesta al estímulo (Renna, 2013) (Figura 2).



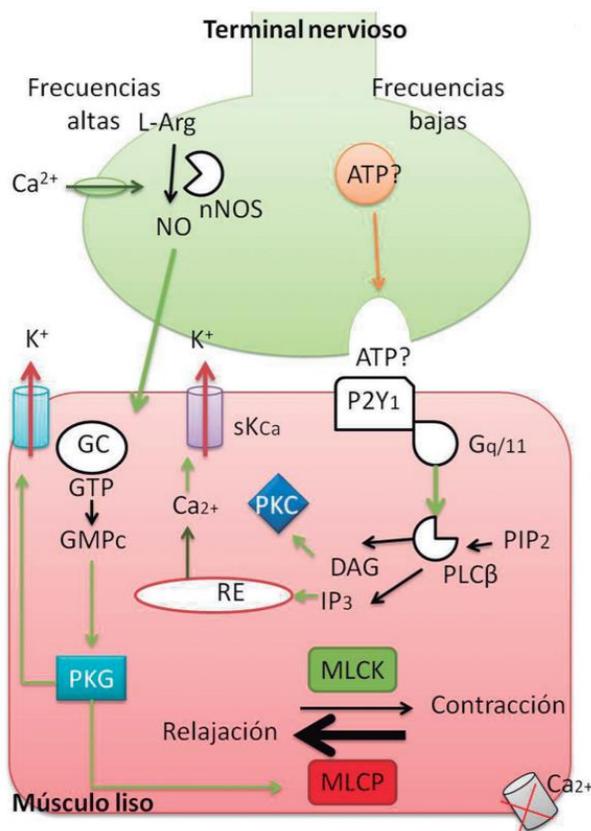
**Figura 2.** Proceso de contracción del músculo liso vascular.

#### 2.1.1.4 Relajación del músculo liso vascular

La relajación del músculo liso se produce al eliminar el estímulo contráctil o por la acción directa de un inhibidor del mecanismo contráctil; independientemente la relajación requiere la disminución de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y el aumento de la actividad de la fosfatasa de las cadenas ligeras de miosina (MLC fosfatasa).

Entre los mecanismos implicados en la recaptura o eliminación del  $\text{Ca}^{2+}$  están las  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPasas del retículo sarcoplásmico (SERCA) y la de membrana plasmática (PMCA). La recaptura de  $\text{Ca}^{2+}$  en el retículo sarcoplásmico, vía SERCA, depende de la hidrólisis de ATP, de la fosforilación de la  $\text{Ca}^{2+}$  - $\text{Mg}^{2+}$  -ATPasa quien se une a dos iones  $\text{Ca}^{2+}$  que serán bombeados al interior del retículo sarcoplásmico, en donde serán liberados. La PMCA es un mecanismo adicional para reducir la concentración de  $\text{Ca}^{2+}$  en la célula, esta enzima a diferencia de SERCA tiene un dominio de auto inhibición vinculada a la calmodulina, que estimula el bombeo de  $\text{Ca}^{2+}$  en la membrana plasmática. Los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  localizados en la membrana plasmática, y que son operados por voltaje, son indispensables en el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  y la contracción, por lo que su bloqueo provoca  $\neq$  relajación **(Renna, 2014)**.

Otro mecanismo de relajación es el NO el cual activa la guanilato ciclasa soluble (GCs) en las células del musculo liso vascular, favorece la conversión del trifosfato de guanosina (GTP) a monofosfato de guanosina cíclico (cGMP) y, con ello, la activación de la proteína cinasa dependiente de cGMP (PKG) que fosforila diferentes proteínas, en última instancia, la apertura de los canales de  $\text{K}^{+}$ , que promueve la salida de  $\text{K}^{+}$  intracelular y, en consecuencia, la hiperpolarización de la membrana, la disminución del  $\text{Ca}^{2+}$  citosólico s y la desfosforilación de la cadena ligera de miosina, lo que desencadena la relajación de los vasos sanguíneos **(Centelles, 2017)**, (Figura 3).



**Figura 3.** Proceso de relajación del tejido muscular vascular (Tomado de **Gallego, 2016**).

### 2.1.1.5 Presión arterial

De acuerdo con la OMS la presión arterial es la fuerza que ejerce la sangre ~~contra~~ sobre las paredes de los vasos sanguíneos al ser bombeada por el corazón, mientras más alta sea la resistencia de los vasos (tensión arterial), mayor es el esfuerzo que debe realizar el corazón para bombear la sangre. En la regulación de la presión arterial (PA) están implicados mecanismos especiales de corto y largo plazo, entre ellos existen mecanismos de control humoral y mecanismos de regulación nerviosa (**Hall, 2020**).

### 2.1.1.5.1 Control humoral de la presión arterial

El control humoral de la presión arterial hace referencia al control mediante sustancias secretadas hacia los líquidos del organismo, como hormonas y factores producidos localmente, algunas son generadas en glándulas que las secretan al torrente sanguíneo, mientras que otras se forman en algunas zonas del tejido afectado y provocan un efecto local, este es uno de los principales mecanismos reguladores de la presión arterial.

En este mecanismo la angiotensina II es un péptido vasoconstrictor a muy potente, ya que una millonésima de gramo (1  $\mu\text{g}$ ) es suficiente para incrementar la presión arterial en el humano; otra hormona en este mecanismo es la vasopresina, más potente que la angiotensina II, cuya función es la reabsorción de agua en los túbulos renales, sin embargo, se conoce que aumenta de manera significativa después de una hemorragia intensa. Dentro de las sustancias vasodilatadoras en el mecanismo humoral están las cininas, que provocan vasodilatación potente cuando se forman en la sangre y en los líquidos tisulares de algunos órganos y tienen una función importante en la regulación del flujo sanguíneo y en la pérdida capilar de los líquidos en tejidos inflamados. La histamina es otra sustancia vasodilatadora del mecanismo humoral, con un potente efecto sobre las arteriolas, aumenta en gran medida la porosidad capilar permitiendo la pérdida de líquidos y proteínas plasmáticas hacia los tejidos (Hall, 2020).

### 2.1.1.5.2 Mecanismos de regulación nerviosa de la presión arterial.

El sistema nervioso controla la circulación casi totalmente a través del sistema nervioso autónomo, el cual se divide en sistema nervioso simpático y sistema nervioso parasimpático.

El sistema nervioso simpático inerva de pequeñas arterias y arteriolas, permitiendo que la estimulación simpática aumente la resistencia al flujo sanguíneo y disminuya la velocidad del flujo sanguíneo a través de los tejidos; mientras que la inervación de las venas hace que la estimulación disminuya el volumen sanguíneo de las venas, jugando un papel importante en regular la función del corazón.

El sistema nervioso parasimpático tiene menor participación en regular la función vascular en la mayoría de los tejidos, pese a ello, la estimulación parasimpática provoca un importante descenso de la frecuencia cardiaca y un descenso mínimo en la contractilidad del músculo cardíaco **(Hall, 2020)**.

### 2.1.1.6 Hipertensión

La hipertensión arterial sistólica es un padecimiento de origen multifactorial, que se caracteriza por la elevación sostenida de la presión arterial sistólica, la presión arterial diastólica o ambas, cuyos valores son  $\geq 130/80$  mmHg **(PROY-NOM-030-SSA2-2017)**. La clasificación y diagnóstico de la hipertensión arterial sistémica ha sido tema de discusión, debates y actualizaciones por años. En la actualidad se reconocen dos tipos de hipertensión: la hipertensión primaria y la hipertensión secundaria. La hipertensión arterial esencial o primaria, representa el 90% de los casos y se considera idiopática; sin embargo, tiene una gran carga hereditaria. La hipertensión secundaria ocurre en el 10% de la población afectada por esa enfermedad, su aparición está relacionada con enfermedades como: glomerulopatías, enfermedades tiroideas, entre otras **(Valero, 2009)**.

## 2.2.1 Clasificación de la hipertensión arterial sistémica

En septiembre del 2019 la *American Heart Association* (AHA) y el *American College of Cardiology* (ACC) emitieron la nueva guía de práctica clínica para la prevención, detección, evaluación y tratamiento de la hipertensión en adultos, con una nueva clasificación (**Donna-K., 2019**) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Criterios de clasificación de la presión arterial

Categoría	Cifras de presión arterial (mmHg)  Sistólica/diastólica
Normal	< 120/80
Elevada	120-129/< 80
Hipertensión estadio 1	130-139/ 80 -89
Hipertensión estadio 2	≥ 140/90

## 2.2.2 Sintomatología de la hipertensión

Uno de los principales problemas de la hipertensión arterial sistémica (HAS) es ser asintomática hasta detectarse en fases muy avanzadas de la enfermedad; actualmente no existe un síntoma característico que pueda relacionarse con la enfermedad, aunque es muy común relacionar la HAS con síntomas como: dolor de

cabeza, cansancio, dolor de cuello, palpitaciones en las piernas, entre otros, y el hecho de que algunas personas tengan uno o más síntomas no significa que los síntomas pueden servir de parámetro, porque se presentan picos de hipertensión de manera asintomática sin darse cuenta de ello **(Pinheiro, 2019)**.

### 2.2.3 Diagnóstico de la hipertensión arterial

Para diagnosticar HAS es necesaria una medición precisa de la tensión arterial (TA), que requiere tener el tamaño adecuado del brazalete o manguito y del instrumento, también es fundamental hacer mediciones repetidas antes de emitir un diagnóstico y para ello se recomienda la determinación de la tensión arterial (DDTA) en el domicilio, con mediciones secuenciales por el propio paciente o familiar en casa, o utilizar la monitorización ambulatoria de la presión arterial (MAPA) **(Mancia, 2013) (IMSS, 2017)**; así, se han establecido diversos criterios de diagnóstico, los cuales se describen a continuación (Tabla 3):

En el consultorio durante el día

Esta medición se hace a cualquier hora del día en el consultorio médico; sin embargo, los valores de TA pueden estar elevados en pacientes sanos, y eso puede ocurrir bajo situaciones de ansiedad o debido a la hipertensión asociada a la bata blanca del personal de salud, por lo cual se recomienda el monitoreo ambulatorio de la presión arterial **(IMSS, 2017)**.

En horas diurnas (condición despierta)

Esta medición se hace en el hospital o domicilio del paciente durante el día, y es necesario que la persona esté despierta.

En horas nocturnas (condición sueño)

Esta medición de PA se puede hacer en el hospital o en casa del paciente; sin embargo, para la toma es necesario que la persona esté dormida durante la medición.

En el domicilio durante el día

Las mediciones se hacen en casa del paciente, en repetidas ocasiones durante el día.

**Tabla 3.** Criterios de diagnóstico para la hipertensión arterial

Estado de la toma	Valor promedio
En el consultorio durante el día	$\geq 130/80$ mmHg
En horas diurnas (condición despierta)	$\geq 135/85$ mmHg
En horas nocturnas (condición sueño)	$\geq 120/70$ mmHg
En el domicilio durante el día	$\geq 130/80$ mmHg

### 2.2.4 Tratamiento

El principal objetivo del tratamiento de la HAS es regular los valores de tensión arterial en los vasos sanguíneos, para prevenir o retardar la aparición de síntomas o complicaciones de la enfermedad, así como disminuir la mortalidad y mejorar la calidad de vida de los pacientes. El tratamiento se divide en no farmacológico, que incluye cambios en la alimentación y hacer ejercicio, si los valores de TA no

disminuyen es necesario iniciar el tratamiento farmacológico, en el cual es necesaria la ingesta de medicamentos (**Valero, 2009**).

#### 2.2.4.1 Tratamiento no farmacológico

Modificar el estilo de vida constituye la base de la prevención y tratamiento de la HAS y, por consiguiente, la reducción del riesgo cardiovascular asociado (RCV); la implementación de dieta adecuada y ejercicio son medidas prioritarias y en la Tabla 4 se muestran los puntos básicos a seguir en el tratamiento no farmacológico.

**Tabla 4.** Recomendaciones del tratamiento no farmacológico (Modificado de **Gijón, 2018**).

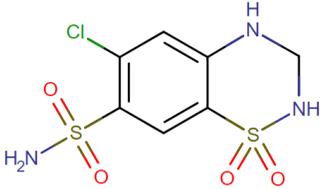
Recomendaciones
Pérdida de peso en personas con sobrepeso u obesidad.
Dieta cardiosaludable (dieta mediterránea ´).
Reducción en el consumo de sal.
Consumir suplementos de potasio, excepto en pacientes con enfermedades renales o que estén tomando medicamentos que reducen la eliminación de potasio.
Aumentar la actividad física con programas estructurados.

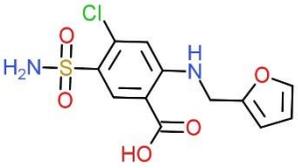
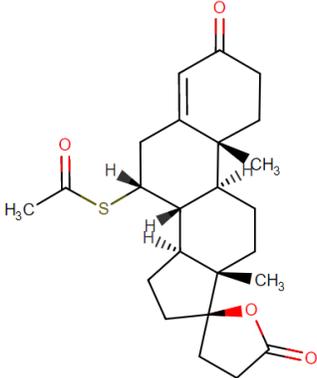
Restringir la ingesta de alcohol.

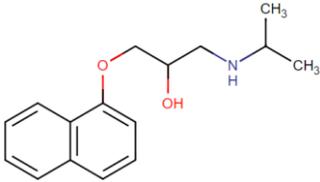
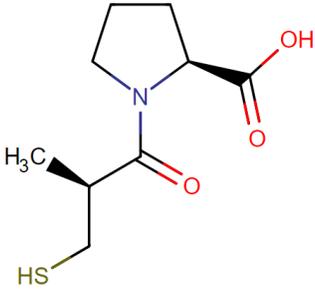
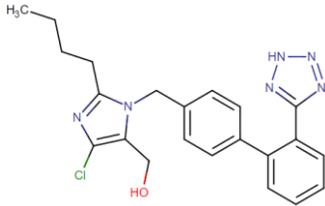
### 2.2.4.2 Tratamiento farmacológico

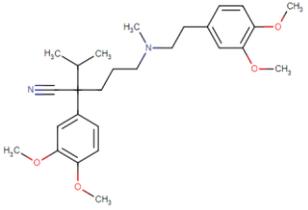
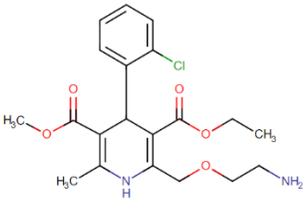
Actualmente existen 6 grupos de medicamentos para el tratamiento de la HAS (Tabla 5). El uso de los diferentes fármacos para el tratamiento debe basarse en parámetros como: costo, enfermedades asociadas, efectos secundarios, entre otros (Galvañ, 2004; Bragulat, 2001).

**Tabla 5.** Fármacos de primera elección para el tratamiento de la hipertensión arterial (Modificado de IMSS, 2017).

Grupo	Fármacos (ejemplos)	Efecto farmacológico	Mecanismo de acción
Diuréticos Tiazidas	 <p>Hidroclorotiazida</p>	Favorece la eliminación de los iones Na <sup>+</sup> /Cl <sup>-</sup>	Bloquea el transporte de Na <sup>+</sup> y Cl <sup>-</sup> en el túbulo distal renal

Diuréticos de asa	 <p>Furosemida</p>	Aumentan la excreción renal de sodio, cloruro y agua	Bloquea el transporte de Na <sup>+</sup> , K <sup>+</sup> y 2Cl <sup>-</sup> en el asa de Henle
	Bumetamida		
Diuréticos ahorradores de potasio	 <p>Espironolactona</p>	Favorece la eliminación de agua y electrólitos, a excepción de K <sup>+</sup>	Antagonizan el receptor de la aldosterona en el túbulo colector cortical y en la porción terminal del túbulo distal
		Inhíbe las respuestas cronotrópica, inotrópica y vasodilatadora a la estimulación	

β-bloqueadores	 <p>Propranolol</p>	adrenérgica mediada por los receptores β	Antagoniza a los receptores β-adrenérgicos
	Metoprolol		
IECAs (Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina)	 <p>Captopril</p>	Reduce la resistencia vascular periférica y la retención de Na <sup>+</sup> y agua	Inhibe la producción de angiotensina II, disminuyendo la actividad vasopresora y la concentración de aldosterona
	Enalapril		
ARA II	 <p>Losartán</p>	Disminuyen la resistencia vascular periférica y la presión arterial	Antagonizan el receptor AT1 de angiotensina

(Antagonistas de los Receptores de Angiotensina)	Telmisartán		
	Candesartán		
Bloqueadores de canales de Ca <sup>2+</sup>  (No dihidropiridínicos)	 <p>Verapamilo</p>	Relaja la musculatura lisa	Bloquean de manera no selectiva los canales de Ca <sup>2+</sup> de tipo L
Bloqueadores de canales de Ca <sup>2+</sup>  (dihidropiridínicos)	 <p>Amlodipina</p>	Relaja la musculatura lisa	Bloquean los canales de Ca <sup>2+</sup> de la membrana celular
	Isradipina		
	Felodipina		
	Nicardipina		

## 2.2 Factores de riesgo y enfermedades concomitantes

En la actualidad gran parte de la población mundial presenta HAS, sin embargo, existen factores de riesgo que pueden aumentar la probabilidad de padecer esta enfermedad, estos factores se dividen en dos: modificables, que pueden ser la causa de la patología y su regulación es parte del tratamiento no farmacológico, entre ellos: el peso del individuo, la ingesta de alcohol, el tabaquismo, ingesta de alimentos con alto contenido de sodio y carbohidratos, consumo de cafeína y el sedentarismo; mientras que los factores de riesgo no modificables, son los que no pueden ser alterados, como: historia familiar (herencia), sexo y raza **(Robles, 2001)**. Al igual que estos factores, la HAS tiene una relación concomitante con otras enfermedades como la diabetes y la obesidad, donde el aumento de la actividad del sistema nervioso simpático (SNS), la reabsorción de sodio y agua, así como la acción alterada de la insulina, pueden favorecer el desarrollo de una o más patologías en conjunto con la hipertensión arterial **(Sánchez, 2014)**.

## 2.3. Diabetes

Es una enfermedad grave a largo plazo que ocurre cuando el cuerpo no puede producir suficiente insulina o no puede usar la insulina que produce de manera eficiente. Actualmente la diabetes se clasifica en tres tipos: diabetes tipo 1, diabetes tipo 2 y diabetes gestacional **(IDF, 2021)**.

### 2.3.1 Clasificación de la diabetes

#### Diabetes tipo 1 (DT1)

Se caracteriza por la destrucción absoluta de las células  $\beta$  del páncreas, que ocasiona una deficiencia total de insulina, y se relaciona con el sistema inmune y

por defectos en la secreción de la insulina; la DT1 es 5 a 10% del total de los casos de diabetes, la patología se manifiesta a temprana edad (**PROY-NOM-015-SSA2-2018; Planas, 2010**).

#### Diabetes tipo 2 (DT2)

Es caracterizada por resistencia a la insulina, así como la pérdida gradual de insulina, es la más frecuente (90-95% de los casos), suele presentarse después de los 40 años, en el 80% de los casos viene acompañada con obesidad (**Planas, 2010**).

#### Diabetes gestacional (DG)

Este tipo de diabetes se desarrolla durante el embarazo, en el 1-14% de las embarazadas, y es diagnosticada durante el segundo o tercer trimestre del embarazo; en caso de no tener control adecuado puede generar complicaciones obstétricas o perinatales. Posterior al parto la glucemia en la madre disminuye a los valores normales, pero en algunos casos la DT2 puede continuar y ser un factor de riesgo en el futuro para la madre y el bebé (**American Diabetes Association, 2019; Planas, 2010**).

#### Otros tipos de diabetes

Pueden desarrollarse debido a otras causas como, por ejemplo: síndromes de diabetes monogénica (como diabetes neonatal y diabetes juvenil de inicio en la madurez [*maturity-onset diabetes of the young*, MODY]), enfermedades del páncreas exocrino (como fibrosis quística y pancreatitis) e inducida por fármacos o productos químicos (**American Diabetes Association, 2019**).

### 2.3.2 Sintomatología de la diabetes

La diabetes es denominada una enfermedad silenciosa; sin embargo, presenta síntomas característicos, que son comúnmente ignorados y relacionados con otras actividades por los pacientes (Figura 4).



**Figura 4** Síntomas de la diabetes (Modificado de la **ADA, 2018**).

### 2.3.3 Diagnóstico de la diabetes

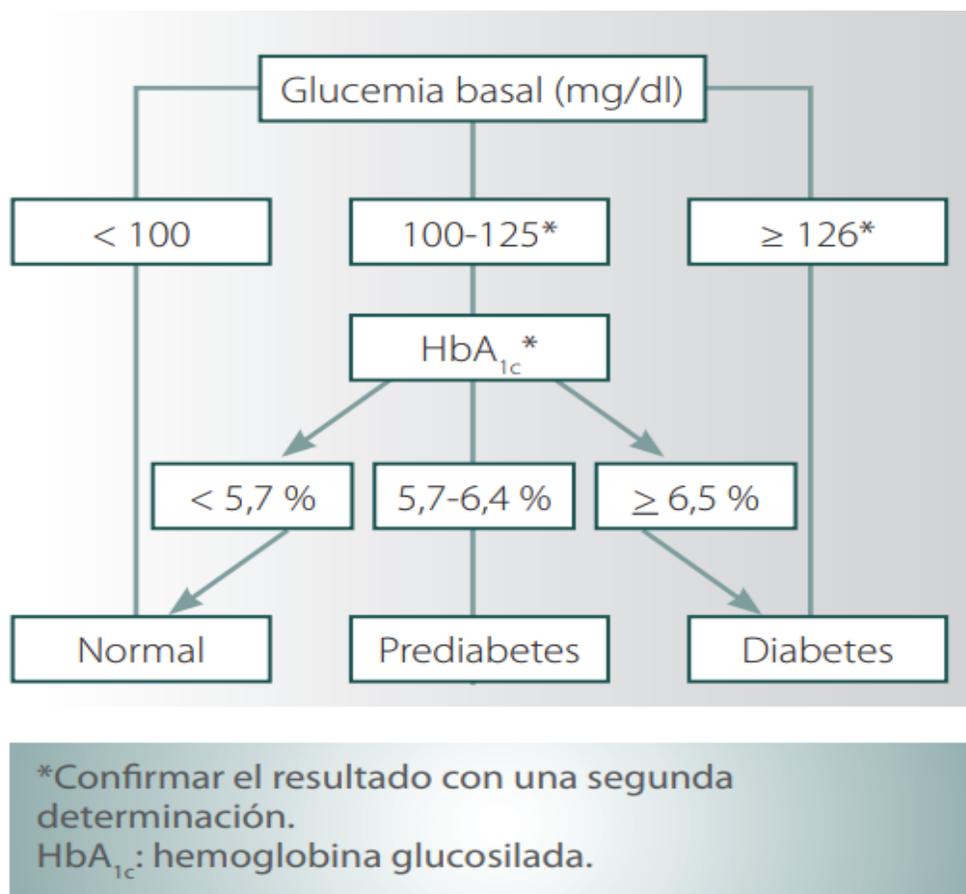
El diagnóstico de la diabetes permite detectar e identificar a los pacientes con diabetes o prediabetes, permitiendo una intervención temprana, por lo cual se han establecido criterios y algoritmos de diagnóstico para diabetes y prediabetes (Figuras 5, 6 y 7).

GA $\geq$ 126 mg/dl (7,0 mmol/l). El ayuno se define como ningún aporte calórico durante, al menos, 8 h.*
O
GP a las 2 h $\geq$ 200 mg/dl (11,1 mmol/l) durante una PTGO. El análisis debe efectuarse como lo describe la Organización Mundial de la Salud, con una carga de glucosa que contiene el equivalente a 75 g de glucosa anhidra disueltos en agua.*
O
A1C $\geq$ 6,5% (48 mmol/mol). El análisis se debe realizar en un laboratorio con un método certificado por el NGSP y uniformado con el análisis del DCCT.*
O
En un paciente con síntomas clásicos de hiperglucemia o una crisis hiperglucémica, una GP al azar $\geq$ 200 mg/dl (11,1 mmol/l).
*Si no hay hiperglucemia inequívoca, obtener dos resultados anormales con la misma muestra o en dos muestras separadas.

**Figura 5.** Criterios para el diagnóstico de prediabetes (Tomado de ADA, 2019).

GA de 100 mg/dl (5,6 mmol/l) a 125 mg/dl (6,9 mmol/l) (GAA)
O
GP a las 2 h en la PTGO de 75 g de 140 mg/dl (7,8 mmol/l) a 199 mg/dl (11,0 mmol/l) (TAG)
O
A1C 5,7-6,4% (39-47 mmol/mol)
*Para los tres análisis, el riesgo es continuo; se extiende por debajo del límite inferior del intervalo y se vuelve desproporcionadamente mayor en el extremo más alto del intervalo.

**Figura 6.** Criterios para el diagnóstico de la diabetes (Tomado de ADA, 2019).



**Figura 7.** Algoritmo diagnóstico de diabetes. Tomada de **(SEMERGEN, 2016)**.

### 2.3.4 Tratamiento de la diabetes

En la actualidad existen diferentes fármacos cuyo efecto principal es el control y reducción de la glucemia en el organismo, con la finalidad de reducir los síntomas, mejorar la calidad de vida del paciente, así como prevenir complicaciones y disminuir la mortalidad **(Santa, 2002)**. La elección del medicamento debe estar enfocado en las características y necesidades de cada paciente, considerando la eficacia, los efectos secundarios, peso y comorbilidades **(Chaudhury, 2017)**. El tratamiento para la diabetes se divide en no farmacológico que incluye cambios en

la alimentación (dieta) y hacer ejercicio, y el tratamiento farmacológico empleando medicamentos antidiabéticos. Por otro lado, es importante el monitoreo de la glucemia en esos pacientes **(Rivera, 2000)**.

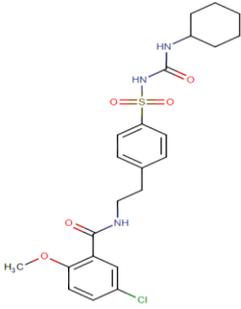
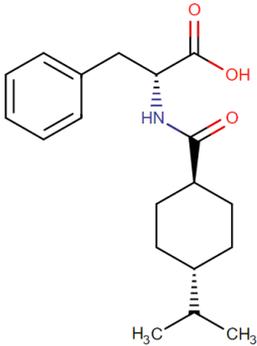
#### **2.3.4.1 Tratamiento no farmacológico**

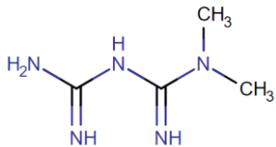
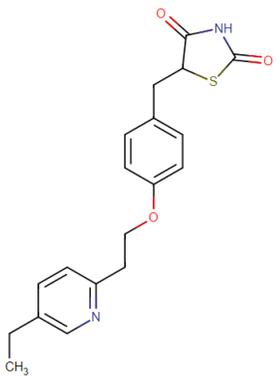
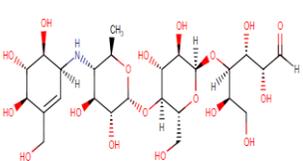
Las intervenciones terapéuticas no farmacológicas (ITNF) representan el pilar fundamental en el tratamiento del paciente con diabetes, se deben considerar dos estrategias clásicamente conocidas: la nutrición y la actividad física **(Brajovich, 2012)**.

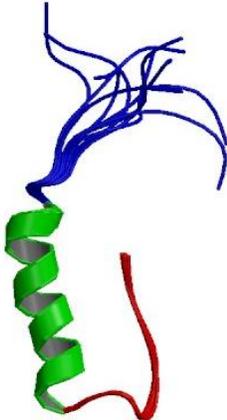
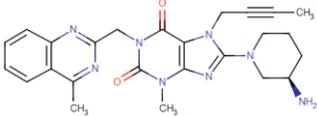
#### **2.3.4.2 Tratamiento farmacológico**

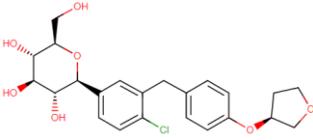
Actualmente existen 7 grupos de fármacos para el tratamiento de la DT2 que actúan a distintos niveles (Tabla 6), por su mecanismo de acción y efecto farmacológico.

**Tabla 6.** Antidiabéticos orales

Grupo	Ejemplo	Efecto farmacológico	Mecanismo de acción
Sulfonilureas	 <p>Glibenclamida</p>	Incremento en la secreción de insulina	Bloqueo de canales de potasio
Meglitidinas	 <p>Nateglinida</p>	Secretagogos de insulina	Bloqueo de los canales de potasio dependientes de ATP

<p>Biguanidas</p>	 <p>Metformina</p>	<p>Disminuir la producción de glucosa por el hígado</p>	<p>Activación de la Enzima Activada por AMP (AMPK)</p>
<p>Tiazolidindionas</p>	 <p>Pioglitazona</p>	<p>Atenúan la resistencia a la insulina, incrementando la utilización de la glucosa por el músculo</p>	<p>Activación de PPAR<math>\gamma</math></p>
<p>Inhibidores de <math>\alpha</math>-glucosidasas</p>		<p>Son inhibidores competitivos de <math>\alpha</math>-glucosidasas, retrasan la hidrólisis y la absorción de almidón y disacáridos</p>	<p>Inhibición de <math>\alpha</math>-glucosidasas</p>

	Acarbosa		
Agonistas de los receptores GLP-1	 <p>Exenatida</p>	Activadores de GLP-1, incrementan la liberación de insulina, suprimen la liberación postprandial de glucagón	Activación del receptor de GLP-1
Inhibidores de la DPP-4	 <p>Linagliptina</p>	Aumentan la concentración circulante de GLP-1 natural y polipéptido insulinotrópico dependiente de glucosa	Inhibición de Dipeptidilpeptidasas 4
		Disminuyen la reabsorción	

<p>Inhibidores de SGLT 2</p>	 <p>Empagliflozina</p>	<p>tubular de la glucosa</p>	<p>Inhibición del SGLT1 a nivel renal</p>
----------------------------------	---	----------------------------------	---

#### 2.4 Importancia de la medicina tradicional

La medicina tradicional es una alternativa empleada desde hace miles de años para el tratamiento de algunas enfermedades, actualmente las plantas medicinales son un amplio campo para el estudio y descubrimiento de nuevos compuestos bioactivos; en los últimos años la medicina tradicional ha tomado un gran impulso, ya que se considera como tratamiento complementario y de bajo costo, para algunas enfermedades (**Schlaepfer, 2010**). Bajo este contexto, México ha sido clasificado el segundo lugar en cuanto a riqueza de plantas medicinales, con ~4,000 especies registradas con efecto terapéutico (**Ramos, 2015**), dentro de estas plantas medicinales, y empleada para el tratamiento de la diabetes, está *Ludwigia octovalvis* que se describe a continuación.

### 2.4.1 *Ludwigia octovalvis*



**Figura 8.** *Ludwigia octovalvis*. Tomada de: Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana.

La especie *L. octovalvis* pertenece a la familia *Onagraceae*, es conocida comúnmente como: flor de calavera, clavillo y palo de agua, es una hierba tipo arbusto de 60 cm de altura, presenta hojas angostas y alargadas, las cuales miden 10 cm de largo, sus flores son de color amarillo con cuatro pétalos y nervaduras muy marcadas. Sus frutos son cápsulas cilíndricas que se abren cuando maduran, conteniendo en su interior las semillas, florece en los meses de julio a octubre. Su origen se desconoce, sin embargo, crece en clima cálido en los estados de Veracruz, Oaxaca, Tabasco y Morelos (UNAM, 2009).

## 2.4.2 Antecedentes del género *Ludwigia*

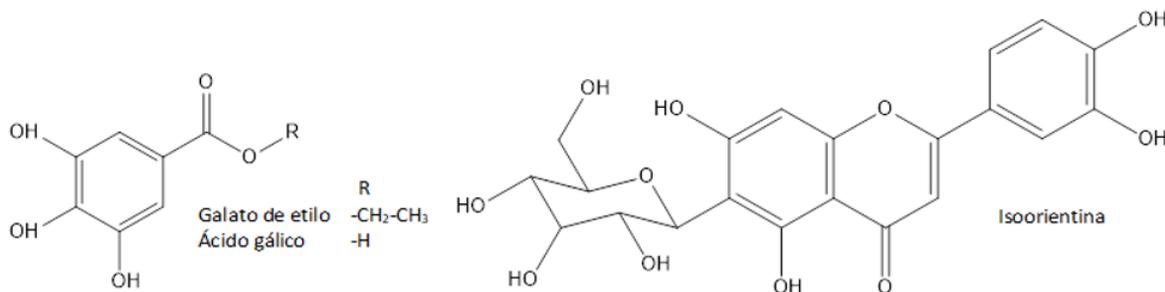
El género *Ludwigia* es considerada, en parte de Europa, como una especie invasiva, ya que ha provocado problemas ecológicos, dinámicos y taxonómicos en la región **(Dandelot, 2005)**. Sin embargo, algunas especies de este género han reportado actividades como la bioadsorción de metales pesados por biomasa vegetal **(Elifantz, 2002)**, antibacterial y antitumoral **(Das, 2007)**, citotóxica contra dos líneas celulares de cáncer humano **(Chang, 2004)**, contra *B. subtilis*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* **(Vivot, 2012)** y antifúngica **(Vivot, 2009)**.

## 2.4.3 Antecedentes etnomédicos de *Ludwigia octovalvis*

Se emplea en el tratamiento de la diarrea, ictericia, disentería y diabetes **(Murugesan, 2002)**, también en el tratamiento de edema, nefritis e hipertensión **(Soejarto, 2002)**. Los usos medicinales que se atribuyen a esta planta en Morelos, Veracruz y Oaxaca, se refieren a afecciones de la piel como infecciones, erisipela, granos **(UNAM, 2009)**, en los municipios de Xochitepec, Jojutla y Zacatepec del estado de Morelos, se usa para tratar la diabetes **(Ramírez, 2012)**.

## 2.4.4 Antecedentes fitoquímicos de *Ludwigia octovalvis*

Estudios de Morales y cols. obtuvieron e identificaron que algunos metabolitos de *L. octovalvis* tienen actividad antidiabética, por inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas (Figura 9), esos compuestos se aislaron del extracto hidroalcohólico íntegro de *L. octovalvis* (EHiLo) **(Morales y cols., 2018)**.



**Figura 9.** Compuestos aislados del extracto hidroalcohólico de *L. octovalvis*.

#### 2.4.5 Antecedentes farmacológicos de *Ludwigia octovalvis*

Algunos estudios han reportado que los extractos de *L. octovalvis* ayudan a mejorar el control glucémico y el rendimiento de la memoria **(Wei, 2017)**, también se conocen propiedades cardiovasculares protectoras, inmunoestimulantes y hepatoprotectoras **(Yakob, 2012)**.

Estudios previos en el grupo del Dr. Samuel Estrada de la Facultad de Farmacia UAEM, establecen que el extracto diclorometánico de *L. octovalvis* (EDLo) es antihiper glucémico y antidiabético significativo, también se descubrió que el extracto hexánico de *L. octovalvis* (EHLo) es vasorrelajante y tráqueorrelajante sobre aorta y anillos de tráquea, aislados de rata, respectivamente **(Marquina, 2019)**. Bajo este contexto, los antecedentes sugieren que el EHLo posee una potencial actividad antihipertensiva, explorada en el presente trabajo de investigación. De igual manera se obtuvieron e identificaron los compuestos bioactivos del EHLo y EDLo.

#### 2.4.6 Antecedentes toxicológicos de *Ludwigia octovalvis*

En cuanto a la seguridad farmacológica de *L. octovalvis*, en un estudio agudo del extracto metanólico, con dosis de 5000 mg/kg, se estableció que no hubo mortalidad. Además, en un estudio subagudo (28 días) a dosis de 200, 400 y 800 mg/kg, no se observó daño toxicológico aparente, aunque a 400 mg/kg los glóbulos blancos aumentaron significativamente; mientras que la actividad de ALT, AST y ALP disminuyeron significativamente y con 800 mg/kg el colesterol disminuyó **(Yakob, 2012)**. También, en un estudio agudo del extracto diclorometánico de *L. octovalvis*, se estableció que a 2000 mg/kg no generó mortalidad y sin toxicidad aparente **(Marquina, 2019)**.

# 3. JUSTIFICACIÓN

La diabetes y la hipertensión son enfermedades crónico-degenerativas con alta incidencia y prevalencia mundial, son problemas de salud pública, van en aumento debido a que son multifactoriales, y si no se diagnostican a tiempo y se tratan de manera eficaz y oportuna, producen complicaciones severas **(IDF, 2019; Campos, 2018)**.

A pesar de los métodos de diagnóstico y tratamiento para ambas enfermedades, la carga económica y los efectos secundarios que tienen los tratamientos farmacológicos, son factores importantes por los que la población recurre a alternativas terapéuticas, como la medicina tradicional usando plantas medicinales, y que son empleadas para la búsqueda racional de fármacos o compuestos bioactivos. En este contexto, el presente trabajo está enfocado en estudiar a *L. octovalvis* para determinar el efecto antidiabético del EDLo, el potencial efecto antihipertensivo del EHLo, así como su seguridad mediante ensayos de toxicidad aguda y subaguda en modelos murinos, y de igual manera aislar e identificar los componentes bioactivos responsables de esas actividades.

# 4. HIPÓTESIS

Los extractos hexánico y diclorometánico de *L. octovalvis* contienen compuestos bioactivos con potencial terapéutico para el tratamiento de la hipertensión y de la diabetes, sin generar toxicidad aparente en ensayos *in vivo*.

## 5. OBJETIVOS

## 5.1 Objetivo general

Determinar el efecto antihipertensivo, antidiabético y antihiperглиcémico agudo de los extractos EHLo y EDLo, respectivamente.

## 5.2 Objetivos específicos

5.2.1. Evaluar en un estudio agudo el efecto antihiperглиcémico y antidiabético del extracto EDLo en ratas normoglicémicas y diabetizadas.

5.2.2. Establecer el mecanismo de acción vasorrelajante de EHLo.

5.2.3. Determinar el efecto antihipertensivo agudo en ratas SHR del EHLo.

5.2.4. Determinar del efecto toxicológico agudo y subagudo del EHLo.

# 6. METODOLOGÍA

## 6.1 Recolección de la materia vegetal

La recolección de *L. octovalvis* la hizo el M.F. Emmanuel Gaona Tovar de la Facultad de Farmacia, en el municipio de Xochitepec, Morelos, durante septiembre de 2019. La Dra. Irene Perea Arango (CEIB, UAEM) identificó y caracterizó un espécimen maduro con flor para su inclusión en el Herbario de la UAEM (Número de Voucher en trámite).

## 6.2 Secado y molienda del material vegetal

El material vegetal de *L. octovalvis* se limpió de todo material extraño, posteriormente se inició el secado a la sombra, a temperatura ambiente y con circulación de aire durante un mes. Para la molienda se emplearon las hojas y los tallos de *L. octovalvis*, trituradas con un molino manual.

## 6.3 Obtención de los extractos orgánicos

A partir de 568 g de material vegetal seco y molido, se obtuvieron los extractos de *L. octovalvis* por orden creciente de polaridad, con los disolventes hexano y diclorometano, por maceración exhaustiva de 72 horas por triplicado, se filtraron y concentraron en un rotaevaporador bajo condiciones de presión reducida.

## 6.5 Uso y manejo de animales de experimentación

Para las determinaciones toxicológicas se emplearon ratones macho de la cepa CD1 de 25-35 g, y para las evaluaciones farmacológicas se usaron ratas macho de las cepas Wistar y SHR de 250-300 g, alimentadas con Rodent Labs Chow® y libre acceso a agua en condiciones de bioterio.

Los animales fueron tratados conforme a la Normatividad vigente descrita por la Regulación Federal para el Manejo y Uso de Animales, y emitida por la Secretaria de Agricultura y Recursos Naturales (SAGARPA). Procedimientos descritos en la **NOM-062-ZOO, 1999** “Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio”.

## 6.6 Reactivos

Para este proyecto fueron empleados los siguientes reactivos:

Estreptozotocina de MERCK KGaA, Nicotinamida de FlukaBioChemika, Tween 80 de Sigma-Aldrich, Cloruro de carbacol, bitartrato de noradrenalina (NA), Nitro-arginina-metil-éster (L-NAME), 1-*H*-[1,2,4]-oxadiazol-[4,3a]-quinoxalin-1-ona (ODQ), nifedipina, isoproterenol, cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>), hexano, diclorometano, y metanol.

## 6.7 Determinación del efecto vasorrelajante de los extractos orgánicos de *L. octovalvis* en un modelo *ex vivo*

Se evaluó el efecto relajante sobre aorta aislada de rata, de los extractos hexánico, diclorometánico y metanólico de *L. octovalvis*.

### 6.7.1 Obtención de la aorta de rata

Para la obtención de los anillos de aorta de rata, los animales fueron eutanizados en una cámara saturada con éter etílico. Inmediatamente después, la aorta fue disectada; y una vez obtenida, se colocaron en solución de Ringer-Krebs a 37°C para su limpieza, y eliminar la mayor cantidad de tejido conectivo, finalmente se cortaron anillos de 4-5 mm de los tejidos aislados.

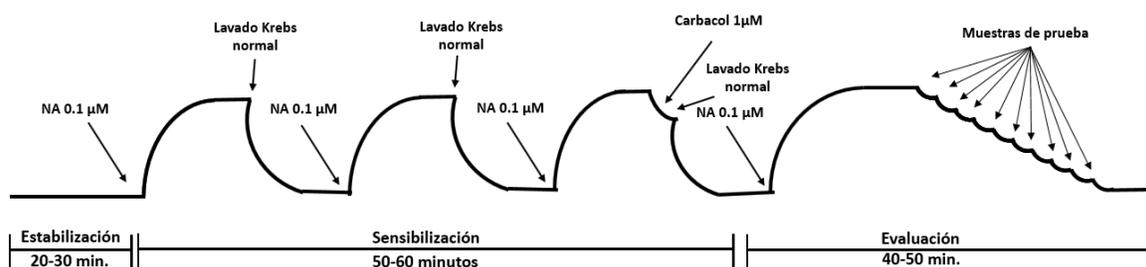
### 6.7.2 Sistema para determinar el efecto vasorrelajante

La determinación del efecto vasorrelajante se hizo en anillos de aorta aislada de rata, se colocaron en 10 mL de solución de Ringer-Krebs [mM] NaCl (118), glucosa (11.4), NaHCO<sub>3</sub> (25), KCl (4.7), MgSO<sub>4</sub> (1.2), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1.2), EDTA (0.026), CaCl<sub>2</sub> (2.5)], a pH 7.4 con burbujeo constante de carbógeno (O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>, 95:5%), a temperatura constante de 37°C en baño recirculador. Cada anillo se colocó en la cámara de incubación, unida con un gancho al extremo de la cámara y, a un transductor de fuerza Grass modelo FT 03 el cual emite los registros, que envía a un polígrafo UIM 100C (Biopac systems).

### 6.7.3 Evaluación del efecto vasorrelajante

Para evaluar el efecto relajante, se empleó un modelo *ex vivo* de anillos de aorta en presencia y ausencia de endotelio vascular, los anillos se sometieron a tensión basal de 3 g de fuerza, con un periodo de estabilización de 30 min. Posteriormente, el tejido fue sometido a sensibilización durante 15 min estimulando con NA [0.1 µM] a intervalos de 30 min (por triplicado). Posterior a cada estimulación, el tejido se lavó con solución de Ringer-Krebs para recuperar la tensión basal. Se verificó la presencia o ausencia de endotelio, al adicionar carbacol [1 µM] antes del lavado en

la tercera contracción. Posteriormente, se generó una cuarta contracción, y una vez que se obtuvo la meseta de la contracción, se adicionaron las muestras de prueba de forma acumulativa [3-1000  $\mu\text{g/mL}$ ] en  $\frac{1}{4}$  de logaritmo. Finalmente, se construyeron curvas concentración-respuesta (CCR), y se calculó la concentración efectiva 50 ( $\text{CE}_{50}$ ) de los extractos evaluados, para esto se usó el programa AcqKnowledge (Biopac, Figura 10).



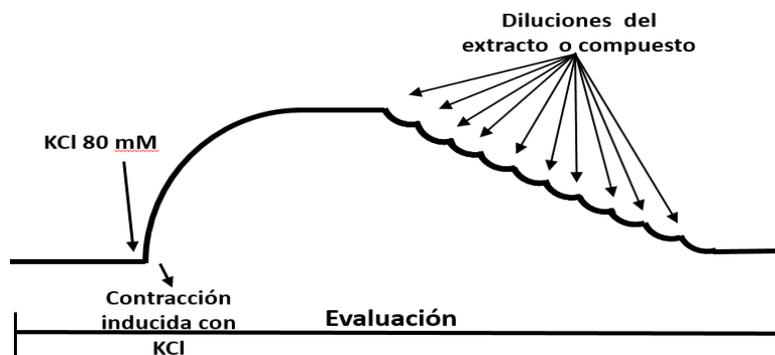
**Figura 10.** Evaluación del efecto vasorrelajante sobre aorta aislada de rata.

#### 6.7.4 Determinación del mecanismo de acción sobre aorta aislada de rata del extracto más activo (EHL0)

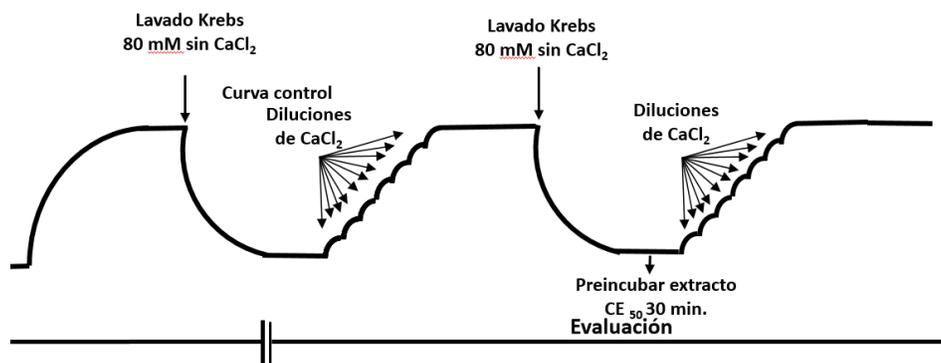
La determinación del mecanismo de acción se obtuvo con la metodología mencionada en la página 46, empleando la  $\text{CE}_{50}$  del EHL0, extracto que fue el más activo en estudios previos.

### 6.7.5. Participación de los canales de calcio en contracciones inducidas por $\text{CaCl}_2$ y KCl

Con la finalidad de evidenciar si el efecto relajante de la musculatura lisa se relaciona con el bloqueo de canales de calcio, se construyeron CCR posterior a la contracción inducida con KCl [80mM] y adición, en forma acumulativa, del EHLo (Figura 11); como el EHLo provocó vasorrelajación significativa a la contracción inducida por KCl, se prosiguió a construir CCR con  $\text{CaCl}_2$  [0.081-27.03mM], para determinar si el EHLo actúa por bloqueo de canales de calcio de la membrana celular (Figura 12).



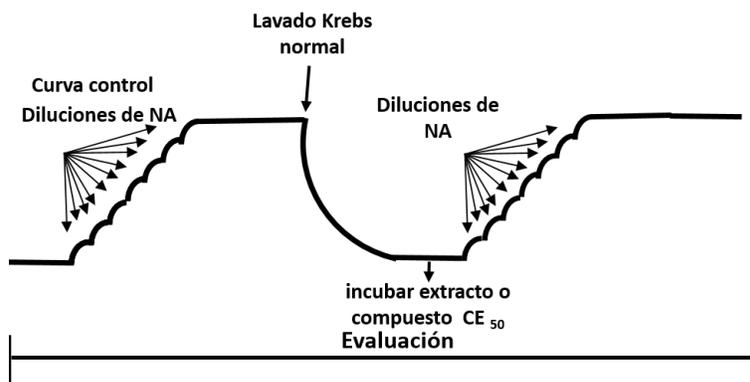
**Figura 11.** Determinación de la participación de canales de calcio en contracciones inducidas por KCl [80mM].



**Figura 12.** Determinación de la participación de canales de calcio en contracciones inducidas por  $\text{CaCl}_2$ .

### 6.7.8 Participación de los receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos

Este ensayo determina si el mecanismo de acción funcional se relaciona con el antagonismo de los receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos; se construyó la CCR control, agregando diluciones de NA [0.03-10 $\mu\text{M}$ ] de forma acumulativa, se lavó el tejido hasta llegar al estado basal, se incubó con la  $\text{CE}_{50}$  del EHLo durante 15 minutos y se agregó nuevamente de forma acumulativa NA [0.03-10 $\mu\text{M}$ ] (Figura 13), al finalizar el ensayo se analizaron las CCR.



**Figura 13.** Determinación de receptores  $\alpha$ 1-adrenérgicos en anillos de aorta aislada de rata sin endotelio.

### 6.8 Determinación del efecto antihipertensivo agudo no invasivo en ratas SHR

Se emplearon ratas macho SHR de 250 a 300g de peso, alimentadas *ad libitum* con libre acceso a agua, se formaron 3 grupos (n=6 animales por grupo), al grupo control se administró amlodipino vía intragástrica, al grupo vehículo se administró tween 80 al 10% y al grupo de prueba se administró 100 mg/kg del EHL0; se midió con el pletismógrafo la presión arterial sistólica (PAS), la presión arterial diastólica (PAD) y la frecuencia cardíaca (FC) a los tiempos 0, 1, 3, 5 y 7 horas posteriores a la administración.

### 6.9. Determinación del efecto antihyperglucémico *in vivo* en ratas

Para determinar el efecto antihyperglucémico del extracto diclorometánico de *L. octovalvis*, se construyeron curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) y curvas de tolerancia a la sacarosa (CTS) en ratas Wistar, respectivamente, y como controles positivos se utilizaron glibenclamida y acarbosa.

## 6.9.1 Curvas de tolerancia a glucosa y a sacarosa

Para este ensayo se ayunaron las ratas 16 horas con libre acceso de agua, posteriormente, las ratas fueron pesadas y se formaron los grupos correspondientes (n=5).

Previo al inicio del ensayo y a las administraciones de fármacos, se midió la glucosa (T<sub>0</sub>), posteriormente, se administró vía i.g. al grupo vehículo: tween 80 al 10%; control positivo: glibenclamida (10 mg/kg) o acarbosa (10 mg/kg) y grupo de prueba: extracto diclorometánico (132 mg/kg). 30 minutos después se administró una carga de glucosa (2 g/kg) o sacarosa (5 g/kg), a partir de este momento se midió la glucemia a los tiempos 0.5, 1, 2 y 3 horas. Finalmente, se construyeron las gráficas correspondientes.

## 6.10 Determinación del efecto antidiabético agudo

### 6.10.1 Diabetización

Para la obtención del modelo experimental de diabetes no insulino dependiente en (DENID), los animales fueron puestos en ayuno previo de 8 horas, y se les administró vía intraperitoneal nicotinamida (40 mg/kg), la cual se disolvió en agua destilada, y 15 minutos después se administraron 85 mg/kg de estreptozotocina (STZ) disuelta en un buffer frío de citratos a un pH 4.5 **(Cerón-Romero, 2016)**.

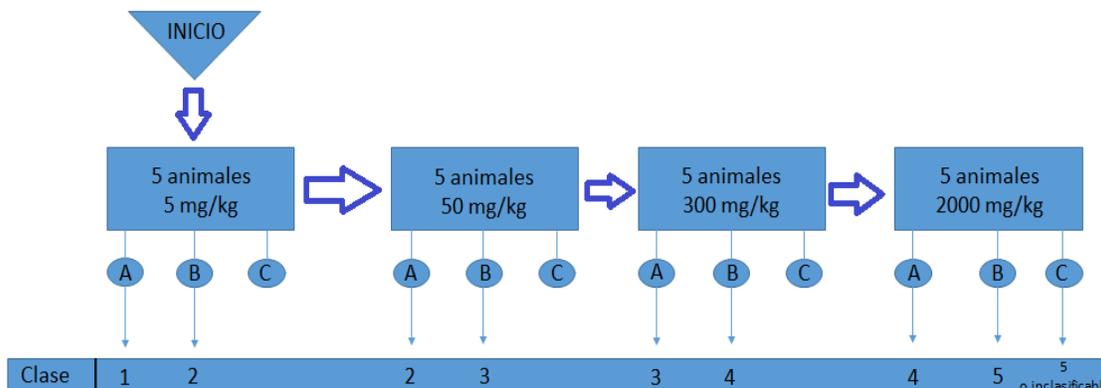
Después de dos semanas de la diabetización, se monitorearon los niveles de glucemia a cada uno de los animales, se eligieron para este estudio aquellos que presentaron glucemias mayores a 140 mg/dL y menores de 250 mg/dL **(Cerón-Romero, 2016)**

## 6.10.2 Evaluación antidiabética

Se colocaron los ratones en ayuno previo de 13 horas se pesaron para formar 3 grupos a los cuales se les administró vía intragástrica: grupo vehículo: agua o tween 80 al 10%, control positivo: glibenclamida (10 mg/kg) y grupo de prueba: extracto (100 mg/kg). Finalmente, se midieron los niveles de glucosa a las horas 1, 3, 5 y 7 horas posteriores a la administración y se construyeron las gráficas correspondientes.

## 6.11 Evaluación toxicológica

Para determinar el efecto toxicológico agudo se eligió el extracto hexánico de *L. octovalvis*, ya que mostró mayor actividad vasorrelajante en los ensayos *in vitro* (Figura 14).



**Figura 14.** Toxicidad oral aguda evaluada siguiendo las pautas modificadas de la prueba de la OCDE (OCDE, 2001).

## 6.12 Determinación del efecto toxicológico agudo *in vivo* de EHLo

Este ensayo siguió la guía 423 de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (**OECD, 2008**), para un modelo de toxicidad aguda *in vivo*, con algunas modificaciones.

Se utilizaron ratones macho de la cepa CD1, con ayuno de 8 horas y libre acceso de agua previo al inicio del ensayo. Los animales se dividieron en 4 grupos (n= 3), a cada grupo se administró el extracto hexánico de *L. octovalvis*, vía i.g. (5, 50, 300 y 2000 mg/kg de peso).

Durante el ensayo se monitoreó a los animales durante las primeras 4 horas para observar mortalidad, cambios fisiológicos o conductuales; se observaron a las 24 horas post-administración y durante 14 días más para descartar toxicidad aparente, así como posibles cambios físicos o conductuales.

## 6.12. Determinación del efecto toxicológico subcrónico *in vivo* de EHLo

Se utilizaron ratones macho de la cepa CD1 de 20-30g, se formaron dos grupos (n= 8), al grupo 1 (Sin tratamiento) se administró agua a 0.1 mL/kg vía i.g. al grupo 2 (Con tratamiento) se administró 100 mg/kg del extracto hexánico de *L. octovalvis*.

Una dosis única de 100 mg/kg fue administrada durante 28 días, a la misma hora del día, a los ratones del grupo 2, bajo las mismas condiciones que el grupo 1, con ayuno de 8 horas y libre acceso a agua (**Giles, 2014**).

Durante el experimento, los animales de cada grupo se pesaron al inicio, final e inter-experimento, y se mantuvieron bajo observación después de cada administración, para evaluar su comportamiento. El monitoreo de peso es para

determinar la variación durante todo el periodo de experimentación, que se calculó con la siguiente ecuación:

$$\text{Diferencia de peso} = \text{Peso final} - \text{Peso inicial}$$

Al finalizar el experimento los animales se anestesiaron con pentobarbital sódico (0.1 mL/kg) para obtener la sangre por punción cardiaca directa, y posterior a su sacrificio se obtuvieron los órganos siguientes: hígado, riñón, pulmón y corazón. Estos órganos se lavaron con solución salina a 0.1%, cada tejido se pesó y colocó en formol al 3.6% para su análisis histológico. La muestra de sangre de cada animal se usó para determinar parámetros bioquímicos, como perfiles hepáticos (**Giles, 2014**).

El peso relativo de los órganos para cada grupo experimental se determinó empleando la siguiente ecuación:

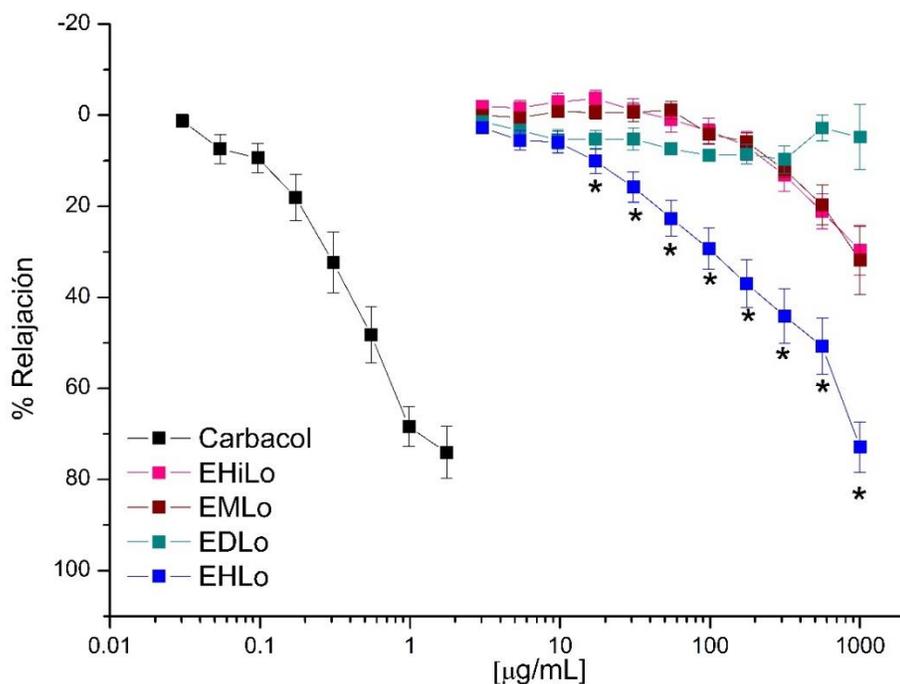
$$(\%) = \frac{\text{Peso del órgano}}{\text{Peso Total del ratón a los 28 días}} \times 100$$

# 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 7.1 Evaluación del efecto relajante en aorta

En un estudio previo, se determinó el efecto vasorrelajante de los extractos orgánicos e hidroalcohólico de *L. octovalvis* sobre anillos de aorta aislada de rata en presencia de endotelio vascular, y se construyeron CCR de todos los extractos evaluados, los cuáles fueron comparados contra el efecto mostrado por el control positivo (carbacol). Como se desprende de la gráfica 1, el extracto hexánico (EHLo) fue el único de ellos que mostró una eficacia similar a la mostrada por el control positivo, sin embargo, fue menos potente que éste. Tomando en cuenta que EHLo fue el extracto más activo de todos los evaluados, en el presente trabajo decidimos determinar el mecanismo de acción vasorrelajante y la actividad antihipertensiva del extracto mencionado.

Para evaluar el mecanismo de acción funcional, en primer término, se estudió el efecto relajante en anillos de aorta de rata sin endotelio, observándose un efecto similar al mostrado en presencia de este, sin observar diferencia significativa entre ellos. Este dato sugiere que el mecanismo de acción no es dependiente de la presencia de endotelio, y que el efecto relajante está involucrado en interferir en los procesos contráctiles relacionados con las células musculares lisas de los vasos sanguíneo (**Rendón, 2016**).



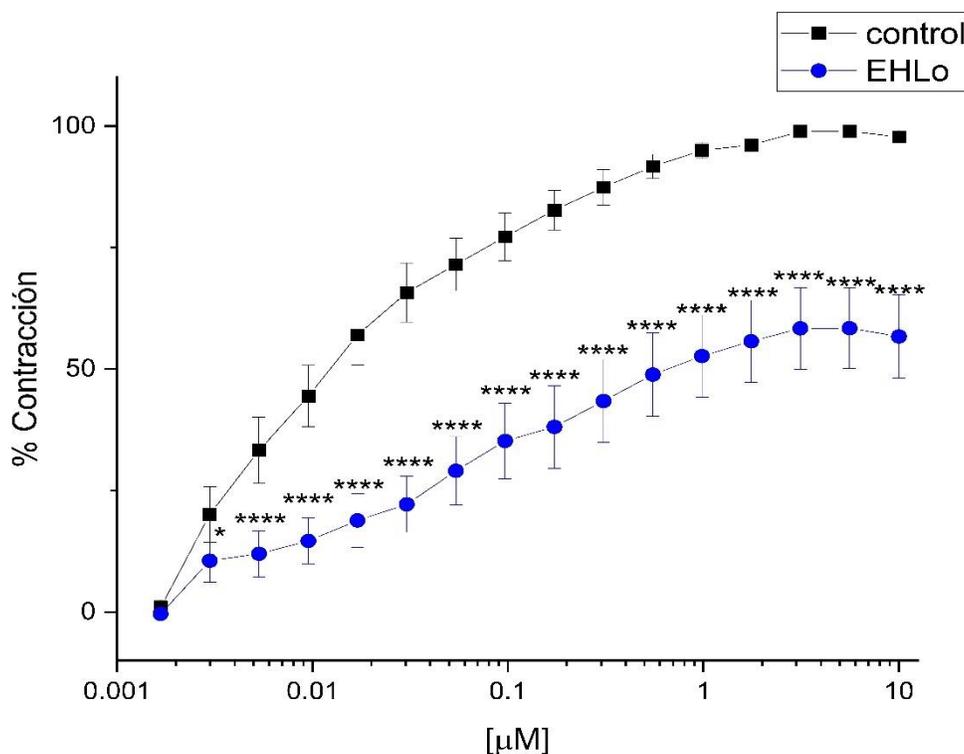
**Gráfico 1.** Efecto vasorrelajante de los extractos obtenidos de *L. octovalvis* sobre aorta aislada de rata. EHL0 vs EDLo, EMLo, EHiLo (\* $p < 0.05$ ).

## 7.2 Participación de los receptores $\alpha_1$ -adrenérgicos.

Los efectos de la adrenalina y noradrenalina están mediados por receptores de 7 dominios transmembranales acoplados a proteína G, denominados receptores adrenérgicos, se clasifican en tres  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  y  $\beta$ , cada uno dividido en 3, distribuidos ampliamente en los tejidos periféricos. La activación de los receptores  $\alpha_1$  por agonistas adrenérgicos estimula la proteína G, aumentan la actividad de la fosfolipasa C con la formación de dos segundos mensajeros, el diacilglicerol (DAG) y el inositol trifosfato ( $\text{IP}_3$ ), este último se une a sus receptores-canal en el retículo

sarcoplásmico y permiten la liberación de calcio hacia el citoplasma que inicia la contracción del músculo liso vascular (**Scanzano, 2015**).

En la gráfica 2 se muestra un antagonismo no competitivo del EHLo, ya que la eficacia de la contracción inducida por el agonista (la noradrenalina) disminuye significativamente en presencia del extracto, sugiriendo que la interferencia en la contracción provocada por la NA es un sitio alostérico o debido a un antagonismo no competitivo funcional a través de la interacción con otras vías de señalización que impidan la contracción, como por ejemplo el bloqueo de canales de calcio, la apertura de los canales de potasio o la inhibición de las fosfodiesterasas (**Rendón, 2016**).



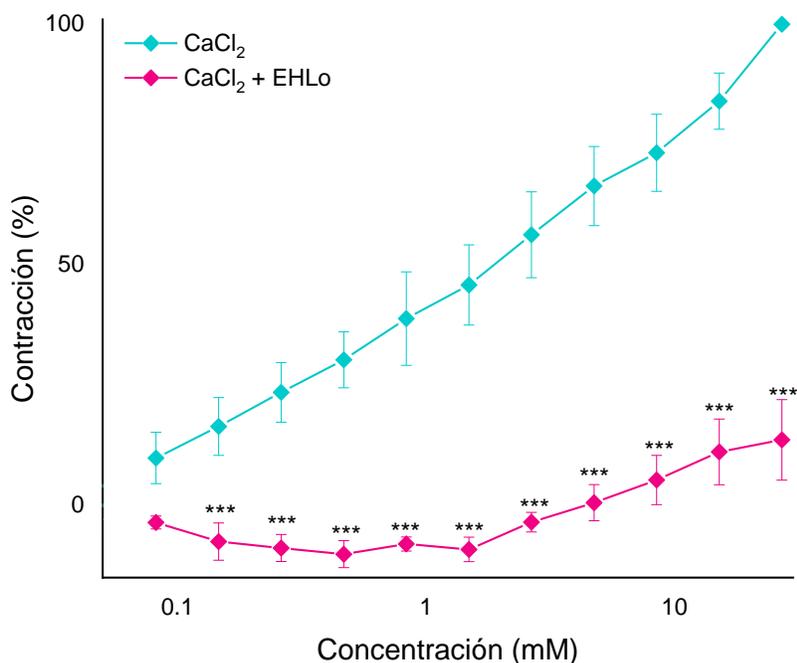
**Gráfica 2.** Efecto de la  $CE_{50}$  [160 µg/mL] del EHLo sobre la contracción inducida por noradrenalina sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *post hoc* Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  control noradrenalina vs. NA +  $CE_{50}$  [160 µg/mL] del EHLo.

### 7.3 Participación de los canales de calcio en contracciones inducidas por KCl y CaCl<sub>2</sub>

Los canales de calcio dependientes de voltaje median el flujo de calcio en respuesta a la despolarización de la membrana, regulando procesos intracelulares como la contracción, la secreción de neurotransmisores o la expresión génica.

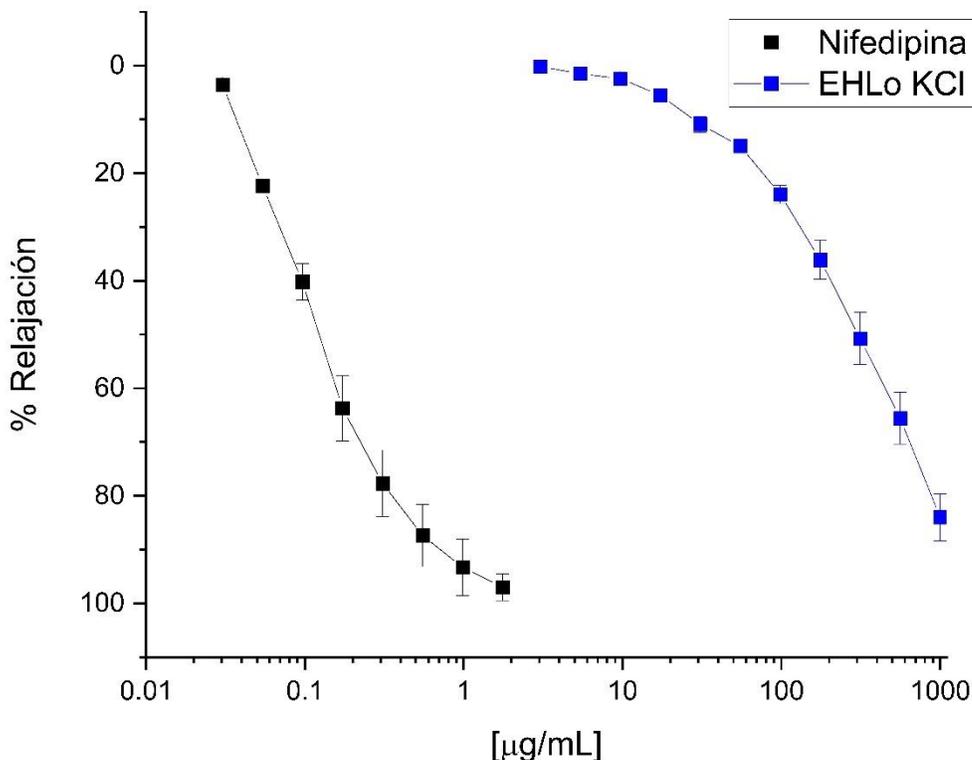
Los canales de calcio se dividen en diferentes tipos agrupándose en canales L, P/Q, N, R y T. Los canales L (*long lasting*) son activados por despolarizaciones intensas, y regulan el flujo prolongado de calcio al interior de la célula, fundamental en la contracción y excitación del músculo esquelético, cardíaco y liso, por lo cual, son blancos farmacológicos para el tratamiento de la hipertensión y la angina de pecho. Por otro lado, los canales T (*transient*) se activan por despolarizaciones débiles y provocan flujo de calcio transitorio, estos canales se expresan en sistema nervioso, cerebro, corazón, riñón e hígado, están relacionados con el ritmo cardíaco, contracción del músculo liso vascular y crecimiento celular, e influyen en la secreción de hormonas como renina, angiotensina II (**Hayashi, 2007**). El bloqueo de los canales L es más relevante en regular las funciones vasculares, ya que es la principal vía de entrada de calcio a las células del músculo esquelético, corazón y riñón; no obstante, el bloqueo de los canales T puede generar efectos benéficos, ya que se inhiben procesos inflamatorios y bloquean el sistema renina-angiotensina o el sistema simpático (**Hayashi, 2005**).

En el siguiente ensayo estudiamos la actividad bloqueadora de los canales de calcio por el extracto hexánico, para empezar a elucidar el mecanismo funcional. Al construir la CCR del EHLo se observa que el extracto se opone a la contracción inducida por CaCl<sub>2</sub> con respecto a la curva control, con significancia desde la segunda adición hasta la última, lo que sugiere que el efecto vasorrelajante es sobre la musculatura lisa del extracto hexánico de *L. octovalvis*, y que podría estar mediado por el bloqueo de los canales de calcio indispensables para la contracción de la musculatura lisa. El efecto observado en la CCR puede atribuirse a los compuestos presentes en el EHLo.



**Gráfico 3.** Efecto de la CE<sub>50</sub> [160 µg/mL] del EHLo en la contracción inducida por CaCl<sub>2</sub> sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *post hoc* Bonferroni \*p<0.05, \*\*\*p<0.001 control CaCl<sub>2</sub> vs. CaCl<sub>2</sub> + CE<sub>50</sub> [160 µg/mL] del EHLo.

Para corroborar el efecto mostrado en el experimento anterior, se construyó una curva concentración-respuesta de relajación a la contracción inducida por KCl (80 mM).

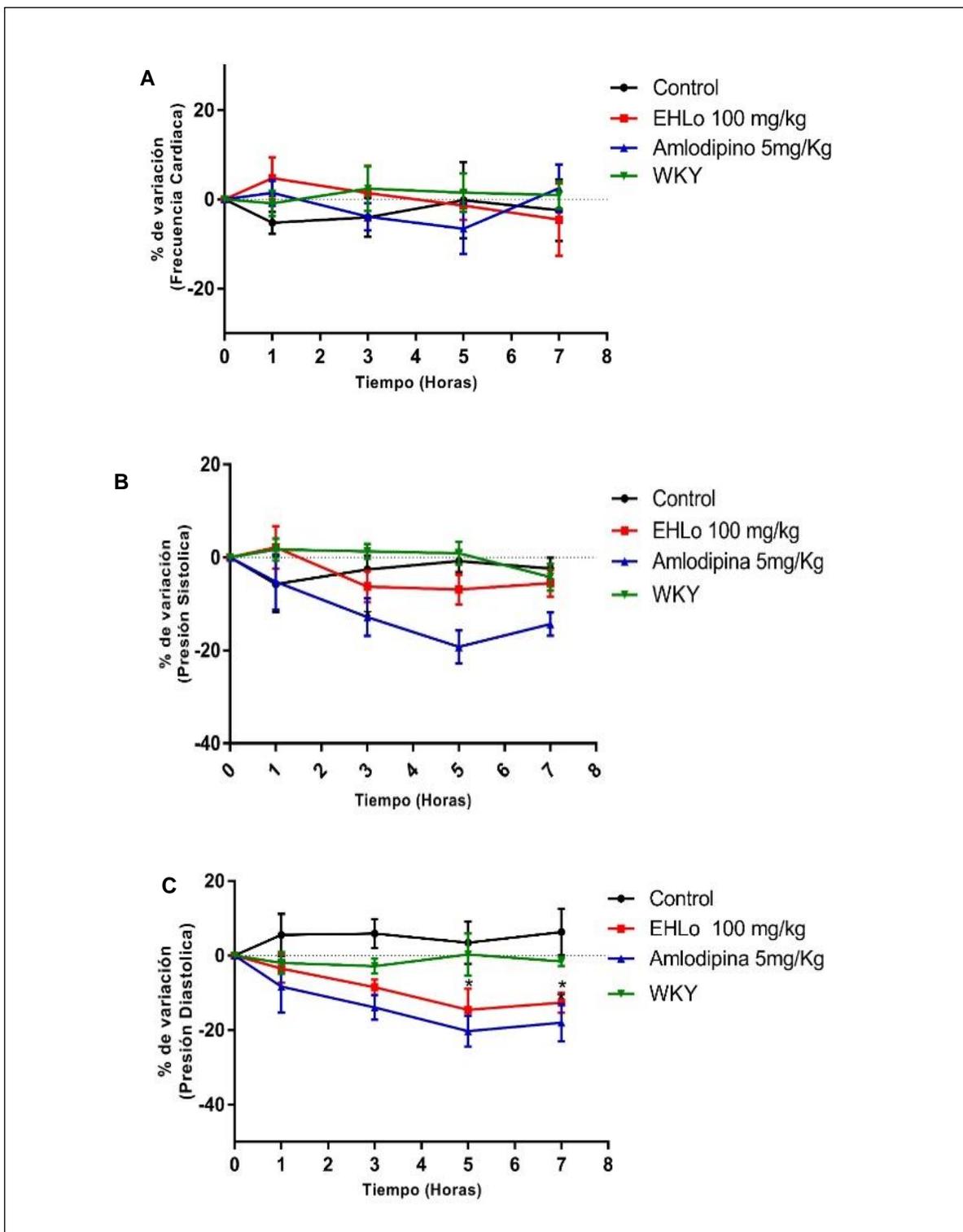


**Gráfico 4.** Efecto de la  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo en la contracción inducida por KCl sobre anillos de aorta aislada de rata sin endotelio. ANOVA de dos vías seguida de una prueba *post hoc* Bonferroni \* $p < 0.05$ , \*\*\* $p < 0.001$  control Nifedipina vs. KCl +  $CE_{50}$  [160  $\mu\text{g/mL}$ ] del EHLo

#### 7.4 Ensayo antihipertensivo *in vivo*.

Adicionalmente para corroborar el efecto antihipertensivo del EHLo se administró, vía i.g., 100 mg/Kg a ratas SHR y se monitoreó PAD, PAS y FC. En el gráfico A de la figura 15 no se observa una disminución de PAS ( $p < 0.05$ ) post-administración, así mismo en el gráfico B se puede observar la disminución de PAD ( $p < 0.05$ ) a partir de la quinta hora manteniendo disminuidos los valores de PAD hasta la séptima hora del ensayo, este efecto puede deberse a la disminución de la

resistencia periférica vascular y por consecuencia la PAD disminuye, este resultado correlaciona con el efecto relajante observado en el modelo *ex vivo* en anillos de aorta, en donde el efecto observado es dependiente de la concentración e independiente de la presencia de endotelio, observando como principal mecanismo de acción el bloqueo de los canales de calcio. De igual manera, podemos observar que el EHL0 presenta un efecto similar al control positivo empleado. Finalmente, en el gráfico C podemos observar que no hubo cambios significativos en la frecuencia cardiaca.

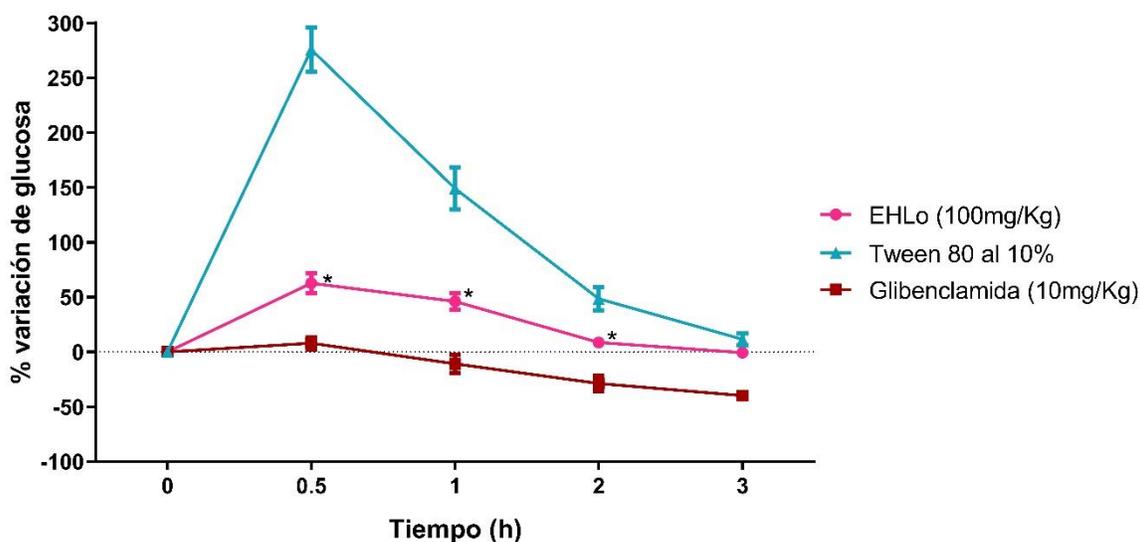


**Figura 15.** Gráficos del ensayo antihipertensivo *in vivo* no invasivo, A) Frecuencia cardiaca, B) Presión sistólica, C) Presión diastólica

## 7.5 Curva de tolerancia a la glucosa

Para determinar la capacidad del EDLo de mantener la glucemia en homeostasis, después administrar una carga de glucosa, se evaluó el extracto con curvas de tolerancia a la glucosa (Chavéz, 2018).

En la gráfica 5 se observa que el EDLo inhibió el pico hiperglucémico a partir de los 30 min post-administración comparado con el vehículo, de forma significativa y la mantuvo durante 2 horas posteriores al inicio del ensayo. Adicionalmente, la gráfica sugiere que el EDLo puede actuar por diferentes mecanismos, entre ellos el bloqueo de los transportadores o cotransportadores de glucosa y como insulinosensibilizador; sin embargo, se necesitan otros ensayos que permitan determinar el mecanismo de acción del extracto evaluado.

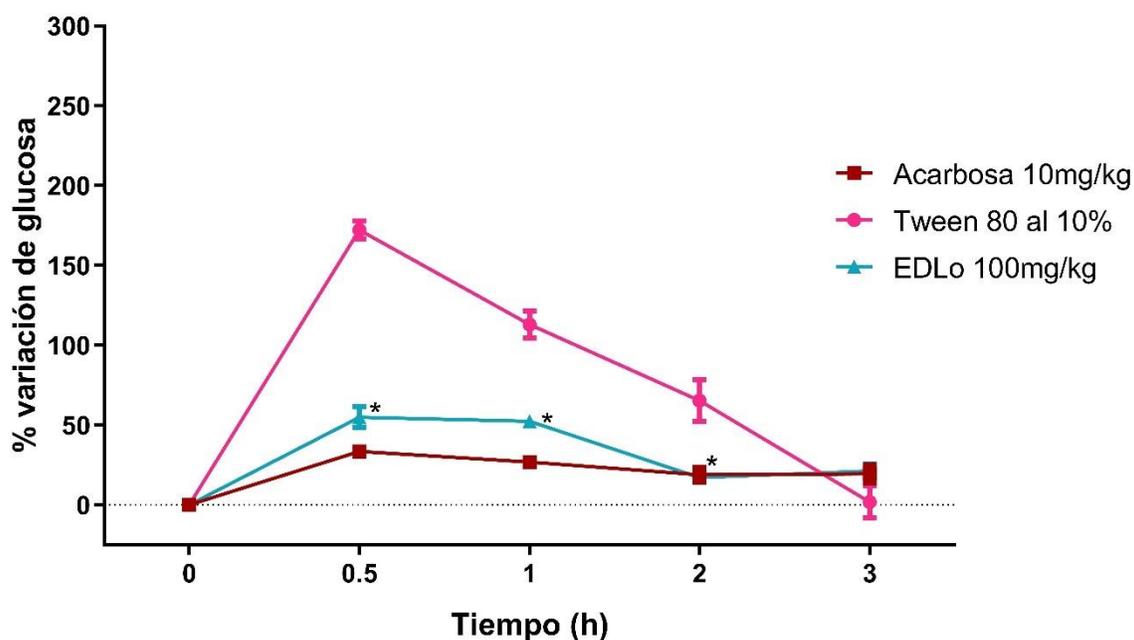


**Gráfico 5.** Curva de tolerancia a la glucosa en ratas normoglucémicas del EDLo (100 mg/kg), vehículo (tween 80 al 10%, 0.1 mL) y glibenclamida (10 mg/kg), administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto (\* $p < 0.05$ ).

## 7.6 Curva de tolerancia a la sacarosa

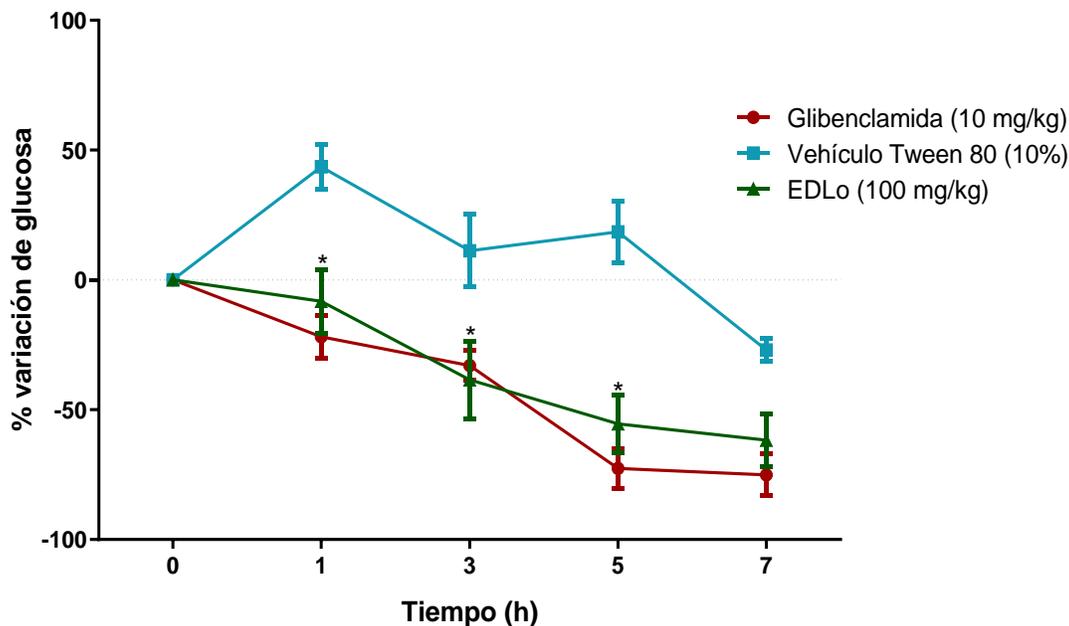
La finalidad de este ensayo es observar la absorción y metabolismo de los disacáridos con respecto a un monosacárido como la glucosa, en este experimento se empleó la sacarosa la cual es un azúcar no reductor, conformada por la unión de la glucosa y la fructuosa mediante enlaces  $\alpha$ -1,4 (McKee, 2014).

En la gráfica 6 se observa que 132 mg/kg del EDLo disminuyó la glucemia de manera significativa con respecto al vehículo, la disminución se mantuvo durante 2 horas del ensayo, además el extracto diclometánico tuvo un patrón similar a la acarbosa, lo cual nos sugiere que podría inhibir las  $\alpha$ -glucosidasas como uno de sus mecanismos de acción al efecto antihiper glucémico posprandial (Morales et al.,2018).



**Gráfico 6.** Curva de tolerancia a la sacarosa en ratas normoglucémicas del EDLo (132 mg/kg), vehículo (tween 80 al 10%, 0.1 mL) y acarbosa (10 mg/kg), administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto (\* $p < 0.05$ ).

### 7.7. Evaluación del efecto antidiabético agudo del EDLo



**Gráfico 7.** Determinación del efecto antidiabético del extracto diclorometano de *L. octovalvis* (100 mg/kg), vehículo (Tween 80 al 10%) y glibenclamida (10 mg/kg), administrados vía intragástrica, vehículo vs EHILo (\* $p < 0.05$ ).

Con la finalidad de determinar la capacidad del EDLo para disminuir los niveles de glucosa en sangre, se realizó un estudio antidiabético en ratas Wistar empleando un modelo DENID, observando que el EDLo a una dosis de 100 mg/Kg disminuyó de manera significativa los niveles de glucosa en sangre con respecto al vehículo durante las primeras 5 horas que dura dicho ensayo, lo cual, correlaciona con lo descrito por (Lin y col, 2017), quienes reportan el efecto antidiabético de *L. octovalvis* mediante la activación de AMPK en las células musculares.

## 7.8 Determinación del efecto toxicológico agudo *in vivo* del EHLo

El presente ensayo determinó el efecto toxicológico agudo del extracto hexánico, en dosis única de 5, 50, 300 y hasta 2000 mg/kg; durante el experimento los ratones no mostraron reacciones tóxicas visibles (salivación, temblores, letargo, entre otras), cambios físicos en pelaje, ojos, o mucosas, ni conductuales durante los 14 días después de la administración.

De acuerdo con esos resultados y con base en la guía 423 de la OEDC y al Sistema Globalmente Armonizado de la clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA), la DL<sub>50</sub> del EHLo por vía oral se estimó superior a 2000 mg/kg, clasificando al extracto en la categoría 4 compuesto con toxicidad aguda relativa baja, sin dejar de suponer un riesgo para la población vulnerable (Tabla 7). Los resultados concuerdan con lo reportado (Yacob, 2012; Marquina, 2019).

**Tabla 7.** Categorías de peligro de toxicidad aguda por ingestión (modificado de SGA, 2015).

	Categoría 1	Categoría 2	Categoría 3	Categoría 4	Categoría 5
Rango de valores experimentales de toxicidad aguda	0 ≥ 5	5 ≥ 50	50 ≥ 300	300 ≥ 2000	2000 ≥ 5000
Estimación puntual obtenida de toxicidad aguda	0.5	5	100	500	2500
Símbolo	Calavera y tibias cruzadas	Calavera y tibias cruzadas	Calavera y tibias cruzadas	Signo de exclamación	Sin símbolo

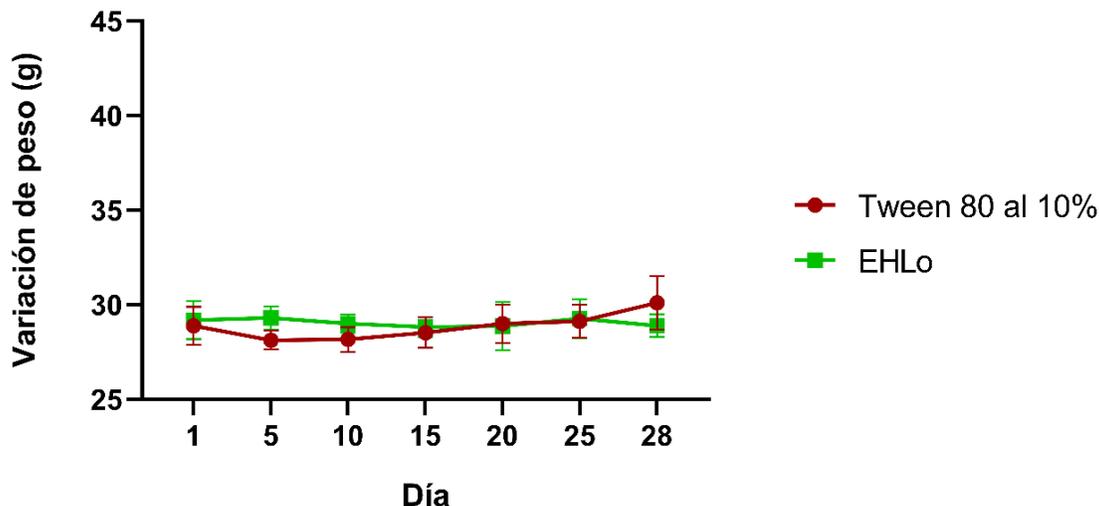
Palabra de advertencia	Peligro	Peligro	Peligro	Atención	Atención
Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión	Mortal en caso de ingestión	Tóxico en caso de ingestión	Nocivo en caso de ingestión	Puede ser nocivo en caso de ingestión

### 7.9 Determinación del efecto toxicológico subcrónico *in vivo* del EHLo

El ensayo de toxicidad subcrónico fue con la dosis de 100mg/Kg del EHLo, para observar posibles efectos tóxicos a mediano plazo. Se formaron 3 grupos experimentales, el grupo con tratamiento (n=3) y grupo vehículo (n=3). Los dos grupos fueron administrados vía intragástrica bajo las mismas condiciones de experimentación durante 28 días.

#### 7.9.1 Variación de peso de los animales

En la gráfica 8 se muestra la variación de peso de los ratones durante el tiempo que duró el experimento. En el ensayo el peso de los ratones se mantuvo constante, por lo cual, el EHLo no mostró variación significativa de peso con respecto al vehículo, por lo tanto, el extracto no influye en la variación de peso de los animales en el mediano plazo.

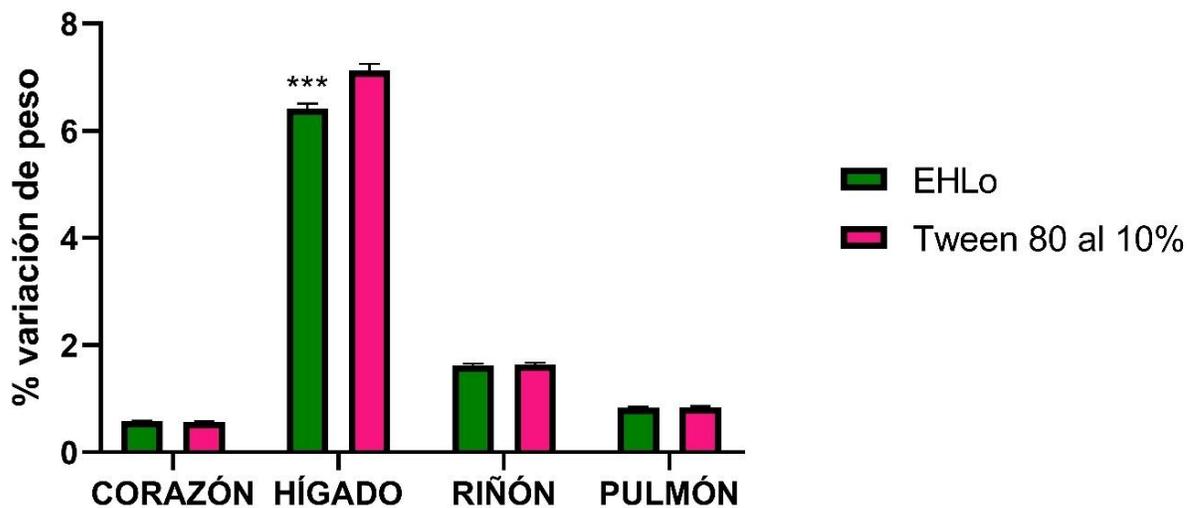


**Gráfico 8.** Variación de peso de peso de los ratones durante el estudio subcrónico administrados vía intragástrica. Vehículo vs. extracto vs. agua (\* $p < 0.05$ ).

### 7.9.2 Variación de peso de órganos

Después de 28 días, los animales se anestesiaron para obtener sangre por punción cardiaca y determinar el perfil bioquímico, se extrajeron los siguientes órganos: hígado, pulmón, riñón y corazón, los cuales fueron pesados y colocados en formol para su estudio histológico.

En la gráfica 9 se muestra la variación de peso de los órganos extraídos, donde el corazón, el riñón y el pulmón de los ratones expuestos al EHL0 tuvieron peso similar a los órganos de aquellos con tween 80 al 10%; sin embargo, el peso del hígado de los ratones con el extracto hexánico disminuyó significativamente en comparación al vehículo, la disminución puede estar asociada con daño hepático.



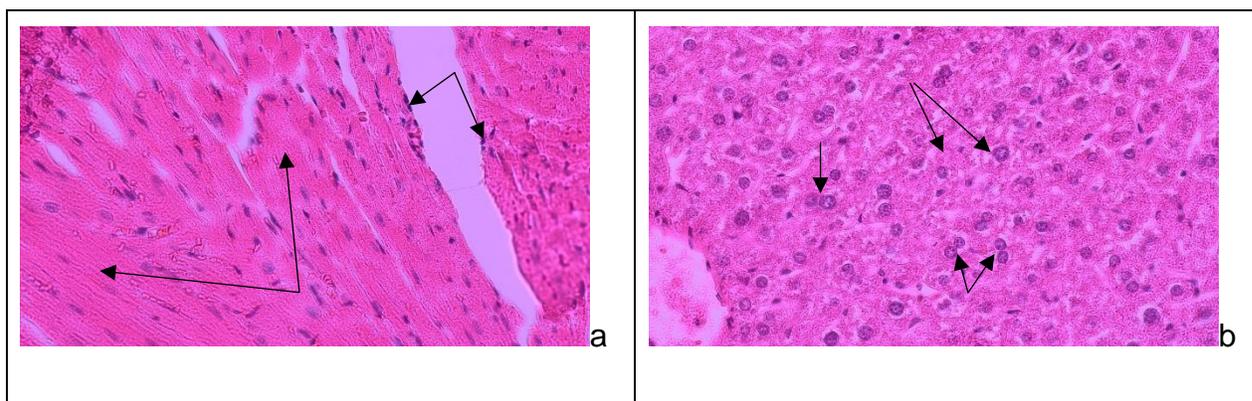
**Gráfico 9.** Variación de peso de los órganos aislados de ratones CD-1

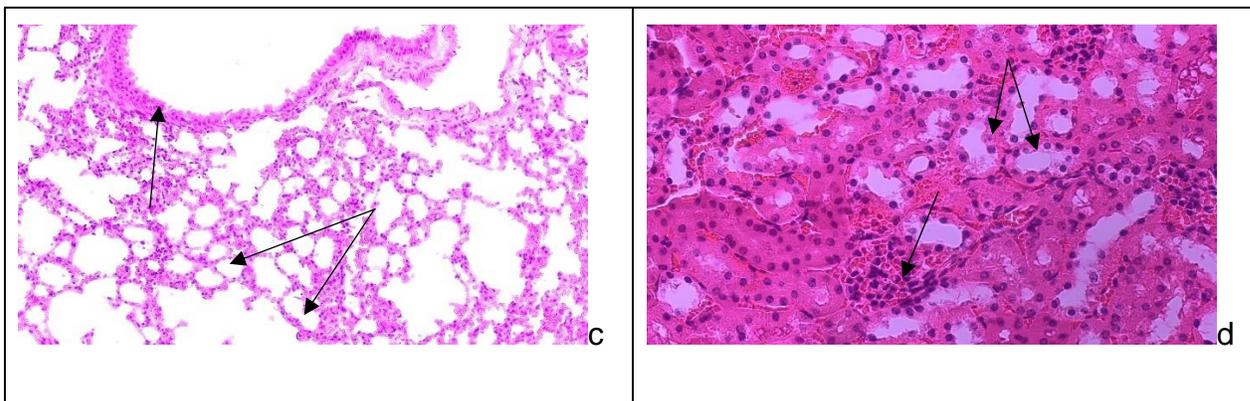
### 7.9.3 Histología de los órganos extraídos

Para complementar el ensayo toxicológico del EHLo, se hizo el análisis histológico de los órganos (corazón, hígado, pulmón y riñón). Los tejidos disecados se fijaron en alcohol absoluto y después en solución acuosa de xilol; se incluyeron en parafina y de los bloques se hicieron cortes con un grosor de  $4\mu\text{M}$  en un micrótopo, se colocaron sobre un portaobjetos y tiñeron con hematoxilina-eosina en agua y ya que la eosina es más soluble en alcohol que en agua, se vuelve a deshidratar la muestra con soluciones alcohólicas de concentración creciente y después se tiñe con eosina en alcohol, al finalizar la muestra se pasa por xilol y se coloca un medio de montaje y un cubreobjetos. La técnica de tinción se hizo en colaboración del laboratorio de histología del INER.

En la figura 16 se muestran las histologías de los órganos de ratones con EHLo, teñidas con hematoxilina y eosina; Los cardiomiocitos, las fibras musculares, y los núcleos definidos sin infiltración, no muestran daños aparentes (Figura 16a). En la

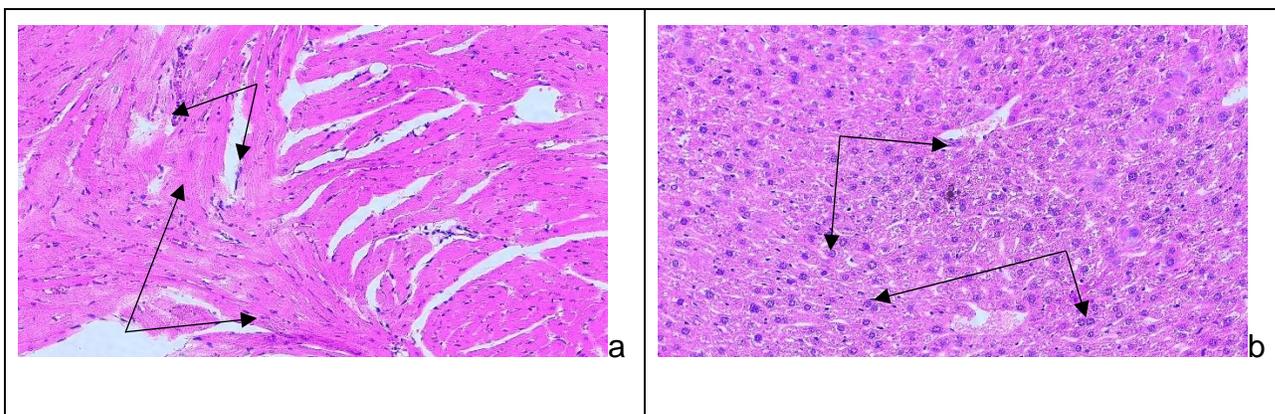
figura (16b) se observan los núcleos de los hepatocitos de color azul, el color se debe a los grupos catiónicos de la hemateína de alumbre, la cual tiñe de color azul-purpura a los ácidos nucleicos de los núcleos celulares, mientras que la eosina, colorante ácido, tiñe de color rosa componentes catiónicos, como estructuras proteicas, citoplasma celular, fibras y membranas basales (**Santos, 2017**); se pueden identificar células de Kupffer, de núcleo grande y abundante citoplasma, estas células se relacionan con la reparación de diversas lesiones que puedan generarse en el hígado, asimismo hay células binucleadas diploides y tetraploides, por lo que se espera un aumento significativo en la concentración? de las transaminasas, pese a observarse células características de daño hepático, el tejido no muestra necrosis celular. En el pulmón (Figura 16c) se observan espacios alveolares, así como un vaso capilar, de color azul se aprecian los núcleos de los neumocitos sin daño aparente. En la figura (16d) del riñón se aprecian corpúsculos renales, así como túbulos renales que pueden ser proximales, distales o colectores. Los túbulos contorneados proximales son los más abundantes, con revestimiento de epitelio cilíndrico simple con microvellosidades, diámetro externo mayor; mientras que los túbulos contorneados distales con revestimiento de epitelio cúbico simple y superficie definida y nítida, en color azul se observan los núcleos de las células renales con morfología normal sin daños aparentes.

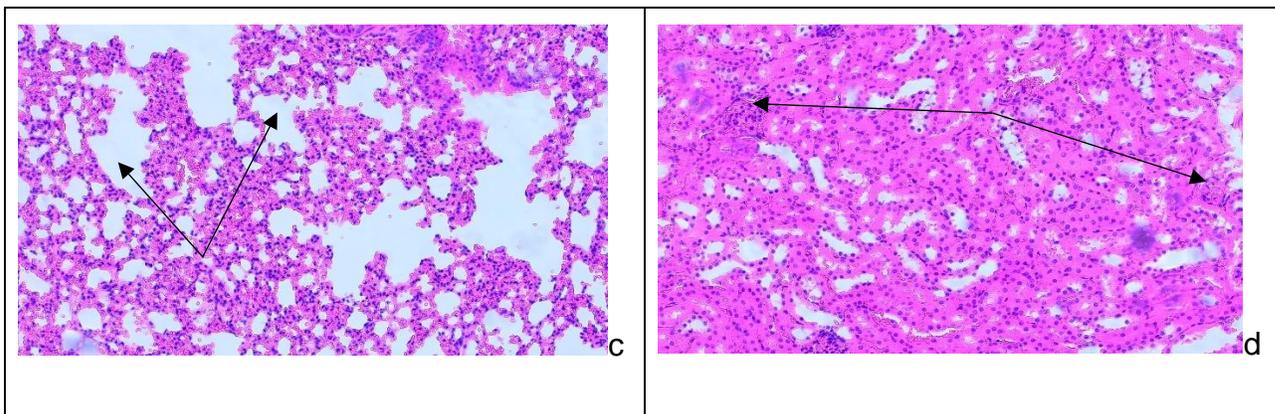




**Figura 16.** Histología de los órganos de ratón administrados con el EHLo vía intragástrica.

En el tejido cardiaco (Figura 17a) se observan fibras musculares teñidas de color rosa y en color azul los núcleos de las células musculares, el tejido no muestra daño alguno. En la figura (17b) del tejido hepático hay células de Kupffer y algunas células binucleadas, sin necrosis hepática; los núcleos de los hepatocitos teñidos de color azul, mientras que el citoplasma teñido de color rosa. El tejido de pulmón (Figura 17c) muestra espacios alveolares, los núcleos de los neumocitos son color azul, sin daños aparentes. La (Figura 17d) del tejido renal, muestra núcleos celulares de color azul, el citoplasma y pared celular de color rosa, sin daño histológico aparente.



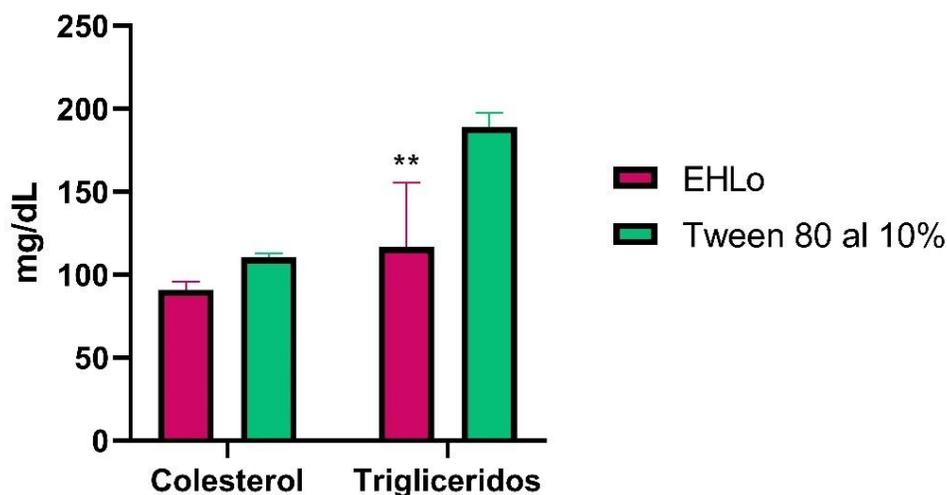


**Figura 17.** Histología de los órganos de ratón administrados con Tween 80 al 10% vía intragástrica.

#### 7.9.4 Perfil bioquímico de la sangre extraída

El colesterol, molécula indispensable para la vida ya que desempeña funciones estructurales y metabólicas vitales se puede localizar en la membrana celular brindando fluidez y permeabilidad, es precursor de biomoléculas como hormonas esteroideas, vitamina D y ácidos biliares, el colesterol puede provenir de la dieta del ser humano o puede ser sintetizado por los hepatocitos; elevadas concentraciones de colesterol en sangre pueden ocasionar alteraciones como hipercolesterolemia, que promueve la disfunción endotelial causada por aterosclerosis, siendo un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares **(Maldonado, 2012)**. Por otro lado, los triglicéridos son ésteres de ácidos grasos y glicerina, los triglicéridos forman parte de la familia más abundante de los lípidos, de se consideran de depósito y son sintetizados por hepatocitos y adipocitos **(Lehninger, 1997)**. El colesterol y los triglicéridos en concentraciones altas se depositan en las paredes internas de las arterias, principalmente en cerebro y corazón generando placas o ateromas que reducen la luz interna vascular **(Ross, 1994)**.

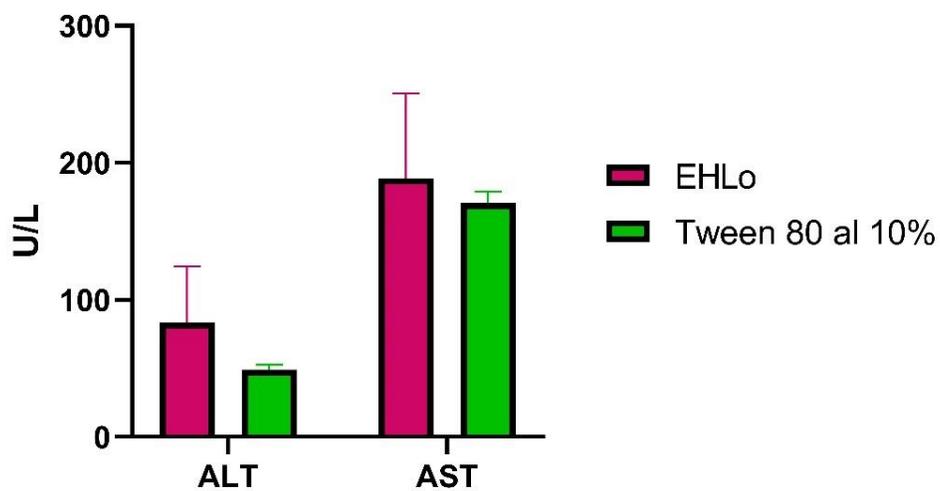
En la gráfica 10 se muestra la colesterolemia de los ratones con EHLo fue menor a la de ratones con Tween 80 al 10%, la disminución no fue significativa; sin embargo, los ratones con el extracto hexánico tuvieron menor trigliceridemia, el EHLo reduce significativamente este metabolito en sangre y el riesgo de la formación de ateromas.



**Gráfico 10.** Perfil lipídico de ratones CD-1.

Las transaminasas son enzimas intracelulares que catalizan reacciones de transaminación, se localizan en diversos tejidos del organismo, siendo más comunes en hígado; su aumento en la sangre sugiere daño hepático (**Cortés, 2009**).

Los ratones con EHLo mostraron mayor actividad de transaminasas en sangre en comparación con los animales con vehículo, el incremento se asocia con la reducción significativa en el peso del hígado (gráfica 9), así como lo observado en la (Figura 16b) en la histología del hígado: células binucleadas y células de Kupffer, relacionadas con el daño hepático.



**Gráfico 11.** Perfil hepático de ratones CD-1.

# 8 CONCLUSIONES

- El extracto hexánico de *Ludwigia octovalvis* bloqueó los canales de calcio como mecanismo de acción, ya que se opuso a la contracción inducida por  $\text{CaCl}_2$  en el ensayo sobre la participación de canales de calcio, empleando  $\text{CaCl}_2$  y tuvo antagonismo no competitivo en el ensayo sobre receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos, este efecto se correlaciona con la disminución de la presión arterial diastólica mostrada en el modelo *in vivo*.
- B2 tiene una  $\text{DL}_{50}$  mayor a 2000 mg/kg y no mostró toxicidad aguda aparente, clasificándolo en categoría 4 de acuerdo con los lineamientos de la SGA.
- El extracto hexánico de *L. octovalvis* disminuyó significativamente los triglicéridos en sangre, y aunque aumentó la actividad de ALT y AST el extracto no generó necrosis hepática o daños en los órganos aislados.
- El extracto diclorometánico de *L. octovalvis* mostró acción antihiper glucémica significativa en la CTG y CTS lo que podría deberse al bloqueo de los transportadores de glucosa y/o a la inhibición de las enzimas  $\alpha$ -glucosidasas reportadas en estudios previos, respectivamente. Los efectos mostrados anteriormente, correlacionan directamente con la actividad antidiabética aguda mostrada por el extracto.

# 9 PERSPECTIVAS

9.1 Obtener y caracterizar los compuestos bioactivos de los extractos EHLo y EDLo, respectivamente.

9.2 Evaluar el efecto antidiabético sub-crónico del EDLo.

9.3 Determinar el posible efecto toxicológico del EDLo en los modelos mencionados en el manuscrito.

# 10.REFERENCIAS

American Diabetes Association. (2019a). American Diabetes Association annual clinical practice guidelines now available. *Standards of Medical Care in Diabetes*, (42) 1406-1415.

American Diabetes Association. (2019b). Estándares para la atención médica de la diabetes, (42) 2(Suppl. 1): S1-S193.

Donna-K. A. Blumenthal, RS, Albert, MA, Buroker, AB, Goldberger, ZD, Hahn, EJ. & Michos, ED (2019). Directriz ACC / AHA de 2019 sobre prevención primaria de enfermedades cardiovasculares: un informe del Grupo de Trabajo del Colegio Americano de Cardiología / Asociación Americana del Corazón sobre Pautas de Práctica Clínica. *Revista del Colegio Americano de Cardiología*, 74 (10), e177-e232.

Bragulat-E., & de la Sierra Iserte, A. (2001). Hipertensión arterial y riesgo cardiovascular. *Medicina integral: Medicina preventiva y asistencial en atención primaria de la salud*, 37(5), 197-202.

Brajkovich-I., Izquierdo, M., Nieto, R., & Cordero, M. (2012). Tratamiento no farmacológico: aspectos nutricionales, estilo de vida y actividad física. cirugía bariátrica. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(1), 47-57.

Campos-Nonato, I., Hernández-Barrera, L., Pedroza-Tobías, A., Medina, C., & Barquera, S. (2018). Hipertensión arterial en adultos mexicanos: prevalencia, diagnóstico y tipo de tratamiento. Ensanut MC 2016. *salud pública de México*, 60, 233-243.

Carvajal Carvajal, C. (2017). El endotelio: estructura, función y disfunción endotelial. *Medicina Legal de Costa Rica*, 34(2), 90-100.

Centelles, J. J., Redondo, C. E., & Imperial, S. (2004). Óxido nítrico: un gas tóxico que actúa como regulador de la presión sanguínea. *Offarm: farmacia y sociedad*, 23(11), 96-102.

Cerón-Romero L. 2016 “Estudio del efecto antidiabético subagudo de un derivado semisintético del ácido morónico en un modelo experimental de diabetes no insulino dependiente y determinación de factores moleculares”. Tesis de maestría, UAEM.

C-I. Chang Kuo, C. C., Chang, J. Y., & Kuo, Y. H. (2004). Three new oleanane-type triterpenes from *Ludwigia octovalvis* with cytotoxic activity against two human cancer cell lines. *Journal of Natural Products*, 67(1), 91-93.

Chaudhury-Arun, Duvoor, C., Dendi, R., Sena, V., Kraleti, S., Chada, A., ... & Kuriakose, K. (2017). Clinical review of antidiabetic drugs: implications for type 2 diabetes mellitus management. *Frontiers in endocrinology*, 8, 6.

Chávez Silva. (2018). Estudio Químico Farmacológico y Toxicológico de Plantas Medicinales Utilizadas Para El Tratamiento de La Diabetes Mellitus. Tesis de doctorado. UAEM.

Cortés Marina, R. B. (2009). Del síntoma a la enfermedad: elevación de transaminasas. *Pediatría Atención Primaria*, 11, 433-436.

Dandelot-S., Verlaque, R., Dutartre, A., & Cazaubon, A. (2005). Ecological, dynamic and taxonomic problems due to *Ludwigia* (Onagraceae) in France. *Hydrobiologia*, 551(1), 131-136.

Das-Bidyadhar., Kundu, J., Bachar, S. C., Uddin, M. A., & Kundu, J. K. (2007). Antitumor and antibacterial activity of ethylacetate extract of *Ludwigia hysopifolia* linn and its active principle piperine. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20(2), 128-131.

Elifantz-H., & Tel-Or, E. (2002). Heavy metal biosorption by plant biomass of the macrophyte *Ludwigia stolonifera*. *Water, air, and soil pollution*, 141(1-4), 207-218.

Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT). (2018), Instituto Nacional de Salud Pública.

Federación Mexicana de Diabetes. (2018). La diabetes en México. 10/feb/2019, de Federación Mexicana de Diabetes Sitio web: <http://fmdiabetes.org/la-diabetes-mexico/>

Flores-Flores A. 2011. “Compuestos vasorrelajantes obtenidos del estudio fitoquímico biodirigido del extracto activo diclorometánico de *Agastache mexicana*”. Tesis de Licenciatura, UAEM.

Gallego, D., Mañé, N., Gil, V., Martínez-Cutillas, M., & Jiménez, M. (2016). Mecanismos responsables de la relajación neuromuscular en el tracto gastrointestinal. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 108(11), 721-731.

García de Alba-García, Javier E., Ramírez Hernández, Blanca C., Robles Arellano, Gilberto, Zañudo Hernández, Julia, Salcedo Rocha, Ana L., & García de Alba Verduzco, Javier E. (2012). Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. *Desacatos*, (39), 29-44.

Giles-Rivas D. (2014) Estudio antihiper glucémico y toxicológico de plantas medicinales utilizadas para el tratamiento de la diabetes Tesis de maestría, UAEM.

Gijón-Conde, T., Gorostidi, M., Camafort, M., Abad-Cardiel, M., Martín-Rioboo, E., Morales-Olivas, F., ... & De La Sierra, A. (2018). Documento de la Sociedad Española de Hipertensión-Liga Española para la Lucha contra la Hipertensión Arterial (SEH-LELHA) sobre las guías ACC/AHA 2017 de hipertensión arterial. *Hipertensión y riesgo vascular*, 35(3), 119-129.

Giner-Galvan, V. Giner, M. E., Giner, M. F., & i Mas, J. R. (2004). Tratamiento farmacológico combinado en el manejo de la hipertensión arterial crónica esencial. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, 21(3), 139-157.

Hall, J. E., & Hall, M. E. (2020). *Guyton and Hall textbook of medical physiology e-Book*. Elsevier Health Sciences.

Hayashi, K., Wakino, S., Homma, K., Sugano, N., & Saruta, T. (2005). Pathophysiological significance of T-type Ca<sup>2+</sup> channels: role of T-type Ca<sup>2+</sup> channels in renal microcirculation. *Journal of pharmacological sciences*, 99(3), 221-227.

Hayashi, K., Wakino, S., Sugano, N., Ozawa, Y., Homma, K., & Saruta, T. (2007). Ca<sup>2+</sup> channel subtypes and pharmacology in the kidney. *Circulation research*, 100(3), 342-353.

Instituto Mexicano del Seguro Social (2017) “Diagnóstico y tratamiento de hipertensión arterial en el adulto mayor”. *Guía de práctica clínica*

Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2018). Mujeres y hombres en México 2018. Páginas 1-60.

International Diabetes Federation. IDF (2021). Diabetes, 10 ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation, Available at: <http://www.diabetesatlas.org>

Lehninger AL. Bioquímica. Las Bases Moleculares de la Estructura y la Función Celular. 3ra ed. Omega. Barcelona, 2019

Maldonado Saavedra, O., Ramírez Sánchez, I., García Sánchez, JR, Ceballos Reyes, GM y Méndez Bolaina, E. (2012). Colesterol: función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43 (2), 7-22.

Mancia-Giuseppe, Fagard R, Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, et al. (2013) ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension(ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *Presión arterial*, 22 (4), 193-278.

Marquina-Rodríguez H. (2019) “Determinación del efecto antidiabético y toxicológico agudo en modelos murinos y del potencial relajante de la musculatura lisa *ex vivo* de *Ludwigia octovalvis*” Tesis de Licenciatura, UAEM.

McKee, T., McKee, J. R., Araiza Martínez, M. E., & Hurtado Chong, A. (2014). *Bioquímica: Las bases moleculares de la vida*.

Mikhed, Y., Daiber, A. & Steven, S. (2015). Mitochondrial oxidative stress, mitochondrial DNA damage and their role in age-related vascular dysfunction. *Int J Mol Sci*, 16, 15918-15953.

Morales-D., Ramirez, G., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., Zavala, M., & Zamilpa, A. (2018). Identification of digestive enzyme inhibitors from *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) PH Raven. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2018.

Mudau, M., Genis, A., Lochner, A. & Strijdom, H. (2012). Endothelial dysfunction: the early predictor of atherosclerosis. *Cardiovasc J Afr*, 23(4), 222-231.

Murugesan-T., Sinha, S., Pal, M., & Saha, B. P. (2002). Review on phytochemical and medicinal aspects of *Jussiaea suferuticosa* Linn. *Ancient Science of Life*, 21(3), 205.

NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.

Organización Mundial de la Salud. Información general sobre la hipertensión en el mundo. 2013. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2013

Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). (2008). Guideline for Testing of Chemicals: Repeated Dosis 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents.

Pérez-Díaz I. (2016). Diabetes mellitus. *Gaceta Médica de México*, 150, 6. 10/feb/2019, De PubMed Base de datos.

Pinheiro-P (2019). “Síntomas, causas y tratamiento”. *Hipertensión arterial* 07/04/20, de MD. Saúde Sitio web: <https://www.mdsaude.com/es/hipertension-arterial/hipertension/#Sintomas>

Planas-Vila, M., de la Cuerda Compés, C., & Luengo Pérez, L. M. (2010). Nutrición artificial domiciliaria. En: Gil Hernández A, director. Tratado de Nutrición, tomo IV. Nutrición clínica, 2ª edición. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana, 201-23.

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-030-SSA2-2017, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento y control de la hipertensión arterial sistémica.

Ramírez-G., Zavala, M., Pérez, J., & Zamilpa, A. (2012). In vitro screening of medicinal plants used in Mexico as antidiabetics with glucosidase and lipase inhibitory activities. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2012.

Ramos-I. R., Rosas, L. S., Acevedo, J. R., & Rentería, A. M. (2015). Cuidado de la biodiversidad y uso de plantas medicinales en indígenas migrantes del municipio de Acapulco, Guerrero. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 1, 409-417.

Rendón-Vallejo, P., Estrada-Soto, S., A Vázquez, M., Hernández-Borja, F., Villalobos-Molina, R., & Ibarra-Barajas, M. (2016). Design, synthesis and ex vivo study of the vasorelaxant activity induced by isosteric derivatives of dihydropyridines (NH→ O). *Letters in Drug Design & Discovery*, 13(5), 353-359.

Renna, N. F., & Miatello, R. M. (2013). Fisiología del músculo liso vascular

Rivera-E. (2000). Diabetes Mellitus: Programa completo para su tratamiento dietético. *México: Editorial Pax México.*

Robles-B. H. (2001). Factores de riesgo para la hipertensión arterial. *Archivos de cardiología de México*, 71(S1), 208-210.

Román-Vargas, J. A., Vázquez-Martínez, V. H., Loera-Morales, I. I., Jesús, I., Cantú-Solís, O. N., Cervantes-Vázquez, D. A., & Bernabé-Adame, C. C. (2016). Epidemiological outlook of the patient with uncontrolled systemic hypertension in a family medicine unit in Reynosa, Tamaulipas. *Atención Familiar*, 23(1), 14-18.

Ross Russell. Aterosclerosis. En: Cecil. Tratado de Medicina Interna. 19va ed. Interamericana. México DF, 1994 p. 337-342.

Sánchez-Recalde, Á., & Kaski, J. C. (2001). Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Revista Española de Cardiología*, 54(6), 751-763

Santa Cruz-N. M., & Zacarías Castillo, R. (2002). Tratamiento farmacológico para la diabetes mellitus. *Rev. Hosp Gral Gea González* 5(1-2), 33-41.

Santos Vidal, S. (2017). Tinción Hematoxilina-Eosina.

Scanzano, A., & Cosentino, M. (2015). Adrenergic regulation of innate immunity: a review. *Frontiers in pharmacology*, 6, 171.

Schlaepfer-Lorraine, & Mendoza-Espinoza, J. A. (2010). Las plantas medicinales en la lucha contra el cáncer, relevancia para México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 41(4), 18-27

SEMERGEN. (2016). Diabetes. En *Guías Clínicas. Diabetes mellitus* (55). España Boehringer Ingelheim y Lilly.

Soejarto-D. D. (2002). *Plant Resources of South-East Asia* 12:(2) Medicinal and Poisonous Plants 2 Edited by JLCH van Valkenburg (Prosea Publication Office, Indonesia) and N. Bunyaphatsara (Mahidol University, Bangkok). Backhuys

Publishers, Leiden, The Netherlands. 2001. 785 pp. 350 Dutch Guilders. ISBN 90-5782-099-4.

Steyers, C. & Miller, F. (2014). Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. *Int J Mol Sci*, 15, 11324- 11349.

Su, J. B. (2015). Vascular endothelial dysfunction and pharmacological treatment. *World J Cardiology*, 7(11), 719-741.

UNAM, M. (2009). Biblioteca digital de la medicina tradicional mexicana. *Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana*.

Valero-R., & Soriano, A. G. (2009). Normas, consejos y clasificaciones sobre hipertensión arterial. *Enfermería Global*, 8(1).

Vasconsuelo-A., Boland R. 2007. Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plants Science*.172, (5). 861-875

Vivot-Lupi, E. P., Sánchez Brizuela, C. I., Cacik Jeifetz, F., & Sequin Acosta, C. J. (2009). Tamizaje de la actividad antifúngica de extractos de especies de la flora de Entre Ríos. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(4), 74-84.

Vivot-Luoi E. P., Sánchez, C., Cacik, F., & Sequin, C. (2012). Actividad antibacteriana en plantas medicinales de la flora de Entre Ríos (Argentina). *Ciencia, Docencia y Tecnología*, 23(45), 165-185.

Wei-Sheng L., Lo, J. H., Yang, J. H., Wang, H. W., Fan, S. Z., Yen, J. H., & Wang, P. Y. (2017). *Ludwigia octovalvis* extract improves glycemic control and memory performance in diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 207, 211-219.

Widlansky, M. & Gutlerman, D. (2011). Regulation of endothelial function by mitochondrial reactive oxygen species. *Antioxidants & Redox Signaling*, 15(6), 1517-1530

Yakob-H. K., Uyub, A. M., & Sulaiman, S. F. (2012). Toxicological evaluation of 80% methanol extract of *Ludwigia octovalvis* (Jacq.) PH Raven leaves (Onagraceae) in BALB/c mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 142(3), 663668.

Yau, J., Teoh, H. & Verma, S. (2015). Endothelial cell control of thrombosis. *BMC Cardiovasc Disorders*, 15,1-11.

**VOTO APROBATORIO PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Hugo Marquina Rodríguez

**Título de la tesis:** “ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**Grado a obtener**

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

Firma del miembro del jurado

Fecha: 13/mayo/22



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JUAN GABRIEL NAVARRETE VAZQUEZ | Fecha:2022-05-13 17:55:15 | Firmante**

hwiDxQ0e4pyXwuzigi43hd+0btdkMA5v+HFkItISAPjQvEq37F1ShCCuoDRogdk6GUTenObDdZCLXIJfw1T1y2EAMNuRyz8Ub9oymxi3gtpU1VjpxXQDG6s1WG6Rjronu3m9wcY3KA3SpuGbD66p32zDrWziQ79KVNhJuABRbpbw6enK2HE7zUxOIBv2DSImXPCYw1Vj0d+Avk+PH690chmagMtcDtn+iv73zsTPB/QPqICx3T+VXeXi8Bk4rq6346sD1ERln/RW0oR09WQkwKfEmiggeS7UW+76u4K3aJgDgUfkmY6yD2/1axVQGP4m4i1vfi04bxVUD5AoFSgbQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[fkZg71c40](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/XVRnAfGEysMXN9eAe2eLsWFJjq5S1OfF>



**VOTO APROBATORIO PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Hugo Marquina Rodríguez

**Título de la tesis:** “ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** **Dra. Dea Herrera Ruiz**

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

Dra. Dea Herrera Ruiz

Fecha: 19/mayo/22

Firma del miembro del jurado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

DEA HERRERA RUIZ | Fecha:2022-05-19 14:43:19 | Firmante

04g3yPuAcnRC0BVfyxAP+EHE3W7rLK2CJpYgGPDcPWHkKLyf5lb6Uay+I9fWw/A4luwTgdDNYJ+HhIAvQYomaKncV2VBMlyXIYTTzWdmQnHrFhJ5XsExTpZFD0jcVMTeEX  
kjhVxhYkIaVKrN/ISfoZjZ2ZlomBk/Vxb/pmPlwB/KIAS+kvOE74Lf7I2cCgPcWFCQBFpNeS0NTsjwZghLCIxRzkPx7kjmho2HEHFm0wglzK93oIUDHdR75Vj1ODUWTrn18ZjOLCN  
/Q63SZ5DeQNVk/wY1FvdhMc797R871Ac5zhP2CGgPctQ6KDxcFwAgECwPSpvuFmGft7HRSPA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[dix9N82Ju](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/8zVH8HVU96Dahldm3aSi41x4xLbZ4q16>



**VOTO APROBATORIO PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Hugo Marquina Rodríguez

**Título de la tesis:** “ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** **Dr. Julio Cesar Almanza Pérez**

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

Firma del miembro del jurado

Fecha: 13/mayo/22



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**JULIO CESAR ALMANZA PEREZ | Fecha:2022-05-16 15:00:15 | Firmante**

XlqgFSYeKj7TJ9cII/1wsGoDToipbCC0s2zfpoYbdeu4r3PvSzuMaUI6exUNvkAebfAxGSSmZnG9OIqckB2aOKZQU2KmiDyptyguTwkSPuJYBx5sEEnScG0IYr4y1ff6rYollqC6S90MXer/JyCG6VjjdvI7uN6lsZlwa/iOR6yp9FvC5izdVLkNsp8FWidO2XKYdn+c/uFnrEuqCKCzYnAS2AO2tEAkeqG+WikZD0QEwEzUMhPcVpiG4j//FqPY1VCnQ9xN363bdK8TCJYERLjilGuzcqEqGo1bFbY3Ur+uTW22G/7UM6Kp+++26UtwaaeyylLCT4ZQf7zNvrXYw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[oyMYUw4PD](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/JsblR0mKuGIWP2ITsqJgYfLxHKqVQvdY>



**VOTO APROBATORIO PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Hugo Marquina Rodríguez

**Título de la tesis:** “ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** **Dra. Delia Vanessa López Guerrero**

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

Firma del miembro del jurado

Fecha: 16/mayo/22



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**DELIA VANESSA LOPEZ GUERRERO | Fecha:2022-05-17 06:59:06 | Firmante**

NBI0zciuYU0tEI+GV1PipP6VjhDw8+sQHQBkEfOI6SWBuZnMnQD3V0Gv0lo1Zv7tLopJE6BPqTOARaMrAKXf9bh1Og/BZXZIGg7kJGTHu/1D2Ld4jU8Pxx66d9029XjLauJvx3Qj  
c8q0I0PdHaJf1d71A1xJQ06QRca+MK2s6tvG1NZ8nAaN+4cu/rWMtYb/MiNylnxqwV/Fgii70jAUmeqYwp5L9CvF+rQr538ZFqEbknKb57R9/n/nkpQowK1Sf0ki3U8GL4/RCKsD/Qlqrr  
IBthJhJxRa+F3aGAIKNr4oKB9+oU3zo4tzhzgQMto2efG/Df58Z3bnXPPcCC0kA==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[IE5JDPkdi](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/9uLXY2uQBxVErXX32zYxx8reax51cA2W>



**VOTO APROBATORIO PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Hugo Marquina Rodríguez

**Título de la tesis:** “ESTUDIOS ANTIDIABÉTICO Y ANTIHIPERTENSIVO DE *Ludwigia octovalvis* EN MODELOS MURINOS”

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia

Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** **Dr. Samuel Enoch Estrada Soto**

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta

Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):**

---

---

Firma del miembro del jurado

Fecha: 16/mayo/22



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

### Sello electrónico

**SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO | Fecha:2022-05-16 14:53:50 | Firmante**

toKXiaz+RLNeCQAcX4qfAr7X65D0CvyYz1oZHDdlj6Nys6HPmWUdyBa3IT5PqJRrh1kcVZjeDukh51DW XsxLc97xHL936tnkHreD2fqTXE+j1jsQMWtMPbvnKGDW XJ9DOTJaC  
Fi6lkXLS4fdYcYdYBo6iwKg4SKvXVaPjwv6fFnRO9G9DxxgOOLK19oztQHhVAKFS4+fdur0vTd0SUCo83Zwtpgz0rf5HtuKNW8buAhgisUtbluLQ5s5f2vthN71G l/8KnDvW9mGABS  
Oeh6Jw9ED42cRNR4p5ZVRW7UuADPH4BrgPFamEAq2l9XMtQuxxkCnRLEwxdn1W5cx/MEw==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[2Cr7D30YO](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/XpuXGwq4Bw1pOHhaU1yNOcwCuOCG3yJK>

