



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

EFFECTO ANTIDIABÉTICO Y NEUROPROTECTOR DEL EXTRACTO
HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Cucurbita pepo* Linnaeus EN RATONES
DIABETIZADOS.

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

USIEL SANTOS ORTEGA

CODIRECTORES

Director: NAHIM SALGADO MEDRANO

CUERNAVACA, MORELOS A 07 De Febrero Del 2023

índice	
Resumen	7
Introducción	9
1.0 Marco teórico	12
1.1 Historia del uso Medicinal de las Plantas.	12
2.0 Familia Cucurbitácea y el género <i>Cucurbita</i>: Uso etnomédico	13
2.1 Estudios farmacológicos de <i>Cucurbita pepo</i> L.	15
2.2 Composición nutrimental de la especie vegetal <i>Cucúrbita pepo</i> L.	19
3.0 <i>Diabetes Mellitus</i>	20
3.2 Costos de la Diabetes mellitus (DM).	27
4.0 La neuropatía diabética (NPD) como complicación.	28
4.1 Clasificación de la neuropatía diabética.	30
4.2 Polineuropatía simétrica distal sensoriomotora crónica (DSPN).	31
4.4 Neuropatía autonómica diabética.	33
5.0 Etiología del Dolor Neuropático.	34
5.1 Hiperactividad en la Ruta del Poliols.	37
5.2 Estrés Oxidativo.	38
5.3 Cambios Microvasculares en Sistema Nervioso Periférico (SNP).	39
5.4 Canales interrumpidos (SNP).	40
6.0 Tratamientos	42
6.1 Estimación de la severidad de la Neuropatía.	45
6.2 Modelos utilizados para la evaluación de la neuropatía	46
7.0 Justificación	48
8.0 Hipótesis	49
9.0 Objetivos	50
10.0 Materiales y métodos	51
10.4 Preparación del extracto hidroetanólico de hojas.	52

10.5 Inducción química de Diabetes mellitus.	52
11.0 Ensayo hipoglucemiante <i>in vivo</i>.	53
12.0 Evaluación de comportamiento durante la prueba de plano inclinado	53
13.0 Estudio Neuroprotector.	54
13.1 Evaluación de la Función Motora en Plano inclinado	54
14.0 Resultados	56
Inducción química de Diabetes Mellitus	56
Efecto hipoglucemiante	57
Evaluación del comportamiento durante la prueba de plano inclinado	58
Evaluación neuroprotectora en plano inclinado(rendimiento motor).	59
15.0 Discusión	62
16.0 Conclusiones	65
17.0 Perspectivas	65
Literatura citada	66

Índice de figuras	
figura 1. Esquema de nervios perifericos con daño por NPD	35
Figura 2. Esqueme de nervios perifericos con daño por NPD	36
Figura 3: Estrategia experimental	51
Figura 4 Evaluación de plano inclinado a 50	55
Figura 5 Evaluación de plano inclinado a 70°	55
Figura 6: Resumen Experimental De Resultados.	56
Figura 7: Evaluacion del efecto hipoglucemiante dia 7	57
Figura 8: Evaluación del efecto hipoglucemiante día 14	58
Figura 9: Evaluación del efecto hipoglucemiante día 21	58

Figura 10 Evaluacion de plano inclinado a 50°	59
Figura 11 Evaluación en plano inclinado 70°	60
Figura 12 Evaluación en plano inclinado 90°	60
Figura 13: Evaluación de plano inclinado en distintos sujetos a una inclinación de 70°	60

indice_de_tablas

Tabla 1. Usos etnomédicos de <i>Cucurbita pepo</i> L.	13
Tabla 2 Compuestos Importantes del género <i>Cucurbita</i> y sus Actividades Biológicas	17
Tabla 3. Compuestos Nutrimentales en <i>Cucurbitas</i>	19
Tabla 4. Hipoglucemiantes orales de acuerdo con su mecanismo de acción	26
Tabla 5 principales fármacos utilizados en el tratamiento de la neuropatía	44

Abreviaturas

ADA: Asociación Americana de la Diabetes

EHHC: Extracto Hidroetanólico de *Cucurbita pepo* L.

FID: Federación Internacional de la Diabetes

OMS: Organización Mundial de la Salud

ND: Neuropatía Diabética

DM: Diabetes Mellitus

DPN: Neuropatía Periférica Diabética

Mn: Manganeseo

Fe: Hierro

Cu: Cobre

Ca: Calcio

Ni: Níquel

Pb: Plomo

P: Fósforo

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura

DSPN: Polineuropatía Simétrica Distal Sensoriomotora Crónica

DPN: Dolor Neuropático Diabético

DAN: Neuropatía Autonómica Diabética

GI: Gastrointestinal

NADPH: Nicotinamida Adenina Dinucleótido Fosfato

NAD: Dinucleótido de Nicotinamida Adenina

AGE: Productos de Glicación Avanzada

PKC: Proteína Quinasa C

DAG: Diacilglicerol

TGF- β 1: Factor de Crecimiento Transformante Beta-uno

NF- κ β : Factor de Transcripción Nuclear Kappa Beta

ROS: Radicales Oxidantes

NOS: Nitrosilantes

EOx: Estrés Oxidativo

RL: Radicales Libres

SNP: Sistema Nervioso Periférico

NAV: Canales de Sodio Dependientes de Voltaje

TTX-R : Canales Resistentes a la Tetrodotoxina

TTX-S : Canales de Sodio Sensibles a la Tetrodotoxina

DGR: Ganglio de la Raíz Dorsal

EE. UU. Estados Unidos

STZ: Estreptozotocina

IP: intraperitoneal

Resumen

Palabras clave: hipoglucemiante, neuroprotector, *Cucurbita pepo* L., diabetes mellitus

La neuropatía diabética (ND) es una complicación silenciosa de la diabetes mellitus (DM) que se presenta en aproximadamente el 50% de los enfermos estimados en 537 millones a nivel global. Esta prevalencia de la enfermedad en México y el mundo ha estimulado la búsqueda de tratamientos alternativos más efectivos, seguros y accesibles, en donde los productos naturales a base de plantas son reconocidos por la Organización Mundial de la Salud como la forma de atención primaria en países de ingresos bajos y medios. Las plantas han demostrado en numerosas investigaciones científicas efectividad antidiabética y donde particularmente las hojas (partes aéreas) son utilizadas. En este sentido, los frutos y semillas de la especie *Cucurbita pepo* L. (*C. pepo* L.) agrupada en la familia Cucurbitácea ha demostrado efectividad frente a la DM y algunas de sus complicaciones, así como otras propiedades (antioxidantes, hepatoprotectoras, antiinflamatorias, antitumorales, presencia de tocoferoles, vitamina E, flavonoides, antienvjecimiento). Sin embargo, las hojas de esta planta han despertado especial interés en nuestro grupo de trabajo por su posible potencial antidiabético y neuroprotector. Para esto, el presente trabajo se planteó como principal objetivo evaluar la capacidad hipoglucemiante y neuroprotectora del extracto hidroetanólico de hojas de *C. pepo* L. (EHHC) sobre ratones diabetizados, utilizando el modelo de plano inclinado reportado por Rivlin A & Tator C 1977. Como estrategia metodológica la acción hipoglucemiante y neuroprotectora del EHHC fue determinada a partir de tres grupos de ratones con hiperglucemia (6n) que fueron inducidos con el compuesto estreptozotocina (STZ) y por separado, tratados diariamente y durante 21 días con: 600 mg/Kg/día de EHHC ; 500 $\mu\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$ de glibenclamida y 0.4 ml de Solución salina al 0.9% (vehículo). Al mismo tiempo, un cuarto grupo de ratones normoglucémicos (6n) fue utilizado como

blanco del experimento y al que sólo se le administró solución vehículo. En la evaluación hipoglucemiante se monitorearon cada 7 días los niveles de glucosa en sangre de todos los grupos, y junto con esta evaluación la aplicación de la prueba de plano inclinado a 50°, 70° y 90°. Como resultado se obtuvo que el EHHC a 600 mg/Kg/día presentó acción hipoglucemiante a partir del día 14 del tratamiento (198.2 ± 106 mg/dL), con valores de glucosa que no mostraron diferencia significativa ($P < 0.05$) con los grupos que recibieron glibenclamida (153 ± 46.2 mg/dL) y el normoglucémico (76.5 ± 7.6 mg/dL). Por otro lado, el grupo hiperglucémico tratado con vehículo (354.8 ± 65.52 mg/dL), mostró diferencia significativa con el tratamiento de 600 mg/Kg/día de EHHC a partir del día 14 y glibenclamida desde el día 7. En la prueba de plano inclinado se observó diferencias significativas neuromotoras entre los grupos normoglucémicos e hiperglucémicos. Sin embargo, los grupos tratados con EHHC y solución vehículo no mostraron diferencia significativa con el grupo normoglucémico a una inclinación de 70° hasta el día 14 del tratamiento. El grupo tratado con glibenclamida siempre mostró diferencia significativa con el grupo control en todas las inclinaciones del plano y durante todo los 21 días de tratamiento.

Introducción

La diabetes mellitus afecta a más de 537 millones de individuos en el mundo (FID, 2021) y de acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (FID), México es el sexto país del mundo con el mayor nivel de prevalencia (12.80%). En este sentido, la Organización Mundial de la Salud, relaciona su crecimiento incontrolado principalmente con la práctica de vidas sedentarias, junto al consumo de dietas hipercalóricas y poco nutritivas, que finalmente conllevan al desarrollo de obesidad, una de las principales causas etiológicas de la enfermedad (Arredondo *et al.*, 2011; OMS 2019).

La diabetes mellitus se puede presentar generalmente como una nula producción de insulina (Diabetes tipo I) o en forma de una deficiente producción y/o reconocimiento de insulina (diabetes mellitus tipo II), que favorece la pérdida de la capacidad de los organismos para controlar sus niveles de glucosa en sangre. Esto conlleva al desarrollo de los estados hiperglucémicos anormales característicos de la enfermedad y serias complicaciones, las cuales disminuyen significativamente la calidad de vida de los diabéticos incluso provocarles la muerte (A.D.A, 2014; F.I.D., 2017). Debido a esto, al mismo tiempo la economía de países como México (con mayor incidencia y prevalencia de la enfermedad) se ve constantemente amenazada, por lo que es necesario tomar medidas pertinentes para su prevención y control (Arredondo A. Icaza E. *et al.*, 2011; Hernández Ávila, M. Gutiérrez, J *et. al.*, 2013).

De las complicaciones de la diabetes mellitus, los problemas micro y macrovasculares, aunque inicialmente son silenciosos (microvasculares), repercuten significativamente en una mayor morbilidad y la disminución de la supervivencia (macrovasculares) (Conget Ignacio, *et al.*, 2002), por lo que su atención temprana y oportuna pueden ayudar a disminuir estos daños. En este

contexto, la neuropatía diabética es una de las patologías inicialmente silenciosas y poco estudiadas que afecta entre un 30 y un 50% de la población diabética (Feldman 2019).

Hoy en día, los tratamientos para la neuropatía diabética incluyen la desaceleración de la pérdida progresiva de la función nerviosa, mediante el mantenimiento del control glucémico y el manejo del dolor, por lo que, algunos antidepresivos, antiepilépticos y opioides se recomienda como tratamiento de primera línea. Sin embargo, los efectos secundarios de estos fármacos utilizados para el control del dolor y sus dosis recomendadas continúan siendo poco efectivos sobre enfermedades como la neuropatía diabética (Gore, Mugdha *et al.*, 2005). Todo esto ha estimulado la búsqueda de nuevos tratamientos con mayor efectividad antidiabética, particularmente a partir de fuentes naturales a base de plantas, ya que estas han demostrado amplia efectividad tanto en la medicina tradicional y como en numerosos estudios científicos (Perez G. 2016, Adnan M. *et al.*, 2017, M. Yadav *et al.* 2010).

Durante los últimos años, se han logrado describir numerosos mecanismos de acción de diferentes productos naturales con capacidad antidiabética y antinociceptiva, sin embargo, hasta el momento su accesibilidad, asequibilidad, seguridad y calidad también es un impedimento. Esto, por un lado, debido a la escasez de estudios preclínicos de los preparados y por otro, debido a la falta de un material vegetal de calidad, estandarizado y/o purificado, del que se pueda tener conocimiento y certeza de los principios activos que lo componen (Gary G. Adams; F.I.D, 2017; Shahwar Imran *et al.*, 2011). Es por esto, que la Organización Mundial de la Salud en su informe referente a la medicina tradicional recomienda a sus países miembros, a que continúen realizando esfuerzos en el estudio científico de las plantas con propiedades medicinales de manera integral (farmacológicos, fitoquímicos y metabolómicos, entre otros), y así poder realizar un aprovechamiento razonable de productos naturales disponibles en concordancia con el cuidado del ambiente (OMS 2013)

La especie vegetal *Cucúrbita pepo* L. (Cucurbitácea) ha demostrado ser una alternativa prometedora para el tratamiento de la diabetes mellitus y sus complicaciones, ya que de su estudio farmacológico se han determinado innumerables propiedades curativas (antirradicalaria, antiinflamatoria, hipoglucemiante, antihiperglucemiante, antitumoral y antienvjecimiento por mencionar las más relevantes). Por otro lado, su rápida capacidad de crecimiento, adaptación, regeneración y reproducción, la convierten en una planta prometedora como fuente potencial sostenible de productos naturales bioactivos (Gary G. Adams; Shahwar Imran *et al.*, 2011; Figueroa Hernández *et al.*, 2014). Recientemente, el extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L. (EHC) ha demostrado propiedades antidiabéticas importantes a dosis de 300 mg/Kg (Osorio, 2021), así como propiedades antioxidantes, hepatoprotectora y al ser este un órgano poco utilizado por la industria agrícola alimentaria, su aprovechamiento farmacológico para este fin implicaría un impacto favorable en un mejor aprovechamiento de productos naturales. Por tal motivo, el presente trabajo tuvo como objetivo principal evaluar la capacidad hipoglucemiante y neuroprotectora del extracto hidroetanólico de hojas de *Cucúrbita pepo* sobre ratones diabetizados, utilizando el modelo de plano inclinado, con la finalidad de conocer si el efecto hipoglucemiante de la planta está ligado a una neuroprotección.

1.0 Marco teórico

1.1 Historia del uso Medicinal de las Plantas.

La etnobotánica de plantas medicinales no hace otra cosa que reconocer la existencia de una verdadera ciencia botánica prehispánica, la cual nos acompaña desde épocas precolombinas, basta con mencionar los jardines botánicos, los zoológicos que existían en esa época descritos por los cronistas de los trabajos más destacados de esta época, de los que podemos mencionar la obra del médico sevillano Nicolás Monardes, quien en 1569 escribió el primer tratado de plantas medicinales de la nueva España. En este artículo se mencionan por primera vez plantas como la pimienta gorda, la guayaba, la piña y el tabaco (Monardes 1565; Boxer 1963). Otra obra aún más destacable de plantas medicinales americanas se la debemos a dos mexicanos: el médico indígena Martín de la Cruz y el traductor Juan Badiano, un indígena de Xochimilco. Esta obra es conocida como el "Manuscrito Badiano" (Emmart 1940), ambos personajes fueron alumnos del colegio Santa cruz de Tlatelolco y el manuscrito se considera como el más importante documento de la medicina azteca. Martín de la Cruz lo escribe en náhuatl y Juan Badiano lo traduce al Latín, sin embargo, las ilustraciones probablemente fueron hechas por ambos. Por otro lado, el notable trabajo etnobotánico del fraile franciscano Bernardino Sahagún (1555), en el cual, se relata la etnográfica de México al inicio de la colonia, relata que los únicos que tenían accesos a los libros eran los hortelanos junto con los sabios; los hortelanos eran los encargados de sembrar y cultivar las plantas de la época. En la actualidad se continúa realizando investigación sobre las plantas medicinales que son utilizadas por la población indígena y de las cuales es necesario conocer más a fondo sus propiedades para determinar las dosis más adecuadas y seguras para su usos en las diferentes enfermedades (OMS, 2013).

2.0 Familia Cucurbitácea y el género *Cucurbita*: Uso etnomédico

La familia de las *cucurbitáceas* comprende un amplio número de plantas que se agrupan en 130 géneros y más de 800 especies (Pérez Gutiérrez RM 2016). De acuerdo con Andrade-Cetto y Heinrichs, 2005; en México existen más de 306 especies para el tratamiento de la diabetes mellitus y en México se emplean principalmente 7 especies, dentro de esta clasificación encontramos a una representante de la familia Cucurbitácea específicamente *Cucurbita ficifolia*, que se documentan con reportes de literatura internacional junto a estudios farmacológicos y fitoquímicos. Sin embargo, de este grupo de plantas el género *Cucurbita* es uno de los más importantes en México y el Mundo, debido a que los registros de datación por radiocarbono y espectrometría de masas con acelerador arrojan un tiempo de domesticación entre los 10, 000 a 8, 000, años calendario. Su utilización alimentaria es ancestral de los más trascendentales en la evolución humana, que incluso es considerado más longevo que cultivos como el maíz y el frijol. (Smith BD 1997).

Los primeros registros del uso medicinal de las plantas agrupadas en el género *Cucúrbita* se relacionan con el tratamiento antiparasitario y antibiótico de enfermedades urinarias. (Pérez Gutiérrez RM 2016; Salehi, Bahare *et al.* 2019). Sin embargo, también se tienen otros registros de usos etnomédicos de la planta como se ilustra en la Tabla 1.

Tabla 1. Usos etnomédicos de *Cucurbita pepo* L.

Parte utilizada	Uso etnomédico	Área de estudio	fuentes
Fruto	-Los frutos son buenas para los dientes, los ojos, la garganta, astringentes para los intestinos y laxantes.	Bangladesh	Omotayo <i>et al.</i> , 2012
	-Agente antihelmíntico, eficaz en las complejidades	Pakistán	Rahman <i>et al.</i> , 2008

	<p>urinarias, acción cardioprotectora, antiinflamatoria</p> <p>-Se utiliza en la curación de la obesidad , problemas gástricos, vejiga irritable en niños.</p> <p>- Cura la fatiga y la sed y purifica la sangre.</p> <p>- Tratar el resfriado y aliviar el dolor</p>	<p>Pakistán</p> <p>Mongolia</p>	<p>Ejaz, R. <i>et al.</i>, 2014</p> <p>Yang BM <i>et al.</i>, 2000</p>
Semilla	<p>-Tratar la vejiga irritable</p> <p>-Tenicida, diurético, gastritis, quemaduras, enteritis y enfermedades febriles</p> <p>- Antiparasitario</p> <p>- Dolores de cabeza y neuralgia</p>	<p>México</p> <p>Centro y norte América</p> <p>China</p> <p>Centroamérica</p>	<p>Kessler <i>et al.</i>, 1998</p> <p>McGinley M (2011)</p> <p>Dihiman (2012)</p> <p>Jiang Z. (2011)</p>
Hojas	<p>-Hojas utilizadas para fortalecer el sistema digestivo y como antiescorbútico.</p> <p>- pasta de hojas usada para quemadura y bilis</p> <p>-Usada para quemaduras externas, analgésico y remueve bilis</p> <p>- Tratamiento de trastornos de la vejiga, malestar estomacal, lombrices intestinales, enuresis, reumatismo, hiperplasia prostática benigna, quemaduras y heridas.</p> <p>- Reduce fiebre</p> <p>- Un tratamiento para las náuseas y un refuerzo del contenido de hemoglobina en la sangre.</p>	<p>Nigeria</p> <p>Bangladesh</p> <p>Bangladesh</p> <p>Pakistán</p> <p>Centroamérica</p> <p>Sudoeste de USA</p>	<p>Adebayo, O.R (2013)</p> <p>Omotayo, <i>et al.</i>, 2012</p> <p>Rahman <i>et al.</i>, 2008</p> <p>Ejaz, R. <i>et al.</i>, 2014</p> <p>McGinley M (2011)</p> <p>Dihiman (2012)</p>

2.1 Estudios farmacológicos de *Cucurbita pepo* L.

Las especies vegetales mexicanas del género *Cucúrbita* conocidas popularmente como calabazas presentan amplios estudios detallados sobre sus propiedades antidiabéticas en órganos como los frutos, semillas y tallos. Estas propiedades antidiabéticas son relacionadas con metabolitos denominados tocoferoles (α , β , γ , δ) presentes en semillas, y cucurbitacinas aisladas de frutos. Estos últimos poseen diversas actividades biológicas (antiinflamatoria, antiangiogénico, inmunomoduladora, citotóxica, antitumoral antioxidante, antienvjecimiento, antidiabética, antiobesidad y hepatoprotectora, al igual que los denominados cucurbitósidos también identificados en el género. Por otra parte, de estudios farmacológicos realizados con tallos de estas especies (*Cucurbita moschata*) se han identificado compuestos antidiabéticos hidrofóbicos relacionados con la sensibilización, sustitución y mimetización a la insulina, capaces de actuar sobre DM tipo 1 y DM tipo 2. Sin embargo, las hojas y flores de dichas plantas prometen ser una fuente más accesible y abundante de estas moléculas antidiabéticas esto debido, a que presentan un rápido crecimiento, adaptación, reproducción y regeneración observadas bajo condiciones silvestres e in vitro en cultivos realizados en diferentes partes del mundo. En este sentido, la domesticación y experiencia en el cultivo de estas plantas podría ayudar a la explotación de sus propiedades medicinales, ya que es altamente probable que no se tengan complicaciones para la obtención de suficiente material vegetal debido a la extensa producción agrícola que se realiza actualmente (Joydeb Chanda *et al.*, 2019).

En México y otras partes del mundo, las hojas en forma de infusión han sido documentadas en el uso tradicional medicinal como tratamiento de la DM y ampliamente consumidas (puntas de las guías de la planta) por sus elevados valores nutricionales al igual que las flores, frutos y semillas. En limitados análisis fitoquímicos generales de las hojas (*Cucúrbita pepo* L.) se ha visualizado la presencia de proteínas, aminoácidos, carbohidratos, aceites, compuestos fenólicos, flavonoides, esteroides, fitoesteroles, saponinas, taninos, alcaloides. Por otro lado, el estudio de extractos de hojas de escasas especies del género (*Cucurbita máxima*) han demostrado su acción hipoglucemiante y efecto protector sobre islotes pancreáticos, hígado y riñón, así como su capacidad antirradicalaria que proporciona evidencia sobre su posible potencial antioxidante. Esta última actividad es una fuerte evidencia del posible potencial antioxidante que posee el género para prevenir o detener el desarrollo de complicaciones provocadas por enfermedades crónico-degenerativas, ya que etiológicamente se vinculan con la presencia de estrés oxidante. Al mismo tiempo, el género *Cucurbita* se encuentra químicamente relacionado por la existencia de cucurbitacinas, en algunos géneros de la familia Cucurbitácea considerados altamente antidiabéticos, circunstancia que hace a las hojas de este grupo de plantas aún más prometedoras para obtención de compuestos antidiabéticos. (Yadav *et al.*, 2010; Chanda *et al.*, 2019; Wahab SI, *et al.* 2011). Varios extractos de calabaza tienen una actividad antioxidante potencial que podría desempeñar un papel importante en prediabéticos, diabéticos e individuos con lesiones vasculares (Yadav *et al.*, 2010).

También se pueden observar otras características tanto del fruto como de la semilla principalmente en la Tabla 2.

Tabla 2 Compuestos Importantes del género *Cucurbita* y sus Actividades Biológicas

M. Yadav *et al.* 2010

Compuesto (s) calabaza	Fuente	Actividad biológica	Descubrimientos importantes	Referencias
D-quirositol	Semillas	Antidiabético	Aumento en la secreción de insulina, aumento de la células β	Xia & Wang 2006
Fitoquímicos fenólicos	Fruta	Antidiabético	Inhibición de la α -amilasa Inhibición de la α -glucosilada	Kwon <i>et al.</i> 2007
Polisacáridos unidos a proteínas	Fruta	Antidiabético	Glucosa en sangre reducida Aumento de la insulina	Quanhong <i>et al.</i> 2005
Extracto	Fruta	Antidiabético Antioxidante	tolerancia de la glucosa mejorada, glucosa en sangre reducida	Xia & Wang 2006
Extracto	Fruta	Antioxidante	Aumento de la insulina Reducción de TBARS SOD mejorada, catalasa, funciones de glutatión Aumento de la actividad hepática y sérica de SOD y GSH-Px	Dang 2004

Polisacárido de calabaza	Fruta	Antioxidante	Malondialdehído reducido Aumento de SOD y GSH-Px séricos	Xu 2000
Jugo de fruta hervido	Fruta	Anticancerígeno	Células aberrantes reducidas	Ito <i>et al.</i> 1986
MAP2 MAP4	Fruta	Anticancerígeno	crecimiento inhibido de células leucémicas K-562	Cheong <i>et al.</i> 1997
Moschatin	Semillas maduras	Anticancerígeno	inhibe el crecimiento de células tumorales específicamente las células del melanoma M21	Xie <i>et al.</i> 2004
Cucurmosina	Sarcocarpio	Anticancerígeno	Inhibe el crecimiento de células tumorales, funciona como una proteína que inactiva los ribosomas	Hou <i>et al.</i> 2008
Péptidos (MW 8 kDa)	Semillas	Antifúngico	Crecimiento inhibido de Botrytis cinerea, Fusarium oxysporum y Mycosphaerella arachidicola	Vassiliou <i>et al.</i> 1998

Xia y Wang (2006) demostraron la acción hipoglucemiante del extracto de calabaza (fruta), así como su papel como antioxidante, para revelar un mecanismo de su acción citoprotectora (protectora de células) en animales diabéticos inducidos por estreptozotocina. Las semillas de calabaza tienen un alto contenido de vitamina E (tocoferol; un antioxidante) y se ha considerado

que el aceite de semilla de calabaza proporciona una fuente importante de vitamina E en las dietas japonesas (Imaeda N, 1999).

2.2 Composición nutrimental de la especie vegetal *Cucúrbita pepo* L.

Los frutos se caracterizan por un bajo contenido en grasa (2.3% calabaza, la pulpa no contiene aceites), carbohidratos (66%), proteínas (3%) y por un alto contenido en carotenoides. También contiene altos niveles de Mn, Fe, Cu, Ca, Ni, Pb, P, entre otros minerales y compuestos nutrimentales como se observa en la **Tabla 3**. El nivel de Pb y el Cu están dentro del rango aceptable de la FAO; Por otra parte, las semillas son una fuente rica de fitoesteroles, proteínas ácidos grasos poliinsaturados vitaminas antioxidantes, carotenoides y tocoferoles debido a estos componentes se le atribuyen muchos beneficios para la salud. (Pérez Gutierrez RM 2016; Fapohunda *et., al.* 2018).

Tabla 3. Compuestos Nutrimentales en *Cucurbitas*

Compuestos nutrimentales	Parte usada	Especie	Fuente
Mn (0.5 mg/kg), Fe (1.37 mg/kg), Cu (3.9 mg/kg), Pb (0.29 mg/kg), P (11.38 mg/kg), Ni (0.5 mg/kg), Ca (179 mg/kg), Mg (190 mg/kg), Na (159 mg/kg), K (160 mg/kg), Pb (0.21-0.25 mg/kg), Cu (2-5 mg/kg)	fruta	C. pepo	Perez G. 2016
- fitoesteroles, ácidos grasos poliinsaturados, proteínas, antioxidantes , carotenoides, tocoferoles	semillas		Abdel-Hady <i>et al.</i> , 2017
tocoferoles, vitamina E, flavonoides, fenoles	hojas		El-sayed 2016

3.0 Diabetes Mellitus

La *Diabetes mellitus* (DM) es una enfermedad crónico-degenerativa caracterizada por el desarrollo de una hiperglucemia crónica en sangre y de la cual, se conocen varios tipos. La diabetes mellitus tipo 1 (DM1), es causada principalmente por la destrucción autoinmune de los islotes de Langerhans (especialmente de las células beta) por lo que, como resultado, el organismo produce poca o nada de insulina, provocando finalmente una deficiencia absoluta de dicha hormona. Esta enfermedad puede desarrollarse a cualquier edad, no obstante, suele aparecer con mayor frecuencia en niños y adolescentes. Una vez presente se estima que puede disminuir la esperanza de vida hasta por 13 años (Skyler, Jay S *et al.*, 2016). La incidencia de este tipo de diabetes se encuentra en un constante aumento en todo el mundo y entre 2001 y 2009, se observó hasta un 21% de casos más en los Estados Unidos (Dabelea, D, 2014). Aunque el diagnóstico de diabetes tipo 1 ocurre con frecuencia en la infancia, el 84% de las personas que viven con diabetes tipo 1 son adultos (Dabelea, D, 2014) por otra parte, la diabetes tipo 2 es la forma más frecuente de diabetes, y representa entre el 80 - 90% del total de casos de dicha afección.

En la diabetes mellitus tipo 2, la hiperglucemia es el resultado de una producción inadecuada de insulina y la incapacidad del organismo de responder plenamente a dicha hormona, patología que se define como resistencia a la insulina (*FID, 2017*). La diabetes tipo 2 se diagnostica cada vez más en los jóvenes y hoy en día representa entre el 20% y el 50% de los pacientes con diabetes de nueva aparición. El aumento de la diabetes tipo 2 en los jóvenes es el resultado de un aumento en la frecuencia de la obesidad en las poblaciones pediátricas (*Dabelea, D, 2014*) y en la mayoría de los obesos, la resistencia a la insulina puede pasar desapercibida durante muchos años

y sin ser diagnosticada. A menudo el inicio de la enfermedad no es lo suficientemente grave para que el paciente detecte alguno de los síntomas clásicos de la enfermedad, Sin embargo, estos siempre presentan el riesgo de desarrollar complicaciones macrovasculares y microvasculares. De acuerdo con Figueroa Hernández (2014) Los niveles de glucosa elevados y sostenidos de manera crónica es la principal causa de la aparición de complicaciones incapacitantes (neuropatías, retinopatías, insuficiencia renal, entre otras) y las manifestaciones clínicas características de la diabetes mellitus. La hiperglucemia se ha relacionado con severos daños funcionales sobre distintos órganos y tejidos del paciente y los síntomas de la enfermedad pueden estar presentes incluso antes del diagnóstico de la enfermedad (F.I.D, 2019).

Diversos factores etiológicos como la obesidad, muerte paulatina de células beta pancreáticas, predisposición genética y procesos inflamatorios, también son relacionados con el desarrollo de diabetes mellitus. Sin embargo, todos ellos convergen en la alteración de un punto en específico asociado con la regulación de la secreción y/o producción de insulina, así como con la sensibilidad a esta (Conget Ignacio, *et al.*, 2002). La insulina es una hormona fabricada en las células beta pancreáticas que media el transporte de glucosa desde la sangre hacia las células de los tejidos insulino dependientes (músculo esquelético y adiposo). La falta de insulina o la incapacidad de respuesta de las células insulino dependientes favorecen el desarrollo de estados hiperglucémicos anormales en sangre y junto a ello serias complicaciones de salud (FID, 2017).

Particularmente, los estados hiperglucémicos contribuyen de forma importante en el desarrollo de diversas complicaciones incapacitantes en las que se pueden incluir: ceguera, insuficiencia renal, infarto al miocardio, accidente cerebrovascular, neuropatía y amputación de miembros inferiores, entre otras (IFD, 2017). Debido a estas complicaciones, se estima que en el mundo pierden la vida más de 4 millones de personas anualmente de acuerdo con las cifras reportadas en el año 2017 por la federación internacional de diabetes (FID, 2017). Por otro lado,

actualmente la neuropatía diabética es una de las complicaciones silenciosas menos estudiadas en el mundo, de la cual se estima que llega a afectar hasta un 50% de los individuos diabéticos, a través de la alteración de la función nerviosa por la pérdida de las vainas de mielina que se traduce en un deterioro cognitivo por daños cerebrovasculares y la muerte neuronal (Cordero Hernández A. *et al.*, 2014).

En el 2012, aproximadamente 350 millones de personas en el mundo padecían algún tipo de DM, sin embargo, actualmente esta cifra supera los 500 millones de personas afectadas de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2021). Por otro lado, se ha estimado que la esperanza de vida de individuos con diabetes se reduce hasta entre 5 y 10 años, con un riesgo de mortalidad dos veces mayor que las personas sanas (Cordero Hernández A. *et al.* 2014, OMS 2016). De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes (FID, por sus siglas en inglés) México continúa con un crecimiento descontrolado de DM, ya que de ocupar en el 2010 la décima posición y la novena en el 2011 entre los países con el mayor número de personas con diabetes (6.8 millones) para el 2017 se colocó en el quinto lugar con alrededor de 12 millones de personas diabéticas y según las proyecciones para 2045, pasará a formar parte de los cuatro países con mayor prevalencia de *Diabetes mellitus* en el mundo (FID, 2017).

3.1 Tratamiento De La Diabetes Mellitus

El tratamiento farmacológico inicial para tratar la DMT2 consiste en el uso de hipoglucemiantes orales. Existen cinco grupos principales de fármacos que se utilizan para el control de la DMT2: sulfonilureas, glinidas, biguanidas, tiazolidinedionas e inhibidores de α -glucosidasa de los cuales se puede observar su mecanismo de acción en la **Tabla 4** (Rodríguez-

Rivera NS 2017). La Norma Oficial Mexicana NOM-015-SSA2-2010, para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria, establece que, en el tratamiento farmacológico de la DMT2, los medicamentos que pueden utilizarse para su control son sulfonilureas, biguanidas, insulinas o sus combinaciones. Asimismo, se podrán emplear los inhibidores de la α -glucosidasa, tiazolidinedionas y otros que en su momento apruebe la Secretaría de Salud. En pacientes no obesos, las sulfonilureas son los fármacos de primera línea cuando no se logran las metas del tratamiento con manejo no farmacológico. En el caso de pacientes obesos, las biguanidas, esencialmente metformina, son los fármacos de primera línea. Cuando no se alcanzan las metas del tratamiento con la metformina después de llegar a aplicar dosis máximas, se puede combinar con sulfonilureas, o bien, sulfonilureas más inhibidoras de la α -glucosidasa. (Hernández AM 2010)

Sulfonilureas

Las sulfonilureas son secretagogos de insulina, inhiben los canales de potasio sensibles a ATP (KATP) y promueven la liberación de insulina a largo plazo, Generalmente, las sulfonilureas se administran en combinación con biguanidas como metformina, lo cual incrementa la efectividad terapéutica (Glamočlija U, Jevrić-Čaušević A 2010, Zárate A, et al., 2010).

Glinidas

Las glinidas o meglitinidas estimulan la secreción de la insulina durante la primera fase de su liberación por un mecanismo similar al de las sulfonilureas, al unirse y bloquear a los KATP, despolarizando la membrana y favoreciendo la liberación de insulina vía la apertura de canales de calcio dependientes de voltaje. Las glinidas no inducen una liberación prolongada de insulina; es decir, su tiempo de acción es menor al de las sulfonilureas. La concentración máxima se alcanza

alrededor de una hora después de su administración, por lo que deben darse antes de cada comida (Gribble FM *et al.*, 2001, Karara AH *et al.*, 1999).

Biguanidas

Las biguanidas son sensibilizadoras a la insulina que disminuye la hiperglucemia sin estimular la producción de insulina. Aunque pueden producir ganancia de peso e hipoglucemia, tienen efectos benéficos en reducir los lípidos circulantes, cuyo incremento está asociado a un mayor riesgo cardiovascular. El principal efecto adverso que presentan es la acidosis láctica (Stumvoll *et al.*, 1995, Wu MS *et al.*, 1990, Sogame Y *et al.*, 2013).

Tiazolidinedionas

Las tiazolidinedionas (TZD) o glitazonas, como rosiglitazona y pioglitazona, son sensibilizadoras a la insulina al ser agonistas selectivos del receptor peroxisoma proliferador-activado gamma (PPAR γ), un receptor de la membrana nuclear que se expresa principalmente en adipocitos. Su mecanismo de acción preciso y sus efectos metabólicos aún no son completamente claros. El PPAR γ está involucrado en la diferenciación de adipocitos y en la captura y almacenamiento de ácidos grasos. Las TZD disminuyen la resistencia a la insulina y aumentan la respuesta a insulina endógena (Yau H *et al.*, 2013, Stumvoll M *et al.*, 2012). Los efectos adversos reportados de estos fármacos han limitado su utilidad. Se ha observado un riesgo de falla cardíaca congestiva en 1 a 3% de los pacientes tratados con TZD debido al incremento en el volumen intravascular. Otros efectos adversos observados son a nivel óseo. En 2006 un estudio reportó una mayor incidencia de fracturas en pacientes tratados con rosiglitazona (Lincoff AM *et al.*, 2007, Hernandez AV *et al.*, 2011).

Inhibidores de α -glucosidasa

Dentro de estos fármacos se incluyen acarbosa, miglitol y voglibosa, que bloquean la degradación enzimática de carbohidratos complejos en el intestino delgado, lo que disminuye la

glucosa postprandial y mejora el control glucémico sin riesgo de aumento de peso o hipoglucemia; (Glamočlija U *et al.*, 2010, Evans JL *et al.*, 2010) presentan poca tolerabilidad a nivel gastrointestinal, lo que, aunado a su alto costo, influye enormemente en su uso. Su mecanismo de acción se centra en impedir, mediante inhibición competitiva en los vellos intestinales de los enterocitos del borde dentado, que las α -glucosidasas y α -glucosidasa-hidrolasas (glucoamilasas) degraden disacáridos y oligosacáridos a monosacáridos antes de su absorción, retrasando la absorción de glucosa; es decir, se provoca una reducción en la producción de insulina postprandial mediante la atenuación del incremento de glucosa postprandial (Hakamata W 2009).

Agonistas de GLP-1 y antagonistas de DPP-4

Estos fármacos son relativamente nuevos. GLP-1 es una hormona incretina, componente esencial de la homeostasis normal de la glucosa. (Kreymann B, 1987) Induce la secreción de insulina dependiente de glucosa y regula la liberación de glucagón, reduciendo la hiperglucemia (Drucker DJ 2003) Los agonistas de GLP-1, exenatida y liraglutida, son péptidos que mimetizan la acción de incretina uniéndose al receptor para GLP-1 para mejorar el control glucémico, con la ventaja de tener una vida media mucho mayor a la de GLP-1 debido a una modificación química en su estructura: la ausencia de alanina en posición 2, que es el sitio catalítico reconocido por la dipeptidil peptidasa-4 (DPP-4), lo que impide que DPP-4 los degrade (Derosa G 2012) conservando los mismos efectos glucorregulatorios de GLP-1(DeFronzo RA 2005).

Gliflozinas

Las gliflozinas inhiben de forma selectiva y reversible el cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT-2), lo que reduce la reabsorción de glucosa a nivel renal, aumentando su eliminación en orina y reduciendo la glucemia; esto implica que su eficacia hipoglucemiante está condicionada a la conservación de una adecuada función renal . No alteran la producción endógena normal de

glucosa en respuesta a la hipoglucemia y actúan con independencia de la secreción de insulina y de la acción de la misma^{9,10}. Las gliflozinas reducen la HbA1c del orden de un 0,6-0,9% en monoterapia y 0,3-0,6% en biterapia, dependiendo del nivel basal de glucemia. No producen hipoglucemias y disminuyen una media de 2-3 kg de peso, que se mantiene a los 2 años. Además, disminuyen la presión arterial y producen diuresis osmótica¹¹. Actualmente están comercializados cuatro principios activos de este grupo terapéutico: canagliflozina, dapagliflozina, empagliflozina y más recientemente, ertugliflozina. (INFAC 2020)

Tabla 4. Hipoglucemiantes orales de acuerdo con su mecanismo de acción (Rodríguez-Rivera NS, 2017 Maxine A. 2020).

Blanco	Mecanismo de acción	Fármaco	Ejemplo	Descripción
Insulina	Secretagogos	Sulfonilureas	Tolbutamida, clorpropamida, glibenclamida, glipizida	Estimulan secreción de la insulina al unirse y bloquear a los receptores SUR1 que despolarizan la membrana, favoreciendo la liberación de insulina vía la apertura de canales de Ca dependientes de voltaje
	Sensibilizadores	Glinidas	Nateglinida, repaglinida	
		Biguanidas	Metformina, buformina, fenformina	Reducen la producción hepática de insulina
		Tiazolidinedioneas	Pioglitazona, rosiglitazona arcarbosa , miglitol	

Otros	inhibidores de α -glucosidasa agonistas de GLP-1 inhibidores de DPP-4		Exenatida y liraglutida Sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina y linagliptina	Reducen la absorción de carbohidratos intestinales Se unen al receptor a GLP-1, Inhiben a la enzima DPP-4, incrementando el tiempo de acción de incretina
inhibidores del cotransportador 2 sodio-glucosa (sglt2)	Bloquean la resorción renal de glucosa	Glifozinas	canagliflozina, dapagliflozina, empagliflozina y más recientemente, ertugliflozina.	inhiben de forma selectiva y reversible el cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (iSGLT-2), lo que reduce la reabsorción de glucosa a nivel renal, aumentando su eliminación en orina y reduciendo la glucemia

3.2 Costos de la Diabetes mellitus (DM).

La DM es una de las principales enfermedades no transmisibles que constituyen la cuarta causa de muerte por enfermedad, con una mortalidad que supera el millón de casos anuales, principalmente en países en desarrollo (*OMS 2018*). De acuerdo con la OMS la enfermedad no solo afecta la morbilidad de los que la padecen, sino también la economía del enfermo y sus familiares (Hernández Ávila M. Gutiérrez J *et al.*, 2013). Arredondo y colaboradores (2011) mencionan que en México por cada 100 pesos que se invierten en el tratamiento de la diabetes mellitus 51 pesos pertenecen a los familiares de los afectados. En 2019, la FID calculó que el gasto total en salud relacionado con la diabetes alcanzará los 760 mil millones de USD. Esto representa un aumento

del 4,5% en el cálculo de 2017, Se espera que el impacto económico de la diabetes siga creciendo y se pronostica que para los años 2030 y 2045, el gasto alcanzará los 825 mil y 845 mil millones de USD, respectivamente.

4.0 La neuropatía diabética (NPD) como complicación.

El dolor neuropático periférico probablemente será el más común debido al envejecimiento de la población mundial, al aumento de la incidencia de diabetes mellitus y al aumento de las tasas de cáncer y las consecuencias de la quimioterapia, ya que dichas condiciones se relacionan con la alteración de fibras sensoriales (fibras A β , A δ y C). En cuanto a los pacientes con diabetes mellitus, estos tienen alteraciones en las vías del dolor periféricas y centrales; otras alteraciones mecánicas incluyen la inestabilidad de la glucosa en la sangre, el aumento del flujo sanguíneo epineural del nervio periférico, la microcirculación de la piel del pie, la densidad alterada de la fibra nerviosa intraepidérmica, aumento de la vascularización talámica y disfunción autonómica (colloca, L. *et al.*,2017).

Etiológicamente la neuropatía diabética se sabe que se desarrolla en un fondo de hiperglucemia de larga duración, trastornos metabólicos asociados (aumento del flujo de poliol, acumulación de productos finales de glicación avanzada, estrés oxidativo y alteraciones de los lípidos entre otras anomalías metabólicas) y factores de riesgo cardiovascular (Tesfaye, Solomon *et al.*, 2010). Sin embargo la patogenia de la NPD no se entiende por completo, pero se proponen varias teorías para explicar el dolor relacionado con la neuropatía diabética, como los cambios en los vasos sanguíneos que irrigan los nervios periféricos; trastornos metabólicos y autoinmunes acompañados de activación de células gliales, cambios en la expresión de los canales de sodio y calcio, más recientemente en mecanismos de dolor central, como aumento de la vascularización

talámica y desequilibrio de las vías descendentes facilitadoras / inhibitorias. (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

Como parte de la neuropatía diabética el dolor neuropático es una de las complicaciones neurológicas que presenta hiperalgesia y alodinia. El dolor neuropático se desarrolla en aproximadamente el 30% al 50% de los diabéticos, sin embargo, de acuerdo con Schreiber, Anne K y colaboradores (2015) la intensidad del dolor normalmente no está asociada con la gravedad de la neuropatía, la cual puede ocurrir incluso en ausencia de lesiones nerviosas. Esto dado a que los mecanismos fisiopatológicos del dolor neuropático son complejos y multifactoriales (Lee JY, Choi HY, Park CS, *et al.*, 2017). La neuropatía dolorosa más común, es la polineuropatía simétrica distal sensoriomotora crónica (DSPN) que afecta a más del 90% de los pacientes. Esta neuropatía tiene importantes efectos perjudiciales en los pacientes diabéticos, ya que provoca un mayor riesgo de ulceración del pie. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005). Sin embargo, la DSPN progresa lentamente de manera proximal para involucrar a los pies y las piernas en una distribución de medias. También se caracteriza por una pérdida progresiva de fibras nerviosas que afectan tanto a las divisiones autónomas como a las somáticas, por lo que pueden aparecer padecimientos como la retinopatía y nefropatía diabética.

A medida que la enfermedad avanza, se presentan manifestaciones motoras, como el desgaste de los músculos pequeños de las manos y la debilidad de las extremidades. En algunos casos, puede existir una pérdida sensorial de la que el paciente puede no estar consciente, por lo que, la neuropatía tiene importantes efectos perjudiciales en los pacientes. Aproximadamente el 50% de los pacientes con DSPN experimentan síntomas neuropáticos en las extremidades inferiores, como hormigueo incómodo (disestesia), dolor (ardor o "descargas eléctricas", lancinización o "cuchillo"; "Arrastrándose", etc.), dolor evocado (alodinia, hiperestesia), o sensaciones inusuales (como una sensación de hinchazón de los pies o frialdad severa de las piernas

cuando claramente las extremidades inferiores se ven y se sienten bien, sensaciones extrañas al caminar como "caminar sobre piedras" o "caminar sobre arena caliente", etc. (Tesfaye, Solomon *et al.*, 2013). Al mismo tiempo, Colloca, Luana y colaboradores (2017) nos dicen que los trastornos del sueño, la ansiedad y la depresión son frecuentes y graves en pacientes con dolor neuropático, y la calidad de vida está más afectada en pacientes con dolor neuropático crónico que en aquellos con dolor crónico no neuropático que no proviene de los nervios dañados o irritados. A pesar de los aumentos de las respuestas de placebo que resultan en el fracaso de múltiples fármacos nuevos en los ensayos clínicos, el progreso reciente en nuestra comprensión de la fisiopatología del dolor neuropático proporciona optimismo para el desarrollo de nuevos procedimientos de diagnóstico e intervenciones personalizadas. Por otro lado, hoy en día se tiene conocimiento que varios factores de riesgo están asociados con el DNP, como empeoramiento de la tolerancia a la glucosa, mayor edad, mayor duración de la diabetes, consumo de alcohol y consumo de cigarrillos (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

La epidemiología y la historia natural de la neuropatía diabética (DN) siguen estando mal definidas, en parte debido a la escasa selección de pacientes y los criterios variables para lo que constituye un diagnóstico de DN. (Andrew JM Boulton *et al.*, 2004).

4.1 Clasificación de la neuropatía diabética.

Para las neuropatías diabéticas en los últimos años se han propuesto distintas clasificaciones, ya que cada una afecta de distinta forma el sistema nervioso periférico. Sin embargo, hasta que no se tenga una comprensión clara de la etiopatogenia de la neuropatía, las

clasificaciones basadas en las manifestaciones clínicas han sido las más utilizadas (Andrew JM Boulton *et al.*, 2004).

Sin embargo, el diagnóstico, el cual no se puede hacer sin un examen clínico cuidadoso de las extremidades inferiores; la Evaluación de Leeds de síntomas y signos neuropáticos la cual se encarga de evaluar cuatro elementos de síntomas, un elemento relacionado con la apariencia de la piel y dos elementos de examen clínico. Otro examen es el cuestionario dolor neuropático, el cual consiste en siete descriptores sensoriales, tres elementos relacionados con factores provocados y dos elementos que describen el afecto (Colloca L. *et al.*, 2017)

En este sentido, las neuropatías periféricas generalizadas y dolorosas clínicamente más importantes incluyen aquellas asociadas con diabetes mellitus (Colloca, Luana *et al.*, 2017).

4.2 Polineuropatía simétrica distal sensoriomotora crónica (DSPN).

De acuerdo con Tesfaye, Solomon y colaboradores (2010) la definición para esta clasificación fue adaptada, propuesta por la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor, es "dolor que surge como consecuencia directa de anomalías en el sistema somatosensorial periférico en personas con diabetes". La prevalencia de NP en la población diabética es difícil de estimar ya que las definiciones han variado enormemente entre los estudios; sin embargo, se estima crudamente que el 50% de los pacientes pueden experimentar síntomas, dolor con más frecuencia con ardor, sensaciones eléctricas o punzantes, parestesia, hiperestesia y dolor intenso, el dolor neuropático suele ser peor en la noche, y los síntomas son más comunes en los pies y las extremidades inferiores, aunque en algunos casos las manos también pueden verse afectadas, la mitad de los pacientes pueden ser asintomáticos, solo se puede hacer un diagnóstico con el examen

o en algunos casos, cuando el paciente presenta una úlcera de pie indolora, el examen de la extremidad inferior generalmente revela pérdida sensorial de vibración, presión, dolor y percepción de la temperatura (mediada por fibras grandes y pequeñas) y ausencia de reflejos en el tobillo (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005)

Andrew JM Boulton y colaboradores (2004) mencionan que los pacientes pueden ser asintomáticos, 10 a 20% pueden experimentar síntomas sensoriales molestos que requieren tratamiento específico. La neuropatía sensoriomotora suele ir acompañada de disfunción autonómica, las secuelas tardías de la neuropatía, que incluyen ulceración insensata del pie, artropatía de Charcot (neuropática) y, en ocasiones, incluso amputación.

Tesfaye, Solomon y colaboradores (2010) consideran que se desarrolla en (o con) un fondo de hiperglucemia de larga duración, trastornos metabólicos asociados (aumento del flujo de poliol, acumulación de productos finales de glicación avanzada, estrés oxidativo y alteraciones de los lípidos entre otras anomalías metabólicas). también mencionan que la neuropatía periférica altera las propiedades eléctricas de los nervios sensoriales, lo que conduce a desequilibrios entre la señalización excitadora e inhibidora central, de modo que las interneuronas inhibitorias y los sistemas de control descendente se ven afectados. La transmisión de señales sensoriales y los mecanismos de desinhibición o facilitación se alteran a nivel de las neuronas del asta dorsal de la médula espinal. En la periferia, la médula espinal y el cerebro son evidentes una ganancia de excitación y facilitación y una pérdida de inhibición. Estos cambios cambian las vías sensoriales a un estado de hiperexcitabilidad, una secuencia de cambios a lo largo del tiempo desde la periferia al cerebro podría contribuir a que el estado de dolor neuropático se vuelva crónico.

Se ha reconocido durante muchos años que pueden ocurrir anormalidades rápidamente reversibles de la conducción nerviosa en pacientes con diabetes recientemente diagnosticada o transitoriamente mal controlada; estas anomalías pueden ir acompañadas de síntomas sensoriales

distales e incómodos. Aún no se sabe si estas anomalías temporales causan un mayor riesgo de desarrollar otras neuropatías crónicas en la vida posterior. (Andrew JM Boulton *et al.*, 2004).

La neuropatía sensorial aguda es rara, tiende a seguir períodos de mal control metabólico (p. Ej., Cetoacidosis) o cambio repentino en el control glucémico (p. Ej., "Neuritis de insulina") y se caracteriza por la aparición aguda de síntomas sensoriales graves, con marcada exacerbación nocturna pero pocos signos neurológicos en el examen de las piernas. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005)

En (2004) Andrew JM Boulton y colaboradores sugirieron que, entre los nervios craneales, los que suministran a los músculos oculares externos son los más afectados y que las radiculoneuropatías toracolumbares pueden presentarse con dolor en forma de faja, ocasionalmente con debilidad motora de los músculos de la pared abdominal. La neuropatía motora proximal (amiotrofia) puede ser unilateral o asimétricamente bilateral con dolor, desgaste y debilidad que puede ser de inicio relativamente agudo.

4.4 Neuropatía autonómica diabética.

La neuropatía autonómica al ser silenciosa al igual que los otros tipos de neuropatía puede desarrollar una morbilidad severa, que al no haber síntomas característicos de la neuropatía puede conducir a una mortalidad más temprana en algunos pacientes con diabetes.

De acuerdo con Tesfaye, Solomon y colaboradores (2010) la DAN puede afectar los sistemas cardiovascular, gastrointestinal (GI) y urogenital, y la función sudomotora. Puede dar lugar a signos y síntomas o puede detectarse de forma subclínica mediante pruebas específicas. Los datos de prevalencia para la DAN varían de 1.6 a 90% según las pruebas utilizadas, las poblaciones examinadas y el tipo y etapa de la enfermedad. Los factores de riesgo para el desarrollo de DAN incluyen la duración de la diabetes, la edad y el control glucémico deficiente a largo plazo.

La DAN puede relacionarse con factores que predisponen a eventos macrovasculares, como presión arterial elevada y dislipidemia. los estudios transversales han indicado que aproximadamente el 50% de los pacientes ambulatorios con diabetes de larga duración han retrasado el vaciado gástrico y hasta el 76% de los pacientes ambulatorios diabéticos indican que tengan uno o más síntomas gastrointestinales, El más común de los cuales es el estreñimiento. Las principales manifestaciones clínicas de la DAN incluyen taquicardia en reposo, intolerancia al ejercicio, hipotensión ortostática, gastroparesia, disfunción eréctil, disfunción neurovascular, "diabetes frágil" y falla autonómica hipoglucémica. Sin embargo, las neuropatías que involucran otros sistemas de órganos también deben considerarse en el cuidado óptimo de los pacientes con diabetes. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005)

5.0 Etiología del Dolor Neuropático.

De acuerdo con Schreiber, Anne y colaboradores (2015) hay un gran avance en la comprensión de los mecanismos fisiopatológicos que conducen al desarrollo de complicaciones diabéticas, todavía no existe una hipótesis plausible para explicar por qué algunos pacientes desarrollan la forma dolorosa de la enfermedad, mientras que otros no. Por otra parte, nos mencionan que los mecanismos que conducen a la DNP no se comprenden completamente, aunque existe un consenso de que los efectos tóxicos de la hiperglucemia representan un factor importante para el desarrollo de esta complicación sin embargo existen otros factores además de la hiperglucemia los cuales no deben descartarse. En general, los investigadores tratan de dilucidar

los mecanismos subyacentes de la neuropatía como un evento mayor, e incluyen el dolor y otras manifestaciones sensoriales como consecuencias directas de la neuropatía.

Hasta el 2007 se consideraba la fisiopatología de la ND podía resumirse en cinco aspectos, a saber, (1) microangiopatía (daño de capilares y arteriolas) de los vasa nervorum, combinado con (2) edema axonal, (3) deterioro del transporte axonal, y (4) destrucción de la vaina de mielina. El resultado final sería (5) la pérdida axonal. (P. R. Olmos *et al.*, 2012).

figura 1 esquemas de nervios periféricos con daños a causa de la neuropatía

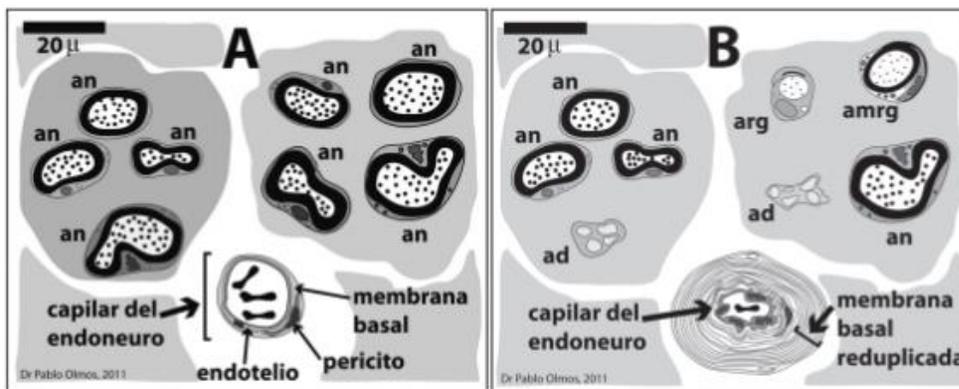


Figura 1. Histología de un nervio periférico con fibras mielinizadas. (A) Histología normal. Cada axón normal [an] está rodeada de una vaina de mielina [color negro] y en su interior hay microtúbulos [cortados]. Se observa también un vaso capilar del endoneuro, con su endotelio, membrana basal y pericito. (B) El mismo nervio periférico afectado por neuropatía diabética. Coexisten axones normales [an], axones destruidos [ad], axones en proceso de regeneración inicial [arg] y mielina en proceso de regeneración [amrg]. Es posible observar también la reducción del diámetro del capilar del endoneuro, y la reduplicación (engrosamiento por superposición de láminas) de su membrana basal. (P. R. Olmos *et al.*, 2012)

La patología de los trastornos periféricos que causan el dolor neuropático afecta predominantemente a las pequeñas fibras C no mielinizadas y las fibras A mielinizadas. El dolor neuropático periférico probablemente se volverá más común debido al envejecimiento de la

población mundial, debido al aumento de la incidencia de *Diabetes mellitus*. De hecho, los pacientes con *Diabetes mellitus* tienen alteraciones en las vías del dolor periféricas y centrales; Además, los niveles plasmáticos de metilglioxal (un subproducto de la glucólisis) aumentan en pacientes con *Diabetes mellitus* debido a la excesiva glucólisis y la degradación disminuida por el sistema de glioxalasa. Este metabolito activa nervios periféricos mediante el cambio de la función de Na v 1.7 y Na v 1.8 (canales de sodio dependientes de voltaje), por lo tanto, tienen un papel en la neuropatía dolorosa. Los estudios en animales han demostrado que el metilglioxal ralentiza la conducción nerviosa, aumenta la liberación de péptidos relacionados con el gen de la calcitonina y conduce a la hiperalgesia térmica y mecánica (Colloca, Luana *et al.*, 2017).

Figura 2 esquemas de nervios periféricos con daños a causa de la neuropatía

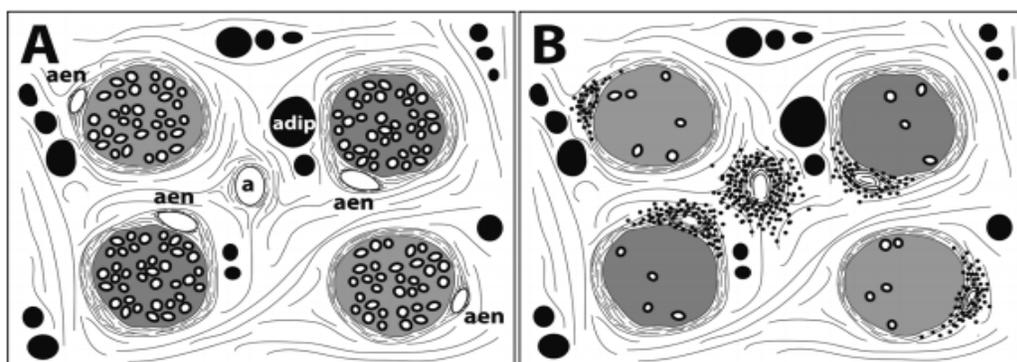


Figura 2. Mecanismos inflamatorio-inmunológicos en algunas neuropatías diabéticas. [A] Figura semiesquemática de la histología normal de un nervio periférico con fibras mielinizadas. Se observan cuatro fascículos conteniendo axones mielinizados. En el borde de cada fascículo hay una arteriola del endoneuro (aen). En el tejido conectivo entre los fascículos hay una arteriola (a) y varias células adiposas (adip). [B] Neuropatía Diabética de Fisiopatología predominantemente Inflamatorio-inmunológica (radículo-plexopatías lumbosacra y cervical, radiculopatía torácica, y neuropatía craneal). Se observa una casi total pérdida axonal y la infiltración inflamatoria de las arteriolas del endoneuro con abundantes leucocitos [dibujo basado en 4, Tracy JA, 2008)].

5.1 Hiperactividad en la Ruta del Poliol.

Los trastornos metabólicos son la causa principal de la neuropatía diabética, la hiperglucemia, inducida a través de la disminución de la secreción de insulina o la resistencia a la insulina, es la responsable del aumento de la actividad de la ruta del poliol. La primera enzima limitante de la velocidad de esta vía, la aldosa reductasa cataliza la formación de sorbitol a partir de la glucosa, con la oxidación de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) a NADP^+ , el sorbitol se oxida aún más a fructosa por la sorbitol deshidrogenasa, que se acopla con la reducción del dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD^+) a NADH. Se describe que, durante los estados hiperglucémicos, la afinidad de la aldosa reductasa por la glucosa es mayor, lo que genera un estrés osmótico intracelular debido a la acumulación de sorbitol, ya que el sorbitol no atraviesa las membranas celulares. El daño a los nervios después del estado diabético no parece deberse a este estrés osmótico, ya que se ha informado de concentraciones de sorbitol insignificantes en los nervios de los pacientes diabéticos. Sin embargo, la hipótesis actualmente aceptada establece que la hiperactividad de la ruta del poliol es patógena principalmente al aumentar la rotación de cofactores como NADPH y NAD^+ , lo que conduce a una disminución en la reducción y regeneración del glutatión, así como a un aumento de la producción de los productos finales de la glicación avanzada (AGE) y la activación de las isoformas de diacilglicerol y proteína quinasa C (PKC). El agotamiento del glutatión podría ser la causa principal del estrés oxidativo y estar relacionado con la acumulación de especies tóxicas. (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

De acuerdo con Olmos y colaboradores (2012) mencionan que, con la hiperglucemia, la glucosa que entra al axón y a la célula de Schwann, bajo la acción de la aldosa-reductasa se

transforma en sorbitol, produciendo hiperosmolaridad y edema. Además, aumenta el NADP⁺ en la desnaturalización del NADPH, paralizando la regeneración del glutati6n, Por otro lado, la mayor oferta de NADH desvía el metabolismo glucídico hacia diacilglicerol (DAG), activador de la proteína-kinasa-C (PKC), la que a su vez induce la producci6n de los mediadores TGF-β1 (transforming-growth factor beta-uno) y NF-κβ (Nuclear Factor Kappa beta), ambos estimulantes de la inflamaci6n y la fibrosis impidiendo la neutralizaci6n de los radicales oxidantes (ROS) y nitrosilantes (NOS), produciendo daño oxidante.

5.2 Estrés Oxidativo.

El daño oxidativo se presenta cuando hay un crecimiento de la concentraci6n de moléculas oxidantes, sean endógenas o exógenas, o cuando se tiene una condici6n de reducci6n de las defensas antioxidantes, el estrés oxidativo (EOx) es un proceso caracterizado por un desequilibrio bioquímico entre la producci6n de radicales libres (RL) o especies reactivas con respecto a los antioxidantes a favor de los primeros con implicaciones en la homeostasis del organismo por daño a nivel celular, tisular y sistémico. El EOx ha sido asociado con el mecanismo fisiopatol6gico de más de 100 enfermedades cr6nico-degenerativas dentro de esta lista se encuentra la *Diabetes mellitus*. (Calder6n J. 2013)

La activaci6n de la ruta del poliol podría ser la causa principal del estrés oxidativo asociado con la diabetes. Sin embargo, el estrés oxidativo tambi6n podría iniciarse mediante la autooxidaci6n de la glucosa y sus metabolitos, el aumento de la formaci6n intracelular de los AGE, el aumento de la expresi6n del receptor para los AGEs y sus ligandos activadores, la funci6n mitocondrial alterada, la activaci6n de las isoformas PKC y la hiperactividad de la vía de la

hexosamina. Además, existe una creciente evidencia de que el estrés oxidativo es causado por una mayor formación de radicales libres debido al metabolismo de la glucosa y / o los déficits en la defensa antioxidante y puede desempeñar un papel importante entre los supuestos mecanismos patógenos de la neuropatía diabética. Además del estrés oxidativo, las especies reactivas de nitrógeno, especialmente el peroxinitrito, también desempeñan un papel importante en el desarrollo de la diabetes y sus complicaciones. (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015).

5. 3 Cambios Microvasculares en Sistema Nervioso Periférico (SNP).

El DNP se asocia frecuentemente con deterioro microvascular, en estudios realizados se demostró que la perfusión periférica se reduce tanto en tejido nervioso tanto como en la piel siendo una evidencia fisiopatológica de alteración microvascular. Como resultado, se produce isquemia nerviosa, causada por la elevación del grosor de la pared y la hialinización de la lámina basal de los vasos que nutren los nervios periféricos junto con la reducción luminal. Estas alteraciones son causadas por el escape de proteína plasmática de la membrana capilar al endoneuro, lo que promueve la inflamación y la presión intersticial aumentada en los nervios, acompañada por una mayor presión capilar, deposición de fibrina y desarrollo de trombos. Como resultado de la isquemia nerviosa, tanto los pacientes diabéticos como los animales se han demostrado una pérdida progresiva de nervios en los segmentos proximales y distales, lo que reduce la densidad de las fibras nerviosas intraepidérmicas. En consecuencia, también puede ocurrir degeneración y regeneración axonal, además de la retracción y regeneración axonal, otra modificación estructural relacionada con la hiperglucemia es la alteración de la vaina de mielina. La desmielinización observada puede estar relacionada con la capacidad alterada de las células de Schwann para soportar la vaina de mielina normal. Se cree que una causa potencial de los cambios

microvasculares descritos anteriormente puede ser el estrés oxidativo, ya que el tratamiento con agentes antioxidantes puede mantener una perfusión regular (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

5.4 Canales interrumpidos (SNP).

Se cree que las terminaciones nerviosas dañadas contribuyen al dolor en la DNP. La hipótesis más aceptada afirma que las terminaciones nerviosas dañadas pueden producir perturbaciones en potenciales de acción, interpretadas por el sistema nervioso central (SNC) como dolor o disestesias. (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015).

La neuropatía periférica altera las propiedades eléctricas de los nervios sensoriales, lo que conduce a desequilibrios entre la señalización excitadora e inhibitoria central, de modo que las interneuronas inhibitorias y los sistemas de control descendente se ven afectados. La neuropatía causa alteraciones en los canales iónicos (sodio, calcio y potasio) dentro de los nervios afectados, que pueden incluir todos los tipos de fibras aferentes que luego afectan la señalización sensorial de la columna y el cerebro (Colloca, L. *et al.*, 2017).

Los cambios en la expresión del canal iónico en las fibras periféricas son consecuencias directas de la lesión del nervio, que conduce a una hiperexcitabilidad, que está muy relacionada con el dolor neuropático. En este sentido, la regulación al alza de los canales de sodio regulados por voltaje (Nav) se ha demostrado ampliamente en los modelos de dolor neuropático. (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

En (2013) Tesfaye, Solomon y colaboradores mencionan que los canales de sodio despolarizan las neuronas y generan un potencial de acción. Después del daño a los nervios periféricos, la distribución normal de estos canales a lo largo de un nervio se ve interrumpida por el neuroma y la actividad "ectópica" se debe a la acumulación de canales de sodio en o alrededor del sitio de la lesión. De acuerdo con Colloca, Luana y colaboradores (2017) el aumento de la expresión y la función de los canales de sodio en la médula espinal terminal de los nervios sensoriales (reflejada por una expresión aumentada de la subunidad α_2 de los canales de calcio) conduce a un aumento de la excitabilidad, la transducción de señales y la liberación de neurotransmisores. Los canales de calcio también pueden estar mal regulados en una condición diabética, lo que lleva a un aumento del flujo de calcio en las neuronas sensoriales (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

Schreiber, Anne K y colaboradores (2015) ambos autores relacionan la modulación de los canales de sodio con el aumento en la producción de metilglioxal en pacientes con DNP con diabetes tipo 2, en comparación con aquellos indoloros, este metabolito glucolítico puede activar las terminaciones nerviosas y eleva la liberación de péptidos relacionados con el gen de la calcitonina de los nervios sensoriales e induce sensibilidad térmica y mecánica además, en los estados diabéticos, el metilglioxal también participa en la formación de AGE.

El aumento de la fosforilación de Nav1.6, Nav1.7 y Nav1.8 es otra característica observada en el estado diabético, lo que conduce a un aumento en su actividad. Por lo tanto, la expresión anormal como la función de los canales de sodio TTX-R y TTX-S están vinculadas a la actividad anormal de las fibras nociceptivas. De esta manera, Sun y colaboradores (2012) mostraron que las corrientes de sodio TTX-S y TTX-R aumentan en las neuronas pequeñas en el DRG de los animales diabéticos, lo que se relaciona no solo con trastornos sensoriales, sino también con el aumento de la eficiencia de conductancia en fibras polimodales C, que, a su vez, facilita la transmisión

nociceptiva. Los estudios de microneurografía también han identificado una actividad espontánea, principalmente en las fibras C, la cual está relacionada con el dolor, lo que sugiere un posible mecanismo periférico para el dolor neuropático. (Colloca, L. et al., 2017).

En el (2014) Hoeijmakers y colaboradores vinculan el inicio del fallo de las células beta pancreática y el DNP con las alteraciones genéticas en los canales Nav1.7. Dado que tanto las células beta pancreáticas como las neuronas periféricas expresan canales Nav1.7, un fondo genético susceptible podría facilitar la generación de mutaciones Nav1.7, lo que lleva a una ganancia de función que provoca lesiones de células beta, posteriormente diabetes e hiperexcitabilidad en las neuronas. Según estos autores, esta teoría podría explicar por qué algunos pacientes tienen neuropatía antes del inicio de la diabetes (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015)

De acuerdo con Tesfaye, Solomon y colaboradores (2013) los canales de sodio actúan para generar potenciales de acción, los canales de potasio sirven como frenos moleculares de células excitables, desempeñando un papel importante en la modulación de la hiperexcitabilidad neuronal. Es probable que haya muchos otros cambios en los canales de potasio después de la neuropatía, y su importancia se ve subrayada por el hecho de que los opioides actúan para abrir estos canales y suprimir la actividad en las vías del dolor mediante acciones tanto en la columna vertebral como en el cerebro.

6.0 Tratamientos

De acuerdo con Tesfaye, Solomon (2013) existen varios tratamientos farmacológicos han demostrado ser eficaces en el tratamiento de la DSPN dolorosa, aunque solo la duloxetina y la pregabalina están aprobadas para el tratamiento del dolor neuropático en la diabetes por parte de la

Administración de Medicamentos y Alimentos de EE. UU. Y la Agencia Europea de Medicamentos.

Estudios experimentales recientes sugieren una patogénesis multifactorial de la neuropatía diabética. Los estudios en modelos animales y células cultivadas proporcionan un marco conceptual para la causa y el tratamiento de la neuropatía diabética. Sin embargo, el trabajo limitado en pacientes diabéticos continúa generando mucho debate y controversia sobre la causa o las causas de la neuropatía diabética, y hasta la fecha no tenemos un tratamiento efectivo a largo plazo. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005).

Muchos pacientes requerirán tratamiento farmacológico para los síntomas dolorosos: varios agentes han confirmado su eficacia en ensayos controlados aleatorios publicados, aunque con la excepción de la duloxetina y la pregabalina, ninguno de los otros tiene una licencia específica para el tratamiento de la DPN dolorosa. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005).

Actualmente, solo tres agentes están aprobados en los Estados Unidos para el tratamiento de la DNP: duloxetina, un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina y norepinefrina, pregabalina un anticonvulsivo, fármaco de doble efecto y tapentadol, un agonista del receptor opioide e inhibidor de la recaptación de noradrenalina. Sin embargo, como el alivio del dolor no es satisfactorio para la mayoría de los pacientes, se han utilizado varias intervenciones farmacológicas basadas en la evidencia preclínica y / o clínica, así como en una inferencia del mecanismo de acción; Al no ser efectivos los medicamentos el incesante dolor puede ser angustiante, lo que resulta en trastornos del estado de ánimo que incluyen depresión y ansiedad. (Teshfaye, Solomon *et al.*, 2013).

Al mismo tiempo se están optando por nuevas alternativas terapéuticas naturales las cuales brindan un mejor mecanismo de acción (Schreiber, Anne K *et al.*, 2015). Se han producido bloqueadores de canales Nav relacionados con el dolor. Por lo tanto, los tratamientos giran en torno

a los bloqueadores de los canales de sodio no selectivos, incluidos los anestésicos locales como la lidocaína y la anticonvulsiva carbamazepina en la neuralgia del trigémino. (Tesfaye, Solomon *et al.*, 2013).

El primer paso en el manejo de pacientes con DPN debe ser apuntar a un control glucémico estable y óptimo, los síntomas neuropáticos mejoran no solo con la optimización del control sino también con la evitación de las fluctuaciones extremas de la glucosa en la sangre. (Boulton AJ, Vinik AI *et al.*, 2005). En la tabla 5 podemos observar los distintos grupos de fármacos empleados en el tratamiento de la neuropatía y sus principales mecanismos de acción y alguna de sus complicaciones

Tabla 5 principales fármacos utilizados en el tratamiento de la neuropatía

(Mimenza-Alvarado A, *et al.* 2010).

Grupo de fármacos utilizados para el tratamiento de la neuropatía			
Grupo de fármacos	Nombre	Línea de tratamiento	
Antidepresivos tricíclicos	Amitriptilina, nortriptilina, Imipramina	Primera línea	
Anticonvulsivos (Neuromoduladores)	Gabapentina, pregabalina	Primera línea	
Anestésicos	Parche de lidocaína	Primera línea	
Opioides	Oxicodona	Primera línea	
Otros antidepresivos	Duloxetina	Primera línea	
Clase de medicamentos	Medicamento	Farmacocinética	Eventos adversos importantes
Antidepresivos tricíclicos (AT'S)	Nortriptilina, Amitriptilina	Metabolismo hepático, altos niveles de metabolitos activos en el adulto	Arritmia, bloqueo de conducción, hipotensión ortostática, retención urinaria, constipación, deterioro

			cognitivo; supresión con la suspensión abrupta
Anticonvulsivos	Gabapentina, pregabalina	Eliminación renal, vida media prolongada con el deterioro renal	Somnolencia, vértigo, mareo, edema periférico, aumento de apetito y ganancia de peso; supresión después de suspensión abrupta
Opioides y drogas parecidas a opioides	Oxicodona, morfina, tramadol	Metabolismo hepático y eliminación renal; niveles en el plasma podrían ser más altos en el adulto	Constipación, sedación, náuseas/vómito, depresión respiratorio, síntomas del sistema prurito, supresión con la suspensión abrupta
Anestésicos tópicos	Parche de lidocaína tópica	Absorción sistémica muy pequeña	Rash

6.1 Estimación de la severidad de la Neuropatía.

De acuerdo con Tesfaye, Solomon y colaboradores (2010) La estimación de la severidad de las distintas neuropatías no ha recibido la atención que merece. No es suficiente con identificar a los pacientes que tienen o no tienen DSPN; también se debe determinar la gravedad. Dado que la gravedad de la DSPN es una combinación de síntomas de neuropatía, signos, otras disfunciones y alteraciones, la suma de anomalías en las pruebas neurofisiológicas, las puntuaciones de varias medidas de signos neurológicos, junto con la evaluación de la función de las actividades de la vida diaria puede proporcionar una idea de la gravedad para así poder ofrecer un tratamiento adecuado a cada paciente.

El dolor neuropático crónico es más frecuente en mujeres (8% versus 5.7% en hombres) y en pacientes > 50 años (8.9% versus 5.6% en aquellos <49 años), y afecta más comúnmente a la

parte inferior de la espalda y las extremidades inferiores, cuello y extremidades superiores. (Colloca, Luana *et al.*, 2017).

6.2 Modelos utilizados para la evaluación de la neuropatía

Los roedores se utilizan comúnmente para estudiar los mecanismos fisiopatológicos del dolor, ya que los estudios en humanos pueden ser difíciles de realizar y éticamente limitados. Como el dolor no se puede medir directamente en los roedores, se han desarrollado muchos métodos que cuantifican los comportamientos "similares al dolor" o la nocicepción. Estos métodos conductuales se pueden dividir en nocicepción (espontánea) provocada por estímulo o no provocada por estímulo, en función de si se utiliza o no la aplicación de un estímulo externo para provocar una respuesta de abstinencia. Los métodos evocados por estímulos, que incluyen la prueba manual y electrónica de von Frey, Randall-Selitto y Hargreaves, fueron los primeros en ser desarrollados y continúan siendo de uso generalizado. Sin embargo, las preocupaciones sobre la traducibilidad clínica de la nocicepción evocada por estímulos en los últimos años han llevado al desarrollo y la creciente implementación de métodos no evocados por estímulos, como escalas de muecas, excavación, soporte de peso y análisis de la marcha. (Deuis, JR, Dvorakova, LS y Vetter, I. 2017)

Otro de los métodos sencillos y utilizados para evaluar el daño sobre el sistema nervioso periférico es de plano inclinado, la cual es considerada como una prueba poco invasiva que no necesariamente implica un daño físico al ratón. Esto comparándola con otras pruebas donde es necesario el desarrollo de quemaduras en las extremidades como en la cola (evaluación placa térmica, prueba de movimiento de cola, prueba de hargreaves). Actualmente se han descrito otras pruebas que también evalúan la respuesta a estímulos mecánicos (prueba de Randall-Selitto) pero

estas están destinadas principalmente a ratas ya que estas se aplican con un aumento de fuerza por lo cual no es posible aplicarla en ratones ya que les puede causar una lesión en extremidades.

El método de plano inclinado ha servido para demostrar el daño a nivel sistema nervioso periférico tal como lo hicieron Yilmaz, M. y colaboradores (2016) realizaron un estudio el cual lleva por nombre Efectos neuroprotectores del ácido fólico en la neuropatía periférica diabética experimental; La neuropatía periférica diabética (NPD) se considera ampliamente como una complicación degenerativa de los pacientes diabéticos. La efectividad clínica del ácido fólico (FA) sobre la DPN es incierta. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de AF en DPN mediante electromiografía (EMG), examen histopatológico, inmunohistoquímica, prueba de plano inclinado y niveles de malondialdehído (MDA) como marcador de peroxidación lipídica en ratas diabéticas experimentales. Las puntuaciones de la prueba del plano inclinado fueron más bajas en el grupo de diabetes y más altas en el grupo tratado con AF que en el grupo de control.

Otro estudio donde podemos observar la implementación del plano inclinado el realizado por Erbaş, O. y colaboradores (2016), Efectos neuroprotectores de la administración crónica de levetiracetam en un modelo de neuropatía diabética en ratas. El propósito del estudio fue evaluar los efectos neuroprotectores del levetiracetam (LEV) sobre el DNP en un modelo de DM inducido por estreptozotocina (STZ) en ratas. La DNP se confirmó mediante electromiografía (EMG) y una prueba de función motora el día 21 después de la inyección de STZ. El tratamiento de ratas diabéticas con LEV atenuó significativamente la inflamación y fibrosis en los nervios ciáticos y evitó alteraciones electrofisiológicas.

Estos estudios se basan en el método de plano inclinado el cual fue implementado por primera vez por (Rivlin A, Tator C 1977). Se desarrolló un nuevo método para la evaluación clínica de la función motora en ratas después de una lesión experimental de la médula espinal. El método consiste en colocar al animal en un plano inclinado que se puede ajustar para proporcionar una

pendiente de grado variable, y luego evaluar el ángulo máximo del plano en el que el animal puede mantener su posición sin caer. El método se utilizó para cuantificar la función motora en ratas normales y en ratas sometidas a mielectomía, y mostró consistentemente diferencias importantes entre los dos grupos. El método tiene muchas características positivas: el avión es fácil de construir y de bajo costo; y la prueba es rápida, no invasiva, repetible y consistente.

7.0 Justificación

La diabetes mellitus (DM) es uno de los principales problemas de salud pública en México y el mundo, afectando a más de 500 millones de personas a nivel global (OMS, 2021). Al mismo tiempo, la neuropatía diabética es una de sus complicaciones silenciosas menos estudiadas en México, por lo que es necesaria la búsqueda de tratamientos más efectivos (Tesfaye *et al.*, 2013; Schreiber AK *et al.*, 2015). Actualmente, el control de la diabetes se realiza a través de numerosos agentes antidiabéticos con acción hipoglucemiante, antihiperoglucemiante, así como con la propia insulina humana (Rodríguez, NS. *et al.*, 2017). Sin embargo, los tratamientos farmacológicos se encuentran muchas veces restringidos a la población más vulnerable o de pobreza extrema, traduciéndose en una mayor prevalencia de sus complicaciones, por lo que es importante atender estas necesidades sanitarias. En México al igual que en otros países en vías de desarrollo, se tiene opción la utilización de la terapia alopática y/o la medicina tradicional de forma paralela a los tratamientos farmacológicos, esto debido a la creencia de que por su origen natural son inocuas y su acción de alivio, así como por su accesibilidad. En México más de 380 especies de plantas son utilizadas como tratamiento de la DM, esto a pesar de que su mayoría no cuentan con estudios

preclínicos suficientes que respalden su seguridad, efectividad y en menor medida que describan sus principios activos (Andrade-Cetto *et. al.*, 2005). *Cucurbita pepo* L., es una planta prometedora para el tratamiento de la diabetes, ya que presenta compuestos antidiabéticos efectivos distribuidos en sus diferentes órganos. Al mismo tiempo, las hojas de esta planta prometen ser una fuente accesible para la obtención de moléculas antidiabéticas, ya que es una especie con un cultivo trascendental en la historia de la alimentación humana (Perez G. 2016; Smith BD 1997). En este sentido, el estudio de su acción antidiabética y neuroprotectora de las hojas de *Cucurbita pepo* L. puede permitir llegar a comprender mejor sobre su papel en la prevención de complicaciones neuronales como la neuropatía diabética. Esto último, considerando que existen estudios sobre sus propiedades antioxidantes en sus hojas y la necesidad de fármacos antidiabéticos que además presenten acción protectora (antioxidante). Esto particularmente por fenómenos como el estrés oxidante característico de padecimientos degenerativos. En el caso del estudio de daños provocados sobre el sistema nervioso, existen métodos accesibles y sencillos como el plano inclinado, la varilla giratoria y la prueba de filamento, entre otras. Por lo que su aplicación en animales experimentales con enfermedades como la diabetes mellitus, pueden aportar información relevante sobre su efectividad.

8.0 Hipótesis

Observar un efecto neuroprotector y antidiabético del extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L. a dosis de 600 mg/Kg/día en ratones diabetizados.

9.0 Objetivos

a) Objetivo general

Evaluar el efecto antidiabético y neuroprotector del extracto hidroetanólico de hojas de *Cucúrbita pepo* L. en ratones diabetizados.

b) Objetivos específicos

- Evaluar el efecto antidiabético del extracto EHHC a dosis de 600mg/kg.
- Comparar el efecto antidiabético de las dosis de EHHC de 300mg/kg y 600 mg/kg.
- Registrar el comportamiento conductual de los diferentes grupos de ratones.
- Evaluar la actividad neuroprotectora del EHHC a una dosis de 600 mg/kg en el modelo de plano inclinado.
- Comparar el efecto neuroprotector del EHHC con grupos de ratones control tratados con glibenclamida y vehículo, así como con ratones no diabetizados.

10.0 Materiales y métodos

Figura 3: Estrategia experimental

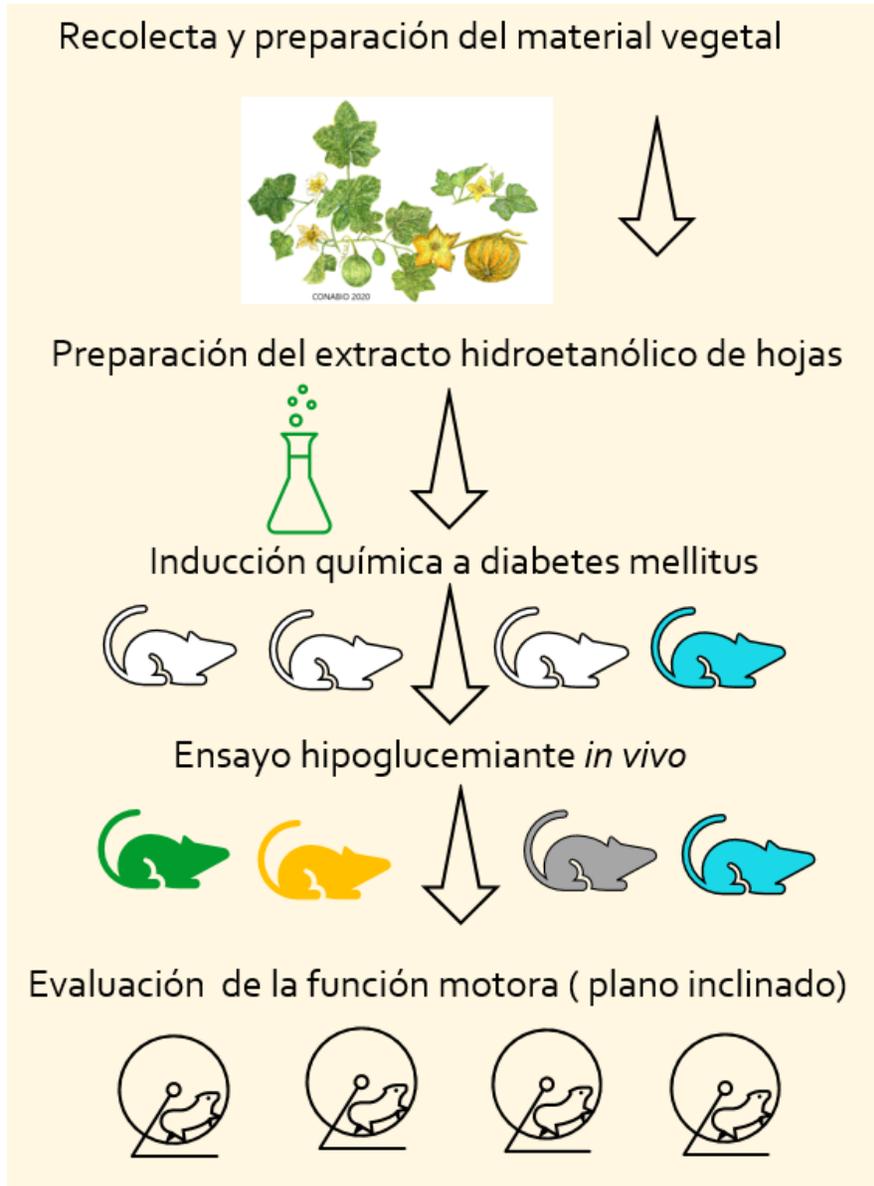


Figura 3: Fase 1: se recolectaron y seleccionaron las hojas de *Cucurbita pepo* para posteriormente dejarla secar. Fase 2: una vez secas las hojas se trituraron para poder preparar el extracto, una vez obtenido se pasó a la Fase 3: la inducción química se llevó a cabo en tres de los cuatro grupos en los cuales se les aplicaron dos dosis de estreptozotocina con 72 horas de diferencia una vez corroborada la diabetes mellitus se procedió con la Fase 4: la cual consiste en el inicio del ensayo hipoglucemiante el cual consiste en administrar el extracto a uno de los grupos, mientras que a otro de los grupos se le administra glibenclamida, a otro vehículo y a un grupo no se le administra ningún tratamiento obtenido muestras de glucosas casa 7 días esta fase duro 21 días a la par de esta fase lleva a cabo la Fase 5: la cual consiste en evaluar a cada uno de los integrantes de cada grupo en el plano inclinado a distintos grados de elevación principalmente 50°, 70° y 90°.

10.3 Recolecta y preparación del material vegetal.

La recolecta de las hojas de *Cucúrbita pepo* L. fue realizada en el campo experimental de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, que se encuentra ubicada en las coordenadas: 18°58'54.1"N 99°13'58.8"W. Durante el desarrollo vegetativo de la planta se mantuvo a una temperatura atmosférica entre 25-30 ° los riegos fueron aplicados durante todo el desarrollo de la planta siguiendo las recomendaciones de (Comisión para la Investigación y la Defensa de las Hortalizas 2005 mencionado en conabio). Finalmente, la recolección se llevó a cabo entre los meses de junio y julio del 2021 y las hojas sanas fueron seleccionadas

10.4 Preparación del extracto hidroetanólico de hojas.

Para la preparación del extracto, se utilizaron 100g de polvo fino y seco de *C. pepo* L. el cual se dejó en maceración junto a 1000 ml de solución hidroalcohólica (70%) durante 3 días, para posteriormente ser filtrado y evaporado. Finalmente, el extracto crudo fue obtenido mediante la utilización de una campana de extracción y la utilización de vacío.

10.5 Inducción química de Diabetes mellitus.

Se adquirieron ratones BALB/c machos que fueron divididos en cuatro grupos (6n), tres grupos de ratones fueron diabetizados con el agente inductor estreptozotocina (STZ) (dosis dual de

135 mg Kg⁻¹ y 75 mg•Kg⁻¹ vía IP c/72 horas). La confirmación de DM (con niveles >200 mg/dL de glucosa en sangre) se corroboró a las 72 horas después del proceso de inducción, mediante un glucómetro digital one touch de tiras reactivas.

11.0 Ensayo hipoglucemiante *in vivo*.

Para la evaluación de la acción hipoglucemiante 3 grupos (6n) de ratones diabetizados fueron tratados por vía oral durante 21 días utilizando diferentes tratamientos. El primer grupo recibió una dosis de extracto hidroetanólico de las hojas de *C. pepo* L. de 600 mg•K, el segundo grupo una dosis de (500 µg•Kg) de Glibenclamida y el tercer grupo 0.4 ml de Solución salina al 0.9% (vehículo). Al mismo tiempo, un grupo de ratones normoglucémicos que no recibió ningún tipo de tratamiento, más que la administración de vehículo (0.4 ml de solución salina) fue utilizado como blanco del experimento. Para la determinación de la acción hipoglucemiante del extracto, los niveles de glucosa sanguínea de todos los grupos fueron registrados cada siete días mediante un corte fino sobre la punta de la cola de los ratones. el uso y manejo de los ratones fue de acuerdo con la NOM-062-ZOO-1999.

12.0 Evaluación de comportamiento durante la prueba de plano inclinado

Para la evaluación del comportamiento se consideraron los siguientes parámetros: el comportamientos defensivo, el estrés social (agresividad e irritabilidad) y aspectos fisiológicos

(principalmente pelo) . Esta evaluación del comportamiento se realizó en cada uno de los grupos durante el periodo en el que duró el ensayo hipoglucemiante y el plano inclinado, así como cada que se realizaba la aplicación de cada uno de los tratamientos sobre los grupos hiperglucémicos (EHHC (600 mg/Kg/día) , vehículo (solución salina al 0.9%), glibenclamida (500 μ g/Kg)) y el grupo normoglucémico considerado como blanco del experimento.

13.0 Estudio Neuroprotector.

13.1 Evaluación de la Función Motora en Plano inclinado

La función motora evaluada con el registro del tiempo de permanencia de los ratones en el plano inclinado (Rivlin y Tator 1977) consistió en la colocación de los mismo sobre cuatro rectángulos de madera, donde tres de los cuales sirven como base mientras que el cuarto sirve como plano inclinado. Este último al mismo tiempo, debe estar ranurado en la parte central cada 6 mm para proporcionar un medio de sujeción para el ratón durante la prueba. Por otro lado, los rectángulos de los costados van unidos al plano inclinado por medio de un tornillo, los cuales tienen marcados los grados de inclinación. Para la parte de evaluación motora el ratón fue colocado de forma transversal, de tal manera que si quería conservar su posición tenían que utilizar ambas extremidades. El plano inclinado fue ajustado para proporcionar una pendiente de grado variable y así poder realizar la evaluación del rendimiento motor a diferentes inclinaciones (50, 70 Y 90°) ver figuras 4, 5. En el presente estudio los ratones se colocaron por un determinado tiempo con su eje del cuerpo perpendicular al plano inclinado. El ángulo inicial de la placa inclinada fue de 50 grados (figura 4, 5), el cual posteriormente fue incrementándose hasta llegar al ángulo de 90°. Las

diferentes pruebas en el plano inclinado se realizaron por triplicado con cada ratón registrándose el peso y el tiempo de permanencia del ratón hasta un máximo de 5s. Los ratones fueron evaluados cada 7 días, durante los 21 días que duró el tratamiento hipoglucemiante.

Figuras 4,5. evaluación de plano inclinado



Figura 4 evaluación a 50°



Figura 5 evaluación a 70°

14.0 RESULTADOS

**Figura 6: Resumen Experimental De Resultados.
Recolecta y Preparación del Material:**



Preparación Del Extracto



Inducción química de Diabetes Mellitus



Ensayo hipoglucemiante *in vivo*



Evaluación de la función motora en plano inclinado



Figura 6: resumen del desarrollo del proyecto

Efecto hipoglucemiante

En el ensayo hipoglucemiante se logró observar el efecto antidiabético del extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L., a partir del día 14 del tratamiento y continuó visualizándose hasta el día 21 del tratamiento. La acción hipoglucemiante del extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L. al mismo tiempo fue comparable a lo observado con glibenclamida y con diferencia significativa cuando fue comparado con el grupo diabetizado al que sólo se le administró vehículo (solución salina) como tratamiento. Por otro lado, el grupo de ratones considerado como blanco experimental, permitió contrastar los niveles de glucosa normal con respecto a los valores hiperglucemiantes de los grupos diabetizados. por otra parte, en el análisis estadístico nos reveló que el único grupo que presenta diferencia significativa es el grupo vehículo los demás grupos, aunque en la gráficas parecían distintos en el análisis no mostró esta diferencia. el presente experimento logró demostrar una mayor eficacia de la dosis de 600 mg/Kg frente a la dosis de 300 mg/kg analizada previamente en el grupo de trabajo y la cual puede ser observada en la figura 7 al día 14 Sin embargo, es necesario continuar realizando estudios de efectividad relacionados con principios activos aislados y/o extractos estandarizados. **Figuras 7,8,9**

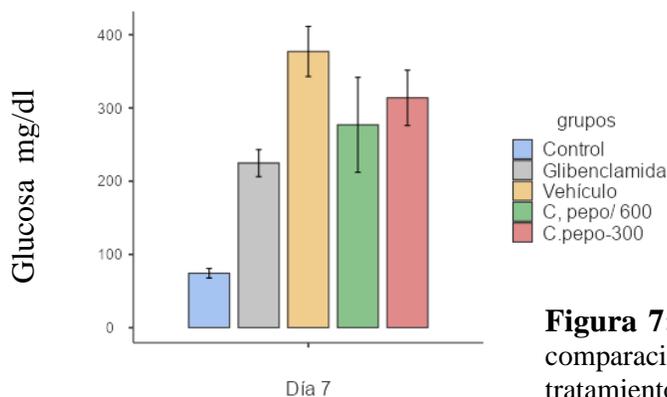


Figura 7: Evaluación de glucosa día 7, se hace la comparación entre grupos tratados con los distintos tratamientos, a simple vista se observan diferencias en los grupos, las cuales fueron corroboradas con el análisis estadístico tukey.

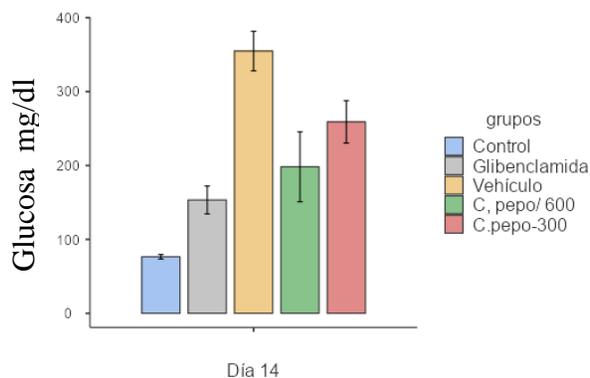


Figura 8: evaluación del efecto hipoglucemiante día 14, a este día los grupos aun presentaban diferencias con respecto al control

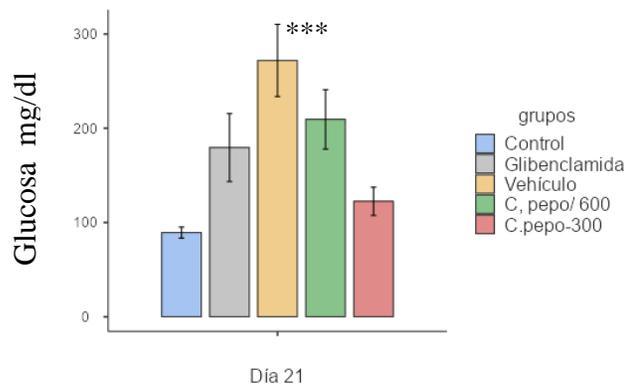


Figura 9: evaluación del efecto hipoglucemiante día 21, en este día se volvieron a comparar los grupos, siendo el grupo vehículo el que presentó una diferencia significativa *** $p < .001$

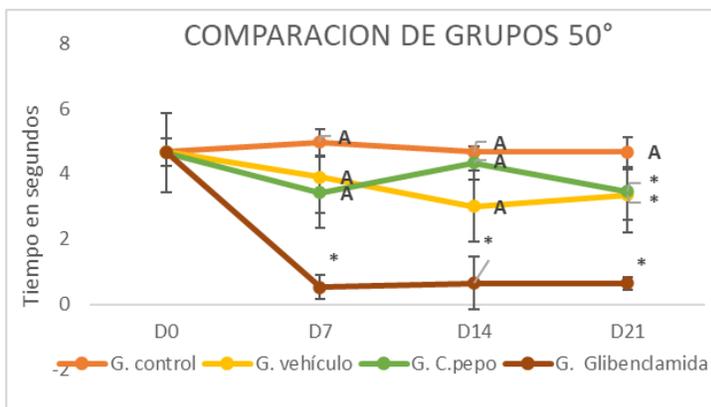
Evaluación del comportamiento durante la prueba de plano inclinado

Referente al comportamiento de los diferentes grupos durante el ensayo hipoglucemiante y el análisis motor, el grupo control (blanco experimental) se mostró hostil al inicio del ensayo, sin embargo, con el avance de las pruebas estos se fueron adaptando a la manipulación y su instinto de huida fue disminuyendo. En cuanto a su comportamiento social, este era tranquilo y no existió agresión entre ellos, su pelo siempre se conservó esponjoso y sedoso con apariencia limpia. Con respecto al grupo de ratones tratados con extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L., este mostró un comportamiento similar al control al inicio del tratamiento. No obstante, a diferencia del grupo control este grupo presentó un pelo erizo durante los primeros días del tratamiento y conforme fue avanzando el experimento, la apariencia de su pelo fue mejorando hasta presentar las características del grupo control (sedoso y esponjoso). A pesar de que los grupos diabetizados

presentaban cierto grado de irritabilidad, el grupo de ratones tratados con *Cucurbita pepo* L., presentó comportamiento con menor agresividad que los grupos tratados con vehículo y glibenclamida. Este comportamiento fue más visible durante las pruebas con el plano inclinado, donde los instintos de huida fueron considerablemente más marcados al momento de ser manipulados para que mantuvieran su posición perpendicular al plano.

Evaluación neuroprotectora en plano inclinado (rendimiento motor).

Una vez montado el plano inclinado, tal y como lo describen Rivlin y Tator 1977, se procedió a evaluar a cada uno de los ratones de los distintos grupos descritos en el apartado 12.0. Sin embargo, aunque el plano inclinado es un método sencillo tanto para su construcción como para su manejo, al comienzo de cada prueba fue necesario un previo entrenamiento de los ratones para obtener y mantener la posición adecuada (esto debido a que fue la primera manipulación). La prueba permitió evaluar el rendimiento motor de los grupos de ratones diabetizados, así como de los ratones normoglucémicos. Observar figuras 10,11,12 sobre análisis estadístico figura 13 muestra el uso del plano inclinado.



*** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$, * $p < 0.05$ Observación de diferencias significativas.
 (A) no presentan diferencias significativas entre los grupos

Figura 10 evaluación en plano inclinado 50°

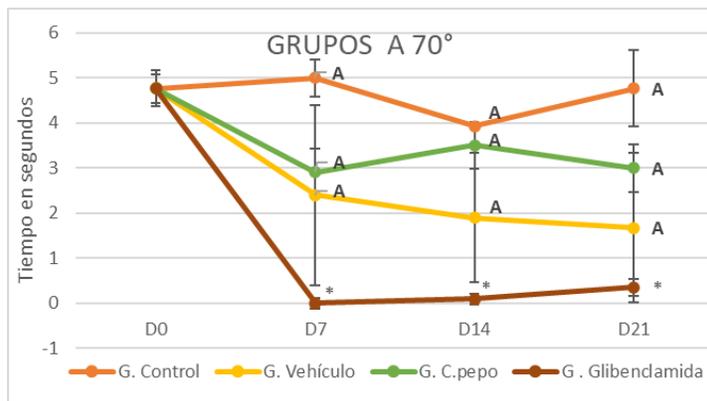
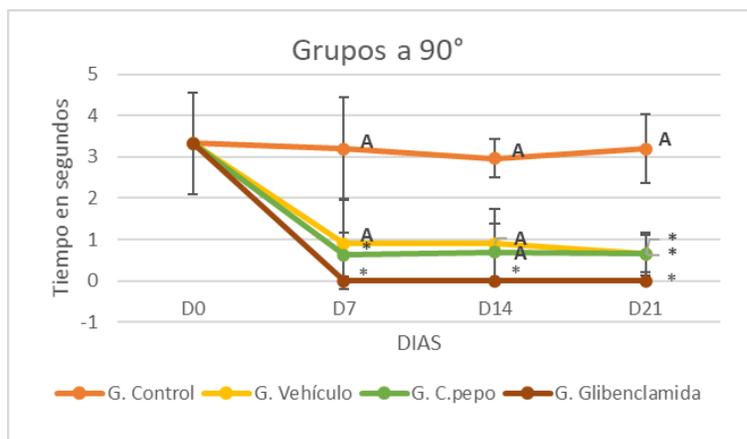


Figura 11 evaluación en plano inclinado 70°



*** p<0.001, ** p<0.01, * p<0.05 Observación de diferencias significativas.

(A) no presentan diferencias significativas entre los grupos

Figura 12 evaluación en plano inclinado 90°



Figura 13: Evaluación de plano inclinado en distintos sujetos a una inclinación de 70°

Para su manejo, al comienzo de cada prueba fue necesario un previo entrenamiento de los ratones para obtener y mantener la posición adecuada (esto debido a que fue la primera manipulación). La prueba permitió evaluar el rendimiento motor de los grupos de ratones diabetizados, así como de los ratones normoglucémicos.

Como se puede observar en las gráficas del rendimiento motor los ratones del grupo control o blanco del experimento, presentaron el mayor rendimiento a una inclinación de 50 grados, mostrando una diferencia significativa con respecto al rendimiento motor observado en los ratones tratados con extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L., vehículo y el fármaco glibenclamida. Sin embargo, al aumentar a 70° de inclinación el plano inclinado se lograron observar diferencias entre los diferentes tratamientos, siendo el grupo de ratones tratados con glibenclamida con el menor rendimiento motor, como se ilustra en la gráfica (B). Al mismo tiempo, a una inclinación de 70° se observa que el grupo tratado con extracto de *Cucurbita pepo* L., y vehículo no muestran diferencias significativas con respecto al blanco del experimento. Finalmente, a una inclinación de 90 grados, el mayor rendimiento motor del grupo de ratones normoglucémico fue más evidente como se observa en la gráfica (c). En la inclinación de 90° grados como se puede observar en la gráfica, no se logra visualizar la diferencia significativa de los rendimientos motores al día 21 de los diferentes tratamientos. Sin embargo, esta diferencia si es visible en el resto de los días de la prueba (día 7 y 14).

15.0 Discusión

Los daños microvasculares son el resultado de complicaciones como la nefropatía, retinopatía y neuropatía diabética. Estos daños son ocasionados por una excesiva producción de radicales libres de oxígeno, cambios osmóticos y acumulación de productos metabólicos debido al desarrollo de la diabetes mellitus. En este contexto, dado que el estrés oxidante es causado por un desequilibrio entre agentes oxidantes y antioxidantes, los productos antioxidantes obtenidos de la dieta juegan papeles importantes para la prevención de las complicaciones. Por lo que, considerar una estrategia terapéutica antidiabética, que además de controlar los niveles de glucosa en sangre permita retardar la aparición de complicaciones por una acción antioxidante es esencial. Actualmente, la medicina tradicional a base de plantas es una alternativa altamente utilizada a nivel mundial. Por un lado, debido a la creencia de que por tratarse de algo natural es sinónimo de inocuidad y por otro, debido a la vivencia de la experiencia de sanación y/o alivio sobre diferentes enfermedades. Con el presente trabajo el extracto hidroetanólico de hojas de *Cucurbita pepo* L. se ha logrado demostrar su acción como agente hipoglucemiante y potencial efecto antioxidante en un modelo *in vivo*, lo que permite acercarse más hacia su uso con fines terapéuticos. No obstante, es importante considerar el estudio de la toxicidad de dicho preparado. En este sentido, componentes de la planta como la cucurbitacina B (Kim et al., 2018) y los tocoferoles son descritos en la literatura como antidiabéticos y en el caso de las cucurbitacinas, además son referidas con acción sobre el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF) y MAPK (Cucurbitacina I). Al mismo tiempo, particularmente la cucurbitacina B también ha demostrado actividades antiinflamatorias y acción hepatoprotectora (Chen, J. 2005).

En el presente trabajo el EHC mostró actividad antidiabética comparable a la del fármaco glibenclamida, esto al comparar los niveles de glucosa en sangre entre los diferentes grupos de

ratones al día 14 y 21 del tratamiento. En este sentido, la dosis de 600 mg/Kg de EHC presentó mayor eficacia que la de 300 mg/Kg, mostrando una mejor disminución de los niveles de glucosa a partir del día 14. Por otro lado, en el ensayo realizado para la valoración de la neuroprotección por el EHC, este último presentó una tendencia hacia el mantenimiento de una mayor capacidad motora que la observada en glibenclamida. Esto al comparar los tiempos de permanencia en el plano inclinado durante todo el tratamiento. Cabe destacar, que el compuesto glibenclamida nunca mejoró la capacidad motora de los ratones durante todo el tratamiento o una tendencia observable. La glibenclamida con efecto hipoglucemiante es uno de los fármacos de mayor elección en México para tratamiento de la diabetes mellitus. Sin embargo, con base a los resultados observados en el modelo de plano inclinado, este compuesto no brinda efecto neuroprotector, por lo que, es necesario acompañar su efectividad como otros fármacos antidiabéticos y/o protectores (antioxidante). De igual manera, al comparar las observaciones de los grupos tratados con EHC y glibenclamida en la prueba de plano inclinado, la planta en estudio muestra una tendencia hacia la neuroprotección que no es observable en el fármaco glibenclamida. Por otro lado, en aspectos de comportamiento el grupo de ratones tratados con *Cucurbita pepo* L., presentó menos irritabilidad que los grupos de ratones tratados con glibenclamida, lo que sugiere nuevamente un efecto favorable del extracto de *Cucurbita* a dosis de 600 mg/kg sobre el sistema nervioso. Al mismo tiempo, características distintivas de un mayor avance de la enfermedad como la piloerección y pérdida de vibrisas fueron observadas en el grupo de ratones tratado con glibenclamida y el grupo control tratado únicamente con vehículo. En este caso, es documentado que la diabetes mellitus inducida por el compuesto estreptozotocina es del tipo 1, por lo que es entendible que exista una acción ineficaz del fármaco glibenclamida al ser un hipoglucemiante. Esto a que dicho modelo antidiabético pueda replantearse con el desarrollo de una diabetes tipo 2. No obstante, si es observable la disminución de los niveles de glucosa en sangre en los ratones

tratados con glibenclamida, así como una mayor supervivencia de los mismo. Con base en estos resultados, la planta promete ser una alternativa más efectiva sobre la diabetes mellitus, al involucrarse de forma paralela la prevención de complicaciones nerviosas que en su mayoría se muestran silenciosa y que los tratamientos farmacológicos no alcanzan a atender.

Dentro de los órganos de *C. pepo* a los cuales se les pueden adjudicar propiedades protectoras (antioxidantes) se encuentran las semillas (tocoferoles, D-chiro-Inosito, vitamina E) el fruto (carotenoides, luteína, ácidos fenólicos y flavonoles) y las hojas (cucurbitacinas, fenoles, vitamina E y tocoferoles). En el caso de la vitamina E se ha descrito que pueden actuar inhibiendo los radicales libres a nivel de membrana celular. Por otra parte, el efecto antidiabético de la planta se atribuye a la presencia del inositol, cucurbitacina B, tocoferoles entre otros componentes documentados también en el tallo de la hoja.

Cu I (Cucurbitacina I) es una de las principales cucurbitacinas que se encuentra presente en las hojas del género *Cucurbita* con propiedades antioxidantes, así como otros productos vegetales como el D-chiro inositol, tocoferoles y fenoles. Debido a esto, la familia cucurbitácea es reconocida como una excelente alternativa para el tratamiento de diversas enfermedades crónico-degenerativas y sus complicaciones. Por otro lado, la Cu I ha demostrado participar en la señalización de TGF- β /Smad, factores importantes que contribuyen a la fibrosis y daño del sistema nervioso (Jeong 2015)

16.0 Conclusiones

Las hojas de *Cucurbita pepo* son una alternativa prometedora para el tratamiento de la diabetes mellitus y sus complicaciones, ya que mostraron un efecto hipoglucemiante comparable al de glibenclamida y una tendencia de neuroprotección a dosis de 600 mg/kg.

La glibenclamida muestra un efecto hipoglucemiante, pero no un efecto neuroprotector motor al ser analizado en el modelo del plano inclinado.

En cuanto a patrones de comportamiento, los ratones tratados con *Cucurbita pepo* L., se vieron menos irritados y sin piloerección que los ratones tratados con glibenclamida y vehículo, sugiriendo una acción de neuroprotección a dosis de 600 mg/kg.

17.0 PERSPECTIVAS

Profundizar en el mecanismo de acción antioxidante y antidiabética de las hojas de *Cucurbita pepo* L.

Identificar los principios activos responsables de la acción antidiabética y antioxidante de *Cucurbita pepo* L.

Estandarizar el extracto de *Cucurbita pepo* L. para su aplicación como antidiabético.

Realizar estudios de toxicidad para conocimiento de su seguridad como tratamiento antidiabético.

Literatura citada

1. Altamirano, L. M. (2001). Epidemiology and diabetes. *Revista de la Facultad de Medicina UNAM*, 44(1), 35-37.
2. Adnan, M., Gul, S., Batool, S., Fatima, B., Rehman, A., Yaqoob, S., ... & Aziz, M. A. (2017). A review on the ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and nutritional composition of *Cucurbita pepo* L. *The Journal of Phytopharmacology*, 6(2), 133-139.
3. Andrade-Cetto, A., & Heinrich, M. (2005). Mexican plants with hypoglycemic effects used in the treatment of diabetes. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 325–348.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.019>
4. Abdelwahab, SI, Hassan, LEA, Sirat, HM, Yagi, SMA, Koko, WS, Mohan, S., ... y Hadi, AHA (2011). Actividades antiinflamatorias de la cucurbitacina E aislada de *Citrullus lanatus* var. *citroides*: papel de las especies reactivas de nitrógeno e inhibición de la enzima ciclooxigenasa. *Fitoterapia* , 82 (8), 1190-1197.
5. Abdelwahab, S. I., Hassan, L. E. A., Sirat, H. M., Yagi, S. M. A., Koko, W. S., Mohan, S., ... & Hadi, A. H. A. (2011). Anti-inflammatory activities of cucurbitacin E isolated from *Citrullus lanatus* var. *citroides*: role of reactive nitrogen species and cyclooxygenase enzyme inhibition. *Fitoterapia*, 82(8), 1190-1197.
6. Boulton, A. J., Malik, R. A., Arezzo, J. C., & Sosenko, J. M. (2004). Diabetic somatic neuropathies. *Diabetes care*, 27(6), 1458–1486. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.6.1458>
7. Lu, A., Yu, M., Fang, Z., Xiao, B., Guo, L., Wang, W., Li, J., Wang, S., & Zhang, Y. (2019). Preparation of the controlled acid hydrolysates from pumpkin polysaccharides and

their antioxidant and antidiabetic evaluation. *International journal of biological macromolecules*, 121, 261–269. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.09.158>

8. Arredondo, A., & De Icaza, E. (2011). Costos de la diabetes en América latina: evidencias del caso mexicano. *Value in health*, 14(5), S85-S88. <https://doi.org/10.1016/j.jval.2011.05.022>
9. Adams, GG, Imran, S., Wang, S., Mohammad, A., Kok, S., Gray, DA, ... y Harding, SE (2011). El efecto hipoglucemiante de las calabazas como medicamentos antidiabéticos y funcionales. *Food Research International*, 44 (4), 862-867.
10. Barrot M. (2012). Tests and models of nociception and pain in rodents. *Neuroscience*, 211, 39–50. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.12.041>
11. Boulton, A. J., Vinik, A. I., Arezzo, J. C., Bril, V., Feldman, E. L., Freeman, R., Malik, R. A., Maser, R. E., Sosenko, J. M., Ziegler, D., & American Diabetes Association (2005). Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes care*, 28(4), 956–962. <https://doi.org/10.2337/diacare.28.4.956>
12. Joseph, B., & Jini, D. (2011). Insight into the hypoglycaemic effect of traditional Indian herbs used in the treatment of diabetes. *Research journal of medicinal plant*, 5(4), 352-376. DOI:10.3923/rjmp.2011.352.376
13. Calderón Salinas, J. V., Muñoz Reyes, E. G., & Quintanar Escorza, M. A. (2013). Estrés oxidativo y diabetes mellitus. *REB. Revista de educación bioquímica*, 32(2), 53-66.
14. Colloca, L., Ludman, T., Bouhassira, D., Baron, R., Dickenson, A. H., Yarnitsky, D., Freeman, R., Truini, A., Attal, N., Finnerup, N. B., Eccleston, C., Kalso, E., Bennett, D. L., Dworkin, R. H., ... Raja, S. N. (2017). Neuropathic pain. *Nature reviews. Disease primers*, 3, 17002. doi:10.1038/nrdp.2017.2

15. Chanda, J., Biswas, S., Kar, A. y Mukherjee, PK (2020). Determinación de cucurbitacina E en algunas hierbas seleccionadas de importancia ayurvédica mediante RP-HPLC. *Revista de Ayurveda y medicina integrativa* , 11 (3), 287-293. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2019.01.002>
16. Conget, I. (2002). Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. *Revista española de cardiología*, 55(5), 528-535.
17. Dabelea, D., Mayer-Davis, E. J., Saydah, S., Imperatore, G., Linder, B., Divers, J., ... & Hamman, R. F. (2014). Prevalence of type 1 and type 2 diabetes among children and adolescents from 2001 to 2009. *Jama*, 311(17), 1778-1786.
18. Derosa G, Maffioli P. Efficacy, and safety profile evaluation of acarbose alone and in association with other antidiabetic drugs: a systematic review. *Clin Ther* 2012; 34(6): 1221-36.
19. DeFronzo RA, Ratner RE, Han J, Kim DD, Fineman MS, Baron AD. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control and weight over 30 weeks in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2005; 28(5): 1092-100.
20. Deuis, JR, Dvorakova, LS y Vetter, I. (2017). Métodos utilizados para evaluar las conductas dolorosas en roedores. *Fronteras en neurociencia molecular*, 10. doi: 10.3389 / fnmol.2017.00284
21. Drucker DJ. Enhancing incretin action for the treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26(10): 2929-40.
22. El-Sayed, Mortada & Hashash, Maher & Abdel-Hady, Afaf & Abdel Hady, Heba & Abdel-lateef, ezzat & morsi, eman. (2016). total phenolic and flavonoid contents and antioxidant

activity of lantana camara and cucurbita pepo (squash) extracts as well as gc-ms analysis of lantana camara essential oils. world journal of pharmaceutical research. 6805. 137-153. 10.20959/wjpr20171-7637.

23. Erbaş, O., Oltulu, F., Yılmaz, M., Yavaşoğlu, A., & Taşkiran, D. (2016). Neuroprotective effects of chronic administration of levetiracetam in a rat model of diabetic neuropathy. *Diabetes research and clinical practice*, 114, 106-116.
24. Evans JL, Rushakoff RJ. Oral pharmacological agents for type 2 diabetes: oral agents, incretins and other «non-insulin» pharmacologic interventions for diabetes, In: *The Endocrine Source, Diabetes Manager, E. Text, Editor; 2010.*
25. Fapohunda, S. O., Adewumi, A. A., & Jegede, D. O. (2018). Cucurbitaceae-the family that nourishes and heals. *MicroMedicine*, 6(2), 85-93.
26. Fatani, AJ, Al - Rejaie, SS, Abuohashish, HM, Al - Assaf, A., Parmar, MY, Ola, MS y Ahmed, MM (2015). Efectos neuroprotectores de *Gymnema sylvestre* sobre la neuropatía diabética inducida por estreptozotocina en ratas. *Medicina experimental y terapéutica*, 9 (5), 1670-1678.
27. Fox, J., & Weisberg, S. (2020). *car: Companion to Applied Regression*. [R package]. Retrieved from <https://cran.r-project.org/package=car>.
28. Glamočlija U, Jevrić-Čaušević A. Genetic polymorphisms in diabetes: influence on therapy with oral antidiabetics. *Acta Pharm* 2010; 60(4): 387-406
29. Gore, M., Brandenburg, NA, Dukes, E., Hoffman, DL, Tai, KS y Stacey, B. (2005). La gravedad del dolor en la neuropatía periférica diabética se asocia con el funcionamiento

del paciente, los niveles de síntomas de ansiedad y depresión y el sueño. *Revista de manejo del dolor y los síntomas*, 30 (4), 374-385.

30. Gómez-Pompa, A. (1993). Las raíces de la etnobotánica mexicana. *Acta Biológica Panamensis*, 1, 87-100.
31. González-Darder, J. M. (2000). Modelos animales de dolor y aspectos éticos de la experimentación animal. *Rev Soc Esp Dolor*, 7, 313-8.
32. Gribble FM, Manley SE, Levy JC. Randomized dose ranging study of the reduction of fasting and postprandial glucose in type 2 diabetes by nateglinide (A-4166). *Diabetes Care* 2001; 24(7): 1221-5.
33. Cho, N., Shaw, J. E., Karuranga, S., Huang, Y. D., da Rocha Fernandes, J. D., Ohlrogge, A. W., & Malanda, B. (2019). IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. *Diabetes research and clinical practice*, 138, 271-281
34. Chen, J. C., Chiu, M. H., Nie, R. L., Cordell, G. A., & Qiu, S. X. (2005). Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: structures and biological activities. *Natural product reports*, 22(3), 386–399. <https://doi.org/10.1039/b418841c>
35. Hernández-Ávila, M., Gutiérrez, J. P., & Reynoso-Noverón, N. (2013). Diabetes mellitus en México: El estado de la epidemia. *Salud pública de México*, 55, s129-s136.
36. HERNANDEZ, J. L. F. (2014). Estudio quimiotaxonómico y efecto sobre la glucemia del güereque: *Ibervillea lindheimeri* (A Gray) Greene.
37. Hart, W., & Collazo Herrera, M. (1998). Costos del diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus en diferentes países del mundo. *Rev. cuba. endocrinol*, 212-20.
38. Hakamata W, Kurihara M, Okuda H, Nishio T, Oku T. Design, and screening strategies for alpha-glucosidase inhibitors based on enzymological information. *Curr Top Med Chem* 2009; 9(1): 3-12

39. Hernández, D. P. D., & Herrera, L. C. B. (2002). ¿ Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. *Iatreia*, ág-179.
40. Hernández AM, Norma Oficial Mexicana, NOM-015-SSA2-2010, Para la prevención, tratamiento y control de la diabetes mellitus en la atención primaria. Secretaría de Salud; 2010.
41. Iñigo Aizpurua, Miren Albizuri, Iciar Alfonso, María Armendáriz, Fátima Baranda, Sergio Barrondo, Saioa Domingo, Maitane Elola, Arritxu Etxeberria, Julia Fernández, Ana Isabel Giménez, Naroa Gómez, Juan José Iglesias, Josune Iribar, Nekane Jaio, Itxasne Lekue, M^a José López, Javier Martínez, Carmela Mozo, Elena Olloquiegi, Elena Ruiz de Velasco, Rita Sainz de Rozas, Elena Valverde, Miren Zubillaga. 2020. revisión de las gliflozinas: nuevas evidencias y lugar en terapéutica. *información farmacoterapéutica infac* / volumen 28 • nº 4 pag 1-13
42. Imaeda N, Tokudome Y, Ikeda M, et al. (1999) Foods contributing to absolute intake and variance in intake of selected vitamins, minerals and dietary fiber in middle-aged Japanese. *J Nutr Sci Vitaminol* 45, 519–532
43. Joseph, B., & Jini, D. (2013). Antidiabetic effects of *Momordica charantia* (bitter melon) and its medicinal potency. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 3(2), 93–102. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(13\)60052-3](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(13)60052-3)
44. Jeong, M. H., Kim, S. J., Kang, H., Park, K. W., Park, W. J., Yang, S. Y., & Yang, D. K. (2015). Cucurbitacin I Attenuates Cardiomyocyte Hypertrophy via Inhibition of Connective Tissue Growth Factor (CCN2) and TGF- β /Smads Signalings. *PloS one*, 10(8), e0136236. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136236>
45. Kulczyński, B., & Gramza-Michałowska, A. (2019). The Profile of Secondary Metabolites and Other Bioactive Compounds in *Cucurbita pepo* L. and *Cucurbita moschata* Pumpkin

Cultivars. *Molecules* (Basel, Switzerland), 24(16), 2945.

<https://doi.org/10.3390/molecules24162945>

46. Kim KH, Lee IS, Park JY, Kim Y, An EJ, Jang HJ. Cucurbitacin B Induces Hypoglycemic Effect in Diabetic Mice by Regulation of AMP-Activated Protein Kinase Alpha and Glucagon-Like Peptide-1 via Bitter Taste Receptor Signaling. *Front Pharmacol*. 2018 Sep 21;9:1071. doi: 10.3389/fphar.2018.01071. PMID: 30298009; PMCID: PMC6161541.
47. Karara AH, Dunning BE, McLeod JF. The effect of food on the oral bioavailability and the pharmacodynamic actions of the insulinotropic agent nateglinide in healthy subjects. *J Clin Pharmacol* 1999; 39(2): 172-9.
48. Lee, JY, Choi, HY, Park, CS, Pyo, MK, Yune, TY, Kim, GW y Chung, SH (2017).GS-KG9 mejora el dolor neuropático diabético inducido por estreptozotocina en ratas. *Revista de investigación de ginseng* , 43 (1), 58-67.
49. Martín Muñoz, M. C., Albarrán Juan, M. E., & Lumbreras Marín, E. M.. (2004). Revisión sobre el dolor neuropático en el síndrome del pie diabético. *Anales de Medicina Interna*, 21(9), 50-55. Recuperado en 25 de marzo de 2019, de http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-71992004000900008&lng=es&tlng=es.
50. Maxine A. Papadakis, Stephen J. McPhee, Michael W. Rabow, Kenneth R. McQuaid 2022 diagnóstico clínico diabetes mellitus, fármacos para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2
51. Ovando, L. M. M., Boettler, R. A. B., Verduzco, C. V., & Mera, A. L. (2011). *Documento de diagnóstico de las especies cultivadas de Cucurbita L.* Universidad Nacional Autónoma de México

52. Olmos, P. R., Niklitschek, S., Olmos, R. I., Faúndez, J. I., Quezada, T. A., Bozinovic, M. A., ... & Bravo, F. A. (2012). Bases fisiopatológicas para una clasificación de la neuropatía diabética. *Revista médica de Chile*, *140*(12), 1593-1605.
53. OMS-Organización Mundial de la Salud: (2013):Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023 recuperado de https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf consultado 25 noviembre 2021
54. Perez Gutierrez, R. M. (2016). Review of Cucurbita pepo (pumpkin) its phytochemistry and pharmacology. *Med chem*, *6*(1), 2161-0444.
55. Ratnam, N., Najibullah, M. y Ibrahim, MD (2017). Una reseña sobre Cucurbita pepo. *Int J Pharm Phytochem Res* , *9* , 1190-4.
56. Rodríguez-Rivera, N. S., Cuautle-Rodríguez, P., & Molina-Guarneros, J. A. (2017). Hipoglucemiantes orales para el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2: uso y regulación en México. *Revista del Hospital Juárez de México*, *84*(4), 203-211.
57. Rosibel de los Ángeles Rodríguez Bolaños; Luz Myriam Reynales Shigematsu; Jorge Alberto Jiménez Ruíz; Sergio Arturo Juárez Márquez; Mauricio Hernández Ávila. Costos directos de atención médica en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en México: análisis de microcosteo. 2010 revista panamericana de salud ISSN: 1020-4989, Vol: 28, Issue: 6, Page: 412-420. recuperado de <https://www.scielosp.org/article/rpsp/2010.v28n6/412-420/es/#ModalArticles>
58. R Core Team (2020). *R: A Language and environment for statistical computing*. (Version 4.0) [Computer software]. Retrieved from (R packages retrieved from MRAN snapshot 2020-08-24).

59. Salehi, B., Capanoglu, E., Adrar, N., Catalkaya, G., Shaheen, S., Jaffer, M., ... & Capasso, R. (2019). Cucurbits plants: A key emphasis to its pharmacological potential. *Molecules*, 24(10), 1854.
60. Stumvoll M, Nurjhan N, Perriello G, Dailey G, Gerich JE, et al. Metabolic effects of metformin in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1995; 333(9): 550-54
61. Stumvoll M, Haring HU. Glitazones: clinical effects and molecular mechanisms. *Ann Med* 2002; 34(3): 217-24.
62. Sogame Y, Kitamura A, Yabuki M, Komuro S, Takano M. Transport of biguanides by human organic cation transporter OCT2. *Biomed Pharmacother* 2013; 67(5): 425-30
63. Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM) Proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad. CONABIO Cucurbita pepo recuperdo de http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseguridad/pdf/20870_sg7.pdf 5 de diciembre 2021
64. Sun W, Miao B, Wang XC, Duan JH, Wang WT, Kuang F, Xie RG, Xing JL, Xu H, Song XJ, et al. La reducción de la falla de conducción del axón principal de las fibras C nociceptivas polimodales contribuye a la neuropatía diabética dolorosa en ratas. *Cerebro*. 2012; 135 : 359–375
65. Smith, B. D. (1997). The initial domestication of Cucurbita pepo in the Americas 10,000 years ago. *Science*, 276(5314), 932-934.
66. Schreiber, A. K., Nones, C. F., Reis, R. C., Chichorro, J. G., & Cunha, J. M. (2015). Diabetic neuropathic pain: Physiopathology and treatment. *World journal of diabetes*, 6(3), 432–444. <https://doi.org/10.4239/wjd.v6.i3.432>

67. Skyler, JS, Bakris, GL, Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, RH, Groop, L., ... y Ratner, RE (2017). Diferenciación de la diabetes por fisiopatología, historia natural y pronóstico. *Diabetes* , 66 (2), 241-255.
68. The jamovi project (2021). *jamovi*. (Version 1.6) [Computer Software]. Retrieved from <https://www.jamovi.org>
69. Tesfaye, S., Boulton, A. J., & Dickenson, A. H. (2013). Mechanisms and management of diabetic painful distal symmetrical polyneuropathy. *Diabetes care*, 36(9), 2456–2465. <https://doi.org/10.2337/dc12-1964>
70. Tesfaye, S., Boulton, A. J., Dyck, P. J., Freeman, R., Horowitz, M., Kempler, P., ... & Toronto Diabetic Neuropathy Expert Group. (2010). Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. *Diabetes care*, 33(10), 2285-2293..
71. Vilar, S., Castillo, JM, Martínez, PVM, Reina, M. y Pabón, M. (2018). Alternativas terapéuticas en la neuropatía diabética dolorosa: un metaanálisis de ensayos controlados aleatorios. *La revista coreana del dolor* , 31 (4), 253.
72. Wu MS, Johnston P, Sheu WH, Hollenbeck CB, Jeng CY, Goldfine ID, Chen YD, et al. Effect of metformin on carbohydrate and lipoprotein metabolism in NIDDM patients. *Diabetes Care* 1990; 13(1): 1-8.
73. Xia T & Wang Q (2006) Antihyperglycemic effect of Cucurbita ficifolia fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fitoterapia* 77, 530–533
74. Yadav, M., Jain, S., Tomar, R., Prasad, G. B. K. S., & Yadav, H. (2010). Medicinal and biological potential of pumpkin: an updated review. *Nutrition research reviews*, 23(2), 184-190.

75. Yilmaz, M., Aktug, H., Oltulu, F., & Erbas, O. (2016). Neuroprotective effects of folic acid on experimental diabetic peripheral neuropathy. *Toxicology and Industrial Health*, 32(5), 832–840. <https://doi.org/10.1177/0748233713511513>
76. Yau H, Rivera K, Lomonaco R, Cusi K. The future of thiazolidinedione therapy in the management of type 2 diabetes mellitus. *Curr Diab Rep* 2013; 13(3): 329-41.
77. Zhu, H. Y., Chen, G. T., Meng, G. L., & Xu, J. L. (2015). Characterization of pumpkin polysaccharides and protective effects on streptozotocin-damaged islet cells. *Chinese journal of natural medicines*, 13(3), 199–207. [https://doi.org/10.1016/S1875-5364\(15\)30005-4](https://doi.org/10.1016/S1875-5364(15)30005-4)
78. Zárate A, Basurto L, Saucedo R, Hernández-Valencia M. Guía para seleccionar el tratamiento farmacológico en diabetes 2. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2010; 3(48): 293-6.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

Programa Educativo de Calidad *Acreditado* por el CACEB 2018-2023

Cuernavaca, Morelos a 7 de febrero de 2023

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES
P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **USIEL SANTOS ORTEGA**, con el título del trabajo: **EFEECTO ANTIDIABÉTICO Y NEUROPROTECTOR DEL EXTRACTO HIDROETANÓLICO DE HOJAS DE *Cucurbita pepo* Linnaeus EN RATONES DIABETIZADOS.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

A T E N T A M E N T E
Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: M. EN C. CAROLINA ABARCA CAMACHO

SECRETARIO: DRA. MARIA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA

1° VOCAL: DR. NAHIM SALGADO MEDRANO

SUPLENTE: DR. DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ

SUPLENTE: DRA. MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES



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

DAVID OSVALDO SALINAS SANCHEZ | Fecha:2023-02-07 18:38:35 | Firmante

j8T8uMnlkT0a6hGnJCqmGbSwGu7p/iDU5lwAfqmZIO8oSzSd2pDRpgfF64Vlhd5JhxzG/5Tq8/3MQVvkwndoeNvkiQ6HSNVBy1d8mYQpzxxv25EZuzuyi/YWjHkRLcop1Cnq4wh98r2Tbh+A83DhbJA9TJRmJSA9qv9Foa3f7pqfY5TH/BxugrF+pYt/FTFBEW0wBPAM22OWIEQJA6jVXOYNZbbW8mmUXcK9SDcUL9LGUXGSKIceWDYWGgaqOmTilkVpbg09dvlOmOG2S7BqlH2rTooFg2sxUGixZJvByjLmmtVS9kbCatFV65t7wGZyWdpxAD3QEL3K0ltisPTw==

NAHIM SALGADO MEDRANO | Fecha:2023-02-08 00:23:44 | Firmante

IOcADIRo1pdrxAXNoQrIXNYH7xMtJ55gGbuM/ZdoPjZ5nxL8dm5LvJwk9czuxW5OQKMB0XhMi6GXcnaegotgz7nUzs53mw8dcdU7HzsmjqV8wvY/CdJI5i6/49O6BYExCChDm4/NOK/BV/FdXIKPaVs48QPylj2H2K02s8qcnwI22mTYjVrB3PIEw+vYW9ZJ6BVLqW/Bn7I2tJciB8GvvrKIS5HLjvix18VojNEjamoFgVBvn/1DL0gBc7NFKRPOfXr/+5JSUtWCREXxA PwPbfQccyQPFKEvWQG5wlCmAv++1rIKzXgmy9doM+tYr6mxjUEiYUBsd0KqhtGYD7JA==

CAROLINA ABARCA CAMACHO | Fecha:2023-02-08 10:41:54 | Firmante

nLmCoggkjYvltN0laHghCjJgC72+F6TrrsIDY8ckIRohAvXxi4HKwBT4/7DEg345hN/tLFLGCGCet44Pypf7MpXVBPIuuz0CFqouup0erbnsU5fN06nTO48H/sTbN09J/55Dy9ffXhavMrXAYCdx90Ye6e/RI6osy01+IHjOqsaVhHoyZHwBrNoiU0D734LlBmPsPkdd+sCyyY4K4+ibu67VE+ZHS1qAGfs0QktjU3Or5S/IWRJQQGs9eUp40fpyThV/i2tskbVtUfhtXvUtvY0SSMoCdwCwv7n1I62b8tYsndtEktbiMDLSti30Jbs+yTppPRT0qpxkic/8Q==

MARIA CRYSTAL COLUMBA PALOMARES | Fecha:2023-02-09 23:37:14 | Firmante

rwPezQEOMGK9BFgc6dg7v/wmxoup/RH+dQ83L1UAGTepAdxJ17Gm2HtGKPOizr9zuF/7MnLoKLnUoJmRL1Buy0I1XwlpOKH9c1oPhRUI+yar/K8e2qCmJkUdIO5ZfH2S8MXU nxlpbVea9Sj7ETAP5xcPXMonskzJgjk/N2mluky6i00/JeVXegu/7nJJ7yLyz1kDMV7lgTEHszfIKuMU7WkrrQACj9trLpsP9PjvCFXNdhx4O4ghl9UoTHJ+finQWG5qhYKLwKSQRsfDmtsogGgEA+INTAhpceTHHPf/+lInD2sBBVv+N3h7x7Fci1k5zhalSvjlaaOgNtKQPAHA==

MARIA LUISA TERESA VILLARREAL ORTEGA | Fecha:2023-02-17 13:13:55 | Firmante

KVAaCwg70uN6EZLChcpDy58+irf11Qoy68rKchZ8wvsqHGkbsHu7jcfmYrwp4NdA1zsbHXrg/mBbqkPH1FZeP7TCsc0z+831PVauieQrqZ6UIU88tgMIECGYtOgK8P0PX+UfvahXMTx6CbYVN8eEMjGpz1lktx6cAif54zjt8D1Xd7naTmdbWU/BCuqQ175Jl+3A86yv49ZxiDbVOrqoroAnh1qTgjcSnDgVFKlrNGHwucxujc+HthPrBOnxhsb7oYeRMAsi7rgRCPYXa I57zWGZD8FARli+LboGLaQWc1cycD2CsFb48tiwnlWew6xiHoH7Qzf4XD9gJ+p9eA==

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



AikjG8VE3

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/NqfVA5JzauBBxAsAFLs3zCDGQ8r6ekr2>

