

Artículo de Revisión

# Modelos murinos de diabetes para el estudio de compuestos bioactivos

Murine models of diabetes for the study of bioactive compounds

Luis Fernando López-Soto<sup>1</sup>, Carmen Candia Plata<sup>1</sup>, Viviana Reyes Marquez<sup>3</sup>, Jeanette Arredondo Damian<sup>2</sup>, Ana Lourdes Mata-Pineda<sup>1</sup>, Gerardo Álvarez Hernández<sup>1</sup>, Rafael Lorenzana Basaldúa<sup>4</sup> y Adriana Soto-Guzmán<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora. Colosio y Reforma S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>2</sup> Programa de Posgrado en Ciencias de la Salud, Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>3</sup> Departamento de Ciencias Químico Biológicas, Universidad de Sonora. Luis Encinas y Rosales S/N, Col. Centro, C.P. 83,000, Hermosillo, Sonora, México.

<sup>4</sup> Clínica Veterinaria Odín, Israel González y Av. Cuatro, no. 112, Col Bugambillas, C.P. 83,140, Hermosillo, Sonora, México.

\*Correspondencia: [adriana.soto@unison.mx](mailto:adriana.soto@unison.mx) (Adriana Soto-Guzmán)

DOI: <https://doi.org/10.54167/tch.v18i1.1402>

Recibido: 06 de noviembre de 2023; Aceptado: 13 de febrero de 2024

Publicado por la Universidad Autónoma de Chihuahua, a través de la Dirección de Investigación y Posgrado

Editor de Sección: Dr. David Morales-Morales

## Resumen

La diabetes es una enfermedad metabólica de alta prevalencia internacional. La hiperglicemia y sus complicaciones derivadas son la principal característica de la diabetes. El desarrollo de fármacos para el control glicémico y sus complicaciones ha sido del interés de la comunidad científica por muchos años y las estrategias para obtener evidencia de los efectos biológicos de las sustancias y extractos de plantas son diversas. Los modelos murinos son herramientas experimentales que permiten comprender los mecanismos fisiopatológicos de la diabetes, así como para evaluar los efectos de compuestos obtenidos de fuentes naturales, así como sintéticos sobre la hiperglicemia, el estrés oxidativo, la inflamación y la cicatrización de heridas en ratas y ratones diabéticos. En esta revisión se describen los modelos murinos para el estudio de la diabetes más frecuentemente reportados en la literatura científica actual y las estrategias que en ellos se utilizan para llevar a cabo el estudio de la actividad biológica de extractos de plantas o compuestos sintéticos.

**Palabras clave:** rata diabética, ratón diabético, compuestos bioactivos, hipoglicemiante, antioxidante, antiinflamatorio, cicatrización.

## Abstract

Diabetes is a metabolic disease of high international prevalence. Hyperglycemia and its derived complications are the main characteristics of diabetes. The development of drugs for glycemic control has been of interest to the scientific community for many years, and the strategies to obtain evidence of the biological effects of substances and plant extracts are diverse. Murine models are experimental tools for understanding the pathophysiological mechanisms of diabetes and evaluating the effects of compounds obtained from natural sources and synthetic ones on hyperglycemia, oxidative stress, inflammation, and wound healing in rats and diabetic mice. This review describes the murine models for the study of diabetes most frequently reported in the current scientific literature and the strategies used in them to study the biological activity of plant extracts or synthetic compounds.

**Keywords:** diabetic rat, diabetic mice, bioactive compounds, hypoglycemic, antioxidant, anti-inflammatory, wound healing.

## Introducción

La diabetes es una enfermedad metabólica y compleja que tiene como característica principal la hiperglicemia crónica (Aleppo *et al.*, 2022). La hiperglicemia se origina como consecuencia de la baja entrada de glucosa a las células causada por la deficiente producción de insulina por el páncreas o por defectos del receptor de insulina, en los transportadores de glucosa o en otras moléculas participantes de la ruta de la entrada y asimilación de la glucosa en las células (ElSayed *et al.*, 2022).

La glucosa en circulación sanguínea se une a los grupos amino en las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos desencadenando una serie de reacciones reversibles que generan bases de Schiff y productos de Amadori, compuestos altamente inestables que dan lugar a productos de glucosilación avanzada (PGA) (Cárdenas-León *et al.*, 2009). Los PGA se pueden unir a proteínas, ácidos nucleicos, lípidos e incluso formar entrecruzamientos PGA-PGA y durante estos procesos se da la formación de radicales libres de oxígeno que activan respuestas celulares proinflamatorias (Cárdenas-León *et al.*, 2009; Seow *et al.*, 2012). Los PGA son reconocidos por los receptores para PGA (RPGA) en las superficies celulares y con ello activan rutas de transducción de señales reguladoras tales como senescencia, apoptosis, inflamación y estrés oxidativo (Rabbani y Thornalley, 2018). Una elevación en la cantidad de PGA en circulación sanguínea se asocia directamente al desarrollo acelerado de esclerosis vascular, hipoxia e inflamación tisular crónica propios de la patogénesis de las complicaciones vasculares de la diabetes (enfermedad cardiovascular, retinopatía, nefropatía, neuropatía y pie diabético) (Cárdenas-León *et al.*, 2009).

Existen varios tipos de diabetes entre los que se encuentran la diabetes tipo 1 (DT1), la diabetes tipo 2 (DT2), la diabetes gestacional, y otros tipos menos frecuentes que se originan por la presencia de síndromes monogénicos, disfunción pancreática o que son inducidas químicamente por intoxicación o tratamientos farmacológicos (Aleppo *et al.*, 2022). Aunque son considerables los avances en el entendimiento de la diabetes aún existen dudas respecto a los mecanismos implicados en su desarrollo y complicaciones (Cárdenas-León *et al.*, 2009; Aylwin, 2016; Khan *et al.*, 2019). Cuantiosa información sobre los mecanismos fisiopatológicos y moleculares de la diabetes y sus complicaciones se ha obtenido mediante la realización de investigación en animales empleando gatos, perros y

roedores a los que se les induce el desarrollo de diabetes o en casos específicos lo desarrollan espontáneamente (Aylwin, 2016; Brito-Casillas *et al.*, 2016). Particularmente, los modelos *in vivo* de diabetes que emplean ratas y ratones ofrecen la ventaja de ser económicos en comparación a otros especímenes de mayor tamaño (Brito-Casillas *et al.*, 2016).

El control glicémico es primordial para el manejo de la diabetes y son muchos los estudios que han permitido el avance en este campo, desde la producción de insulina, metformina y sulfonilureas, seguidas del surgimiento de los inhibidores de alfa glucosidadas, las tiazolinedionas (TZD) y las meglitinidas en los 90s, y posterior al año 2000 surgen las incretinas y los inhibidores de los cotransportadores de sodio-glucosa tipo 2 (ISGLT2) (Nauck *et al.*, 2021). Asimismo, a casi un siglo desde el inicio del uso clínico de insulina exógena para el tratamiento de la diabetes se siguen haciendo investigaciones para mejorar sus preparaciones, los dispositivos con los que se aplica, desarrollo de fármacos coadyuvantes, preparaciones para su administración oral, nasal y dérmica, entre otras, para lo cual se requiere el empleo de modelos murinos en su fase de investigación preclínica (Hallschmid, 2021; Reidy *et al.*, 2021).

En búsqueda de una alternativa a los medicamentos alopáticos, los tratamientos tradicionales han sido ampliamente estudiados para el manejo de la diabetes. Se encuentran disponibles más de 400 plantas, de las cuales solo de una fracción se ha estudiado científica y clínicamente su eficacia, demostrándose que la presencia de compuestos flavonoides, fenólicos, terpenoides y cumarinas son efectores de carácter antidiabético en las plantas que los poseen (Kumar-Shubham, 2021). Algunos ejemplos de fármacos hipoglicemiantes que se obtienen de origen natural son acarbosa, miglitol y voglibose, y como tratamiento de problemas circulatorios el Pycnogenol®. Una ventaja de los medicamentos a base de hierbas es la baja atribución de efectos adversos, por lo que resultan ser blanco de interés de estudio en la búsqueda de nuevas moléculas con efecto antidiabético (Kumar-Shubham, 2021).

En la actualidad la diabetes representa un problema de salud pública mundial debido a su alta prevalencia y mortalidad. Los modelos animales nos permiten elucidar los aspectos fisiopatológicos de la diabetes y avanzar en el desarrollo de nuevos tratamientos para control glucémico y para inhibir el desarrollo y avance de las complicaciones vasculares de la diabetes (Aylwin, 2016; Kumar-Shubham, 2021). Se realizó una revisión de artículos científicos actuales sobre modelos animales para el estudio de la diabetes y sus tratamientos en las plataformas PubMed, SciELO, Scopus y Google Académico. En la presente revisión narrativa se describen los modelos murinos de diabetes más empleados en la actualidad para el estudio de compuestos naturales y sintéticos con fines terapéuticos, así como las estrategias metodológicas para llevarlos a cabo.

## Modelos animales de experimentación

La investigación científica para el diseño de nuevos medicamentos debe de llevarse a cabo de manera estructurada iniciando con ensayos *in silico* e *in chimico* que generen evidencia de la pertinencia de una siguiente etapa de estudio en microorganismos o cultivos de células de mamíferos (*in vitro*) que justifique el uso de animales de experimentación (*in vivo*) para evaluar los efectos farmacológicos y toxicológicos. Una vez concluidos los ensayos en modelos animales que descarten el riesgo en su uso se da paso a la etapa clínica de la investigación (Fig. 1) (Díaz *et al.*, 2020).

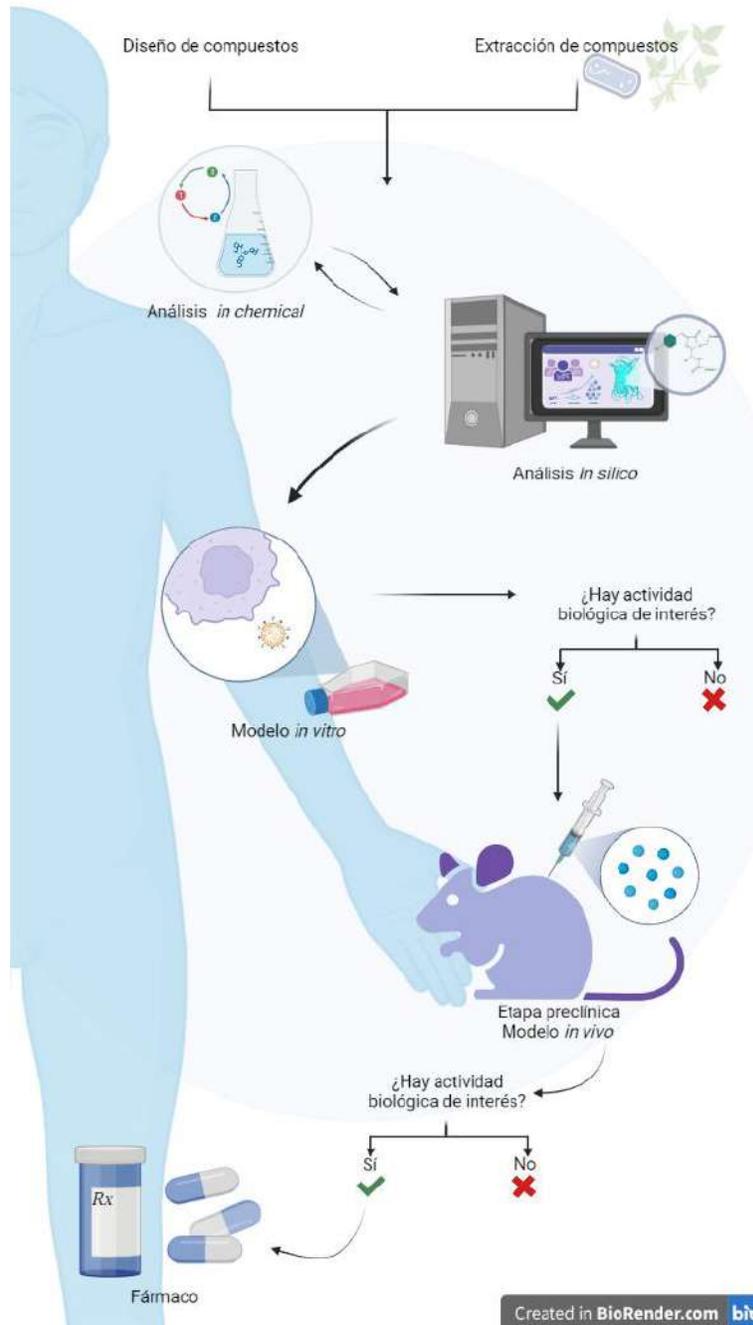
El empleo de animales en investigación es un recurso al que se debe acudir cuando se han agotado las alternativas *in vitro* o *in silico* para responder la pregunta de investigación. Es un proceso que debe ser regulado en las instituciones donde se realiza para garantizar que se utilice el número mínimo de especímenes para cubrir los objetivos de la investigación y refinar los procedimientos de cuidado, reproducción y vivienda de los especímenes con la finalidad de reducir al mínimo el sufrimiento o dolor de acuerdo a los principios éticos de las 3R (reducción, reemplazo y refinamiento) (Couto y Cates, 2019; Díaz *et al.*, 2020). Para evaluar el efecto y mecanismo de acción de compuestos bioactivos para el tratamiento de la diabetes se han utilizado numerosos modelos murinos, algunos de ellos son en ratas o ratones que presentan de manera espontánea la enfermedad y en otros en los que se induce su desarrollo intencionalmente (Fig. 2) (Slavikova *et al.*, 2018).

## Modelos espontáneos de diabetes

Existen modelos de ratas y de ratones en los que a través de cruces endogámicas de un animal que presenta uno o varios rasgos fenotípicos de la diabetes se generan estirpes de roedores con un linaje propenso a este padecimiento y se le denomina a este linaje modelo espontáneo de diabetes, ya que el animal no ha sido sujeto a manipulaciones para presentar diabetes (Weiss *et al.*, 2005; Arias-Díaz y Balibrea, 2007). Los modelos espontáneos autoinmunes más frecuentemente empleados son el ratón NOD, las Ratas BB (Biobreeding) y las Ratas LEW.1AR1-*iddm* (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Ratas de BioBreeding (BB).** Las ratas de cría biológica o BB (del inglés *BioBreeding*) son ratas Wistar exogámicas y representan un modelo de diabetes autoinmune de tipo espontáneo, desarrollan diabetes aproximadamente el 90 % de los casos justo después de la semana 8 y 9 de vida en ambos sexos. Posterior al destete se da una sobre expresión de interferón  $\alpha$  y del complejo mayor de histocompatibilidad clase 1 (MHC 1), seguida de una infiltración de macrófagos, células asesinas naturales (NK), células dendríticas, células T y en menor medida células B, lo que desencadena auto reactividad de las células  $\beta$  pancreáticas y destrucción de los islotes. El fenotipo diabético de las ratas BB se caracteriza por desarrollar hiperglucemia, hipoinsulinemia, pérdida de peso, cetonuria y requiere una intervención inmediata de terapia con insulina para su supervivencia. La presencia de linfopenia en este modelo es la principal desventaja para su uso en la investigación en la DT1, dado a que esta condición no es característica de la DT1 en humanos (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Ratas LEW.1AR1-*iddm*.** Las ratas LEW.1AR1-*iddm* representan un modelo espontáneo autoinmune para el estudio de DT1, surge de una mutación espontánea en genes del loci para el MHC de ratas LEW.1AR1. Las ratas LEW.1AR1-*iddm* generalmente manifiestan diabetes (aproximadamente el 20 % de los casos) justo en la pubertad sin alguna diferencia entre machos y hembras. Cuando existe la endogamia en las ratas LEW.1AR1-*iddm* con diabetes la incidencia de este padecimiento puede incrementarse hasta un 60 % de las camadas resultantes en ambos sexos (Weiss *et al.*, 2005). El fenotipo de diabetes en las ratas LEW.1AR1-*iddm* se caracteriza por hiperglucemia, glucosuria, cetonuria y poliuria, así como la destrucción apoptótica de las células  $\beta$  de los islotes de Langerhans posterior a la infiltración de linfocitos B y T, macrófagos y células NK (Weiss *et al.*, 2005; Arndt *et al.*, 2018). En contraste con la rata BB y el ratón NOD (diabético no obeso), la rata LEW.1AR1-*iddm* sobrevive bien después del inicio de la diabetes y no presenta otras afecciones autoinmunes, lo que hace que este modelo de rata LEW sea adecuado para estudiar las complicaciones de la diabetes (Arias-Díaz y Balibrea, 2007).



**Figura 1.** Etapas del estudio de compuestos con potencial terapéutico para diabetes. Realizado en BioRender.com.

**Figure 1.** Stages of the study of compounds with therapeutic potential for diabetes. Created in BioRender.com.

**Ratón NOD.** El ratón NOD es el modelo animal de preferencia para comprender los mecanismos fisiopatológicos de las enfermedades autoinmunes, entre ellas la DT1 (Miyazaki *et al.*, 1985; Pandey

y Dvorakova, 2019). En la tercera o cuarta semana de edad los islotes pancreáticos de los ratones NOD son infiltrados por células inmunes innatas principalmente por linfocitos CD4+ y CD8+ junto con células NK, linfocitos B, células dendríticas (DC), macrófagos y neutrófilos (Miyazaki *et al.*, 1985; Willcox *et al.*, 2009), lo que lleva a la destrucción de los islotes y pérdida de alrededor del 90 % de la insulina pancreática en un periodo de 10 a 14 semanas en el cual termina estableciéndose la diabetes (Miyazaki *et al.*, 1985). Los ratones del modelo NOD pierden peso rápidamente y requieren la administración de un tratamiento con insulina para sobrevivir hasta las 30 semanas de edad en promedio (Miyazaki *et al.*, 1985). Los ratones NOD desempeñan un rol determinante en la comprensión de la fisiopatología de la enfermedad humana, ayudan a los investigadores a diseñar y evaluar objetivos terapéuticos en la DT1 (Willcox *et al.*, 2009; Pandey y Dvorakova, 2019).

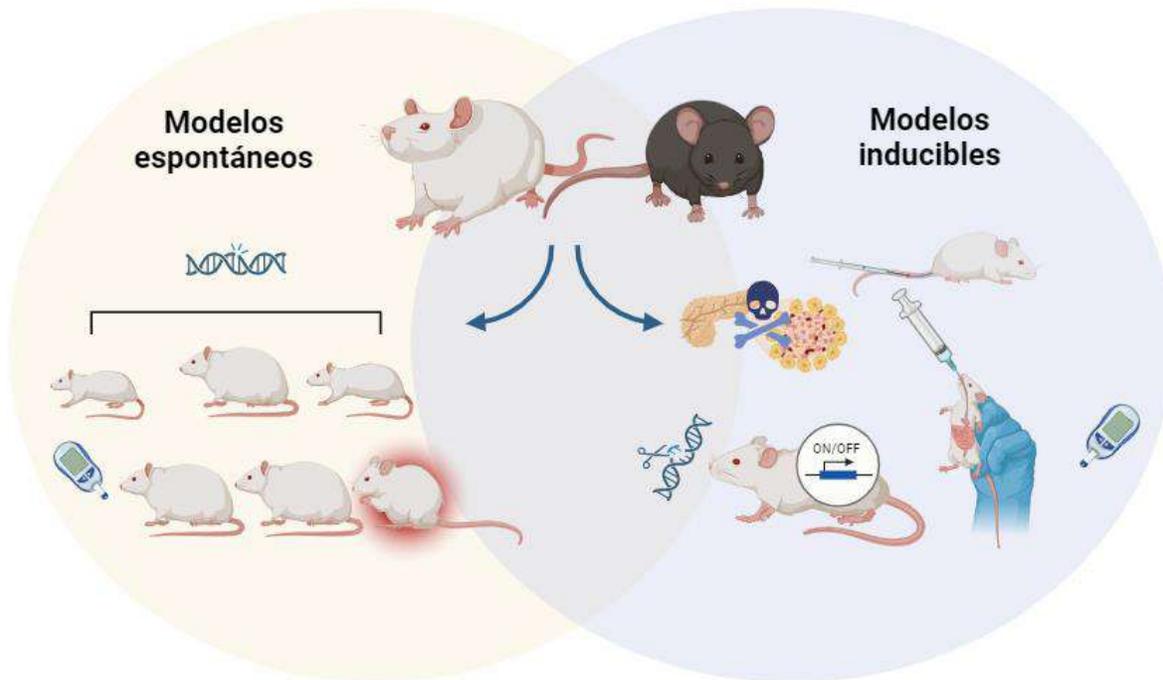
**Ratón Akita.** Es un ratón C57BL/6NSlc que presenta una mutación espontánea en el gen II de la insulina (*Ins2*), en su forma homocigota rara vez sobrevive 12 semanas. Presentan hipoinsulinemia, hiperglucemia, polidipsia y poliuria. El modelo de ratón Akita se utiliza para el estudio del estrés del retículo endoplasmático en las células  $\beta$  pancreáticas (Chang y Gurley, 2012), y se puede considerar como un modelo animal para el estudio de la neuropatía autonómica simpática diabética y de nefropatía diabética debido a las similitudes clínicas que presentan con estas afecciones en el humano (Chang y Gurley, 2012; He *et al.*, 2019).

## Modelos de diabetes inducidos

La generación de ratas y ratones que presenten una o más características clínicas de diabetes es posible mediante la manipulación genética de los murinos o mediante la administración de corticoides y fármacos que causan la destrucción de las células  $\beta$  del páncreas a estos modelos se les denomina modelos inducidos (Fig. 2).

**Inducción química.** Mediante el uso de productos químicos como el aloxano y la estreptozotocina (STZ) considerados diabetogénicos potentes, mismos que funcionan como análogos de glucosa altamente citotóxicos y acumulables en células  $\beta$  pancreáticas a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2) provocando su destrucción. Dosis elevadas  $\geq$  a 50 mg·kg<sup>-1</sup> intravenosas de STZ pueden producir diabetes irreversible en ratas. El fármaco más ampliamente utilizado para inducir diabetes en ratas en la STZ la cual mediante su actividad alquilante de ácidos nucleicos conduce a la fragmentación del ADN (Pandey y Dvorakova, 2019).

**Inducción hormonal.** La administración de glucocorticoides, como la dexametasona, en distintos periodos de la vida, puede afectar selectivamente la acción de la insulina e inducir resistencia a la misma. Algunas otras hormonas que pueden causar estos efectos al ser administradas en exceso son las catecolaminas y la somatostatina.



**Figura 2.** Diabetes espontánea e inducida. La diabetes en murinos puede desarrollarse por mutaciones espontáneas o ser inducida mediante la administración de fármacos. Creado en BioRender.com.

**Figure 2.** Spontaneous and induced diabetes. Diabetes in murines can develop through spontaneous mutations or be induced by drug administration. Created at BioRender.com.

**Manipulación genética.** La manipulación de un gen o grupo de genes cuyo producto esté relacionado con el metabolismo de la glucosa en ratones (principalmente) ha permitido la generación de modelos de estudio de la diabetes. Las modificaciones pueden ser diversas, denominándose ratones transgénicos cuando se induce la sobre activación de un gen particular, ratón *Knock-out* cuando se elimina al gen o genes particulares y ratón *Knock-in* cuando se reemplaza un gen con otra versión alterada del mismo (Fig. 2).

Un ejemplo de modelos de diabetes en ratones modificados genéticamente es el ratón  $LepR^{db/db}$ , este modelo se desarrolló a través de la inducción de una mutación en el gen *db* que codifica para el receptor de leptina. Los ratones  $LepR^{db/db}$  desarrollan obesidad, hiperinsulinemia e hiperglucemia dentro del primer mes de vida y posterior a los tres meses hay un pico de hiperglucemia e hipo insulinemia. Este modelo es frecuentemente empleado para estudio de dislipidemia diabética o en estudio de agentes miméticos y de sensibilizadores de insulina (Guilbaud *et al.*, 2019; Pandey y Dvorakova, 2019).

## Estrategias para estudio de la actividad biológica de compuestos en modelos murinos de diabetes

El estudio y caracterización de nuevos compuestos bioactivos con actividad antidiabética requiere el empleo de modelos animales en sus etapas preclínicas, y los modelos murinos de diabetes son la herramienta ideal para este propósito.

### Compuestos hipoglicemiantes

El objetivo central en el tratamiento de la diabetes es mantener la glucemia en niveles normales o lo más cercano a ello, y para lograrlo son empleados tratamientos con fármacos denominados hipoglicemiantes. El número de fármacos hipoglicemiantes se ha incrementado permitiendo que exista la oportunidad de un manejo individualizado de los pacientes. Actualmente, existen fármacos hipoglicemiantes con mecanismos de acción, efectos secundarios, limitaciones y riesgos diversos (Tabla 1) (Dalama y Mesa, 2016), lo que hace necesario el desarrollo de compuestos con capacidad hipoglicemiante que permitan a pacientes no respondedores a determinados fármacos preexistentes el control adecuado de su glicemia.

### Estrategias para el estudio de la actividad hipoglicemiante en modelos murinos

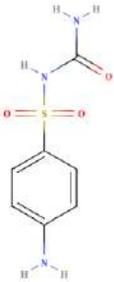
Una estrategia para el estudio del efecto hipoglicemiante de compuestos bioactivos es su administración oral en ratas Wistar inducidas con STZ y monitorización periódica posterior de niveles de glucosa sérica (Bell y Hye, 1983), tal como la realizada por Guerrero-Romero *et al.*, quienes usan este modelo de diabetes para evaluar la capacidad hipoglicemiante de suplementos comerciales de cúrcuma (*Curcuma longa*) y del extracto de cáliz de tomate verde (*Physalis ixocarpa Brot.*) (Guerrero-Romero *et al.*, 2020, 2021).

En los modelos de ratas diabéticas más allá del estudio del impacto sobre los niveles séricos de glucosa es factible estudiar el mecanismo de acción de los compuestos y su efecto a nivel orgánico; para lograr esto se administra (vía oral, intraperitoneal o intradérmica, según corresponda) el extracto o compuesto aislado a probar a grupos de ratas con diabetes y sin diabetes por un periodo mínimo de cuatro semanas espacio de tiempo en el cual se obtienen periódicamente muestras sanguíneas de la vena de la cola y de las que se evalúan niveles de glucosa sérica utilizando un glucómetro o kits colorimétricos. Es además factible la determinación de otros parámetros tales como los niveles de insulina sérica mediante prueba de ELISA comercial y el análisis de proteínas y metabolitos del suero, plasma u orina por espectrometría de masas para elucidar el mecanismo de acción particular hipoglicemiante de los compuestos estudiados (Wang *et al.*, 2021). Sumado a lo anterior, biopsias de tejido hepático pueden ser analizadas mediante técnicas proteómicas tales como electroforesis de proteínas, inmuno detección por *Western Blotting* (WB) y en su caso espectrometría de masas, para detectar diferencias en proteínas asociadas al metabolismo de glucosa (e.g., GLUT2, INSR, IRS-1, entre otras) y técnicas transcriptómicas tales como la secuenciación masiva y los microarreglos que permitan evaluar la activación de genes implicados en la actividad hipoglicemiante. Así mismo es factible la realización de estudios histopatológicos de tejido pancreático para la evaluación de reversión del daño de las células beta generado por la STZ en los grupos de ratas Wistar tratados con

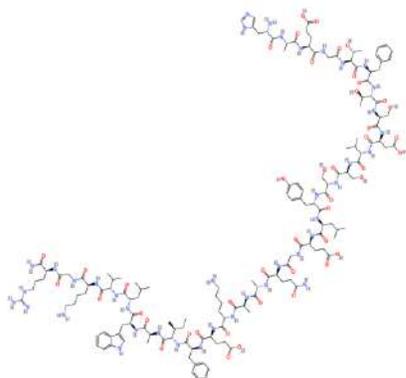
el o los compuestos probados. Tal es el caso de Mahana *et al.* (2023), al estudiar la capacidad hipoglicemiante de los componentes witanólicos y flavonoides del extracto etanólico de *Physalis pruinosa*.

**Tabla 1.** Fármacos utilizados para el control glicémico en la diabetes, su mecanismo de acción y ejemplos.

**Table 1.** Drugs used for glycemic control in diabetes, their mechanism of action and examples.

| Fármaco                            | Estructura  | Mecanismo de acción  | Ejemplos  |
|------------------------------------|---|--|---|
| Biguanidas                         |    | El principal mecanismo descrito es a nivel hepático donde reduce la gluconeogénesis y glucogenólisis (Di Magno <i>et al.</i> , 2022).  | Metformina  |
| Sulfonilureas                      |   | Estimula la secreción de insulina por células $\beta$ del páncreas y potencia la insulina endógena a nivel periférico (Rosas-Saucedo <i>et al.</i> , 2019).                  | Glibenclamida<br>Glipizida<br>Glicazida MR<br>Glimepirida |
| Inhibidores de la alfa glucosidasa |  | Retrasa la digestión de carbohidratos en el intestino delgado (Fisher, 2022).  | Acarbosa<br>Miglitol                                      |
| Tiazolidinedionas                  |  | Produce un aumento de sensibilidad a insulina de células hepáticas, tejido adiposo y músculo esquelético (Yabeta <i>et al.</i> , 2022).                                      | Pioglitazona<br>Rosiglitazona                             |
| Inhibidores de la DPP-4,           |  | Inhibición rápida y completa de actividad de DPP-4. Potencia sensibilidad a glucosa de células $\beta$ , favoreciendo secreción de insulina (Andersen <i>et al.</i> , 2018). | Saxagliptina<br>Sitagliptina<br>Vidagliptina              |

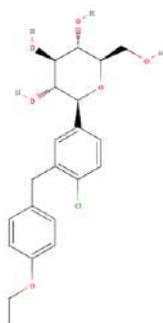
Análogos de los  
receptores del  
GLP-1



Incrementa, de forma glucosa-  
dependiente, la secreción de  
insulina de las células  $\beta$   
pancreáticas. Suprime la  
secreción de glucagón (Yabeta  
*et al.*, 2022).

Exenatida  
Liraglutida  
Semaglutida  
Efpeglenatida

Inhibidores del  
SGLT2



Inhibidor competitivo  
reversible y selectivo  
altamente potente del SGLT2.  
Inhibe la reabsorción de  
glucosa en el lóbulo proximal  
renal, permitiendo su  
eliminación por orina (Cowie  
y Fisher, 2020).

Canagliflozina  
Dapagliflozina  
Enfagliflozina

DPP-4, di-peptidil peptidasa 4; GLP-1, péptido similar al glucagón tipo 1; SGLT2, cotransportador de sodio-glucosa tipo 2.

## Compuestos antioxidantes

El estrés oxidativo es resultado de un desbalance entre la producción de radicales libres y la habilidad del organismo de eliminarlos ya sea por medio de mecanismos endógenos o mediante la participación de sustancias exógenas con capacidad antioxidante (Santos-Sánchez *et al.*, 2019). Existen diferentes tipos de compuestos antioxidantes que se clasifican de acuerdo con su estructura química y mecanismo de acción, entre los que se encuentran los polifenoles, carotenoides, taninos y vitaminas de los cuales se han identificado y caracterizado más de 8,000 compuestos en productos extraídos de plantas, animales y microorganismos mediante técnicas tales como la extracción con solventes, extracción con fluidos supercríticos, extracción asistida con microondas y extracción enzimática, por mencionar algunas (Oroian y Escriche, 2015; Santos-Sánchez *et al.*, 2019), tal es el caso de la curcumina obtenida de *Curcuma longa*, la cual disminuye los niveles de ROS y del flavonoide kaempferol, derivado de té verde y otras fuentes, que con su actividad antioxidante disminuye los niveles de IL-1  $\beta$  t de TNF- $\alpha$  en ratones con neuropatía (Abo-Salem, 2014; Unuofin y Lebelo, 2020).

El análisis de la capacidad antioxidante *in vitro* es un buen indicador de una actividad antioxidante *in vivo*, una vez que se observa favorable, es cuando debe ser estudiado el efecto antioxidante del compuesto en modelos animales de experimentación.

## Estrategias para el estudio del efecto antioxidante en modelos murinos de diabetes

Durante los procedimientos de administración de los compuestos con potencial antioxidante se debe cuidar especialmente la manipulación y el almacenamiento del compuesto dada la biotransformación a la que se puede enfrentar (e.g., biotransformación por exposición a luz, calor o altas concentraciones de oxígeno). El modelo rata diabética inducido con STZ es el más frecuentemente utilizado para la evaluación de actividad antioxidante de un compuesto en diabetes *in vivo* (Pandey y Dvorakova, 2019). Una vez establecida la diabetes se administran dosis determinadas de los compuestos a probar durante un régimen específico de tiempo en las ratas, al completarse los tiempos establecidos se obtienen muestras de fluidos y tejidos de interés (e.g., orina, plasma, suero, eritrocitos, líquido cerebro espinal, saliva, tejido hepático, etc.) en los que se estima la concentración de Glutathion (GSH) reducido, actividad de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GSH-Px) y de catalasa, así como el porcentaje de peroxidación de lípidos y estudio metabólico de plasma, suero y orina mediante espectrometría de masas y cromatografía líquida de alta presión, entre otras (Wang *et al.*, 2021).

Lui *et al.* en el 2019 utilizaron ratas Wistar con diabetes inducida con STZ para evaluar la capacidad antioxidante de los polisacáridos de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*). Administraron diariamente por vía oral el extracto por un periodo de tres semanas a grupos de ratas con diabetes y ratas sin diabetes. Al concluir el tiempo obtuvieron muestras sanguíneas por punción en la vena infra orbital y muestras de tejido hepático, renal y pancreático, en las que determinaron concentración de radicales libres, malondialdehído (MDA), actividad de SOD y catalasa mediante *kits* comerciales, obteniendo resultados de efecto antioxidante de los polisacáridos de hoja de guayaba dada la reducción de los niveles de MDA y actividad de SOD en el modelo de diabetes (Luo *et al.*, 2019).

## Compuestos antiinflamatorios

La inflamación es un proceso desencadenado por daño tisular o infección por agentes patógenos de manera secuencial y organizada tanto por las células afectadas como por las células del sistema inmunológico que acuden al sitio de la lesión (Tu *et al.*, 2022). El incremento de PGA derivado de la hiperglicemia crónica, así como la resistencia a la insulina, conducen a la activación de células del sistema inmune que producen moléculas proinflamatorias que llaman al establecimiento del estado de activación persistente del endotelio vascular, lo que se reconoce como daño endotelial (Maruhashi and Higashi, 2021; Nauck *et al.*, 2021).

Un ejemplo ampliamente utilizado en el tratamiento de la diabetes desde finales de los años 90 son las tiazolidinedionas mismas que favorecen la sensibilidad a la insulina y con ello disminuyen los niveles de citocinas proinflamatorias. En esa misma línea posteriormente se ha demostrado que el análogo de GLP-1 liraglutida induce el incremento de adiponectina, una citocina antiinflamatoria disminuida en diabetes y obesidad (Dahlqvist *et al.*, 2018). Por lo tanto, el control glicémico e inflamatorio son determinantes para la prevención y el tratamiento adecuado de las complicaciones vasculares y de los nervios que caracterizan a los pacientes con diabetes (Tilg y Moschen, 2008; Luo *et al.*, 2021; Nauck *et al.*, 2021; Tu *et al.*, 2022).

## Estrategias para el estudio de la actividad antiinflamatoria en modelos *in vivo* de diabetes

Para caracterizar la actividad antiinflamatoria de compuestos obtenidos de plantas o sintéticos se emplean comúnmente ratas Wistar con diabetes previamente establecida a las que se les administra un esquema de dosis de las diferentes sustancias a evaluar por periodos de 4 a 8 semanas, se obtiene muestras de sangre de la vena de la cola semanalmente y al final del tratamiento se obtienen muestras de tejido de interés (Furman, 2021).

El suero o plasma es sometido a la determinación de la concentración de moléculas asociadas a inflamación, el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzimas (ELISA), el *Western blot* (WB), la citometría de flujo y la nefelometría cuantitativa son algunas de las múltiples técnicas que permiten la inmuno detección de marcadores de inflamación circulantes en sangre, tales como la proteína C reactiva (PCR), ácido siálico, proteína amiloide A, Factor de Necrosis Tumoral (TNF), adiponectina, por mencionar algunos. Las muestras de tejido pueden ser sometidas a análisis histopatológico para determinar la presencia de infiltración de células inflamatorias en el tejido u órgano estudiado; análisis inmunohistoquímico para la detección de proteínas proinflamatorias (p.e., TNF- $\alpha$  e IL 1) y antiinflamatorias (p.e., IL 10 y TGF- $\beta$ ) en el tejido de interés; citometría de flujo para evaluar la presencia de marcadores celulares de inflamación. Asimismo, el análisis de los ácidos nucleicos extraídos del tejido nos permite evaluar la activación de genes codificantes de moléculas asociadas a inflamación mediante la técnica de qPCR, microarreglos de genes inflamatorios y secuenciación masiva (Fu *et al.*, 2021), por mencionar algunas técnicas.

Un ejemplo de estudio del efecto antiinflamatorio es el realizado en ratas Wistar diabéticas inducidas con STZ vía intraperitoneal es el publicado por Mahana *et al.* (2023), quienes analizaron la capacidad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Physalis pruinosa*, que contiene componentes de las familias witanólidos y flavonoides (Mahana *et al.*, 2023). Una vez establecida la enfermedad en el modelo *in vivo* se administró vía oral el extracto etanólico de *Physalis pruinosa* a los grupos de ratas controles y diabéticas por espacio de cuatro semanas. Posteriormente, el hígado y páncreas fue analizado mediante WB y se detectó disminución en las proteínas p30-MAPK, ERK1/2, NF-KB y TNF- $\alpha$  en el grupo de ratas tratadas con el extracto etanólico, por lo que determinaron que el extracto etanólico de *Physalis pruinosa* presenta actividad antiinflamatoria a través de la vía MAPK y ERK1/2 (Mahana *et al.*, 2023).

## Compuestos inductores de cicatrización

La hiperglicemia crónica induce cambios vasculares que comprometen el suministro de sangre a los tejidos. En el caso de presencia de heridas, el escaso flujo sanguíneo genera un ambiente hipóxico que disminuye la velocidad de recuperación del tejido e incrementa la posibilidad de infección (Garrido *et al.*, 2003; Rodríguez Chula *et al.*, 2020). El pie diabético es la principal causa de amputación de un miembro inferior dado que la pobre irrigación e hipoxia tisular permite el desarrollo de necrosis (Garrido *et al.*, 2003). Ya sea como apósitos o cremas de biopolímeros sintéticos, de nanopartículas, de infusiones o de extractos de plantas, existen estudios enfocados en desarrollar tratamientos que mejoren la capacidad de cierre de heridas en pacientes con diabetes, para lo que utilizan en su etapa preclínica a modelos murinos de diabetes.

## Estrategias para el estudio de agentes cicatrizantes en modelos de diabetes

Los modelos murinos de cicatrización más frecuentemente utilizados son los de recuperación de una herida de segunda intención y el modelo de quemaduras (Politis y Dmytrowich, 1998; Dunn *et al.*, 2013; Abdullahi *et al.*, 2014; Martínez-Higuera *et al.*, 2021; Chen *et al.*, 2022).

**Modelo de cicatrización de la herida de segunda intención.** Este modelo plantea el mimetizar las heridas que se generan en los pacientes con pie diabético. Para realizar este modelo primero se anestesia a los animales de experimentación por vía intraperitoneal o intramuscular, según se prefiera. Posteriormente, se elimina todo el pelo del área y se realiza la herida con un punzón de anclaje dérmico de biopsia y se administra el compuesto a analizar por vía oral o tópica directamente sobre la herida a intervalos de tiempo según corresponda. Se monitoriza la recuperación de la herida midiendo la misma con un vernier para calcular su % de retracción (Ecuación 1) y analizando indicadores histológicos a distintos tiempos de recuperación de la herida (Martínez-Higuera *et al.*, 2021).

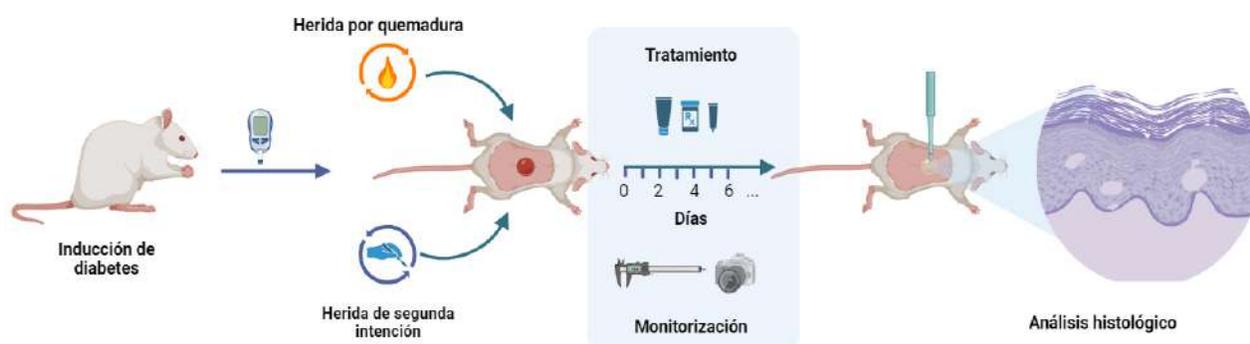
$$\% \text{ de retracción de herida} = \frac{\text{Área inicial de la lesión} - \text{Área final de la lesión}}{\text{Área inicial de la lesión}} \times 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

Un ejemplo de este procedimiento es el desarrollado por Chen *et al.* (2021) quienes con el objetivo de evaluar la actividad cicatrizante de geniposide en un modelo de rata diabética inducida con STZ realizaron una herida de segunda intención en el dorso de la rata y administraron oralmente la geniposide a diferentes concentraciones diariamente por siete días (Fig. 3). La recuperación de la herida se evaluó midiendo la herida e indicadores histológicos de biopsia de la herida al séptimo día. Geniposide redujo significativamente la lesión a los 7 días de tratamiento en comparación con el grupo control de vehículo y sin tratamiento. Mediante histología se evidenció la reducción significativa de la infiltración de células inflamatorias y la proliferación de fibroblastos en la región central de la herida (Chen *et al.*, 2022).

**Modelo de cicatrización de la herida de quemaduras.** En murinos se realiza con anestesia mediante vía intraperitoneal o intramuscular, se elimina el pelo del área y se realiza contacto con una solera de metal adaptada a un cautín con el propósito de controlar la temperatura y área de la lesión inicial (Martínez-Higuera *et al.*, 2021), una vez generada la herida se administra el compuesto por vía oral o tópica, según corresponda (Martínez-Higuera *et al.*, 2021). La recuperación de la herida se evalúa midiendo la misma para calcular su retracción (Ecuación 1) y evaluando indicadores histológicos a distintos tiempos (Fig. 3).

Un ejemplo de aplicación del modelo de cicatrización de quemaduras es el trabajo desarrollado por Martínez *et al.* (2021) quienes estudiaron la capacidad cicatrizante de un hidrogel de Carbopol con nanopartículas de plata acopladas a extracto de *Mimosa tenuiflora* en un modelo de quemadura de segundo grado en rata Wistar diabéticas inducidas con STZ, emplearon ketamina/xilazina (70 mg kg<sup>-1</sup>/8 mg kg<sup>-1</sup>) vía intraperitoneal como anestésico y realizaron una quemadura de segundo grado de diámetro controlado en el dorso lateral de ratas diabéticas y controles, empleando un metal a 110 °C en contacto con la piel de la rata durante 10 segundos. El grado de la quemadura fue confirmado

histológicamente y una vez generada la herida se procedió a aplicar diariamente y de forma tópica el hidrogel con las nanopartículas de plata y el extracto de *Mimosa tenuiflora* por espacio de 14 días; el proceso de recuperación de la herida fue medida por un vernier electrónico diariamente y al final se tomó biopsia de la piel cicatrizada para su análisis histológico. Martínez *et al.* (2021), evidenciaron que el hidrogel de Carbopol con nanopartículas de plata acopladas a extracto de *Mimosa tenuiflora* reduce significativamente la herida por quemadura en un tiempo menor al que presentaron los grupos controles sin tratamiento. Como hallazgos histológicos se mostró reducción de la infiltración de células inflamatorias y la proliferación de fibroblastos en la región central de la herida en preparados de hematoxilina y eosina (Martínez-Higuera *et al.*, 2021).



**Figura 3.** Estrategia para el estudio de cicatrización en modelos murinos de diabetes. Creado en BioRender.com.  
**Figure 3.** Strategy for the study of healing in murine models of diabetes. Created in BioRender.com.

## Consideraciones al emplear modelos murinos de diabetes

Factores genéticos, ambientales y epigenéticos dan lugar a síntomas y cuadros clínicos particulares en diferentes tipos de diabetes lo que hace incorrecta la generalización de los modelos murinos de diabetes para el estudio de esta patología y sus tratamientos (ElSayed *et al.*, 2022). En el caso de la DT1 hay destrucción de las células beta del páncreas y por lo tanto ausencia de insulina, a diferencia de la DT2 donde se presenta resistencia a la insulina entre otros factores.

Los modelos murinos de diabetes poseen características particulares que se deben considerar al momento de su elección y diseño de la estrategia experimental, e.g., los ratones obesos LepR<sup>db/db</sup> nos permitirán estudiar aspectos relacionados a la resistencia a la insulina (Guilbaud *et al.*, 2019), mientras que los ratones Akita dado que presentan glomerulopatía por deposición de IgA no serán una buena elección para el estudio de la función renal, por mencionar algunos (Tabla 2) (Chang y Gurley, 2012). Por lo tanto, la elección del modelo de diabetes debe realizarse en consideración al tipo de tratamiento en el estudio propuesto y con entendimiento de la fisiopatología del modelo seleccionado (Yagihashi, 2023).

## Conclusiones

El estudio de nuevos compuestos bioactivos para el desarrollo de tratamientos de la diabetes y sus complicaciones es un campo de investigación que se encuentra en continuo avance. La realización de ensayos *in vivo* en etapas preclínicas de estudio de sustancias bioactivas es indispensable previo a la realización de ensayos clínicos en humanos. Las ratas y ratones son especímenes de experimentación con múltiples ventajas sobre otros modelos animales por su tamaño, espacio requerido, costo y capacidad de manipulación, además de que desarrollan de manera inducida o espontánea cuadros clínicos que asemejan a los de la DT1 o DT2 presentes en humanos, haciéndose posible evaluar en estos animales los efectos hipoglucemiantes, antiinflamatorios, antioxidantes y cicatrizantes de los compuestos propuestos mediante procedimientos que son reproducibles, actuales y ampliamente reportados.

**Tabla 2.** Ventajas y limitaciones de los modelos murinos de diabetes.

**Table 2.** Advantages and limitations of murine models of diabetes.

|             | Modelo                      | Ventajas/aplicaciones   | Limitaciones  | Referencias   |
|-------------|-----------------------------|---|---|---|
| Espontáneos | Ratas BB                    | Estudio de RI y obesidad asociada a la diabetes.<br>Tratamientos para ACV e inflamación.<br>Estudios de intervención. | Requiere insulina para sobrevivencia.<br>Deficiencia de células T.<br>Propensas a desarrollar tiroiditis.<br>Estudio de DT1.  | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023) |
|             | Ratas LEW.1AR1- <i>iddm</i> | Sobrevivencia mayor que ratas BB y ratones NOD, ideales para estudios de largo plazo.                                 | Incremento de citocinas proinflamatorias en los islotes.  | (Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023)                     |
|             | Ratón NOD                   | Estudio de la DT1 autoinmune.<br>Estudios de intervención en nefropatía y neuropatía.                                 | Requiere insulina para sobrevivir después de las 30 sem.<br>Estudio de DT1.<br>La presencia de patógenos inhibe desarrollo de diabetes.<br>Algunas drogas eficientes en este modelo no lo son en humanos. | (Olivares <i>et al.</i> , 2017; Yagihashi, 2023)        |
|             | Ratón Akita                 | Estudio de DT1 como alternativa al modelo con STZ.<br>Neuropatía y retinopatía diabética.                             | Estudio de DT1.<br>No empleados para estudios renales.<br>Sobrevivencia $\leq$ 12 sem.  | (Dalco y Dave, 2023; Olivares <i>et al.</i> , 2017)     |

|           |                               |   |   |  |
|-----------|-------------------------------|---|---|--|
|           | Inducción con STZ             | Bajo costo.<br>Requiere bajas dosis para desarrollo de diabetes.<br>Estudios de intervención.<br>En combinación con dietas altas en grasas puede generar cuadros clínicos de DT2. | La STZ es altamente tóxica y carcinogénica.<br>Daño a hepático y renal por STZ atribuible a la diabetes.<br>Sobrevivencia hasta las 20 sem. | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023; Olivares <i>et al.</i> , 2017) |
| Inducidos | Inducción con aloxano         | Estudios de intervención.<br>En combinación con dietas altas en grasas puede generar cuadros clínicos propios de DT2.   | Daño renal atribuible a la diabetes.<br>Sobrevivencia hasta las 20 sem.   | (Olivares <i>et al.</i> , 2017)  |
|           | Ratones LepR <sup>db/db</sup> | Estudio de inflamación y ACV, dislipidemia, obesidad y RI.<br>Estudios de intervención.   | Costo y mantenimiento.  | (Dalco y Dave, 2023; Martín-Carro <i>et al.</i> , 2023; Yagihashi, 2023)               |

BB, BioBreeding; RI, resistencia a la insulina, ACV, accidente cerebro vascular; DT1, diabetes tipo 1; NOD, diabético no obeso; STZ, estreptozotocina; DT2, diabetes tipo 2.

## Contribuciones de los autores

Conceptualización, M.C.P., G.A.H. y L.L.S.; investigación, A.M.P.; redacción-redacción del borrador original, V.R.M., J.A.D. y A.L.M.; redacción-revisión y edición, A.S.G., V.R.M. y R.L.B.; supervisión, A.S.G. Todos los autores han leído y aceptado la versión publicada del manuscrito.

## Agradecimientos

Agradecemos a la Universidad de Sonora y al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCyT) por la beca otorgada a JAR y por el financiamiento CB-2016 número 285059.

## Conflicto de interés

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

## Referencias

- Abdullahi, A., Amini-Nik, S. & Jeschke, M. G. (2014). Animal models in burn research. *Cellular and Molecular Life Sciences* 71(17): 3241–3255. <https://doi.org/10.1007/s00018-014-1612-5>
- Abo-Salem, O. M. (2014). Kaempferol attenuates the development of diabetic neuropathic pain in mice: Possible anti-inflammatory and anti-oxidant mechanisms. *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences* 2(3): 424–430. <https://doi.org/10.3889/oamjms.2014.073>
- Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. Lou, Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., Stanton, R. C. & Gabbay, R. A. (2022). 2. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Care in Diabetes-2023. *Diabetes care* 2023 46(1): S19-S40 <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
- Andersen, E. S., Deacon, C. F. & Holst, J. J. (2018). Do we know the true mechanism of action of the DPP-4 inhibitors? *Diabetes, Obesity and Metabolism* 20(1): 34–41. <https://doi.org/10.1111/dom.13018>
- Arias-Díaz, J. & Balibrea, J. (2007). Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria* 22(2): 160–168. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=309226715005>
- Arndt, T., Jörns, A. & Wedekind, D. (2018). Changes in immune cell frequencies in primary and secondary lymphatic organs of LEW.1AR1-iddm rats, a model of human type 1 diabetes compared to other MHC congenic LEW inbred strains. *Immunologic Research* 66: 462–470. <https://doi.org/10.1007/S12026-018-9015-6>
- Aylwin H., C. G. (2016). Nuevos fármacos en diabetes mellitus. *Revista Médica Clínica Las Condes* 27(2): 235–256. <https://doi.org/10.1016/j.rmcl.2016.04.013>
- Bell, R. H. & Hye, R. J. (1983). Animal models of diabetes mellitus: Physiology and pathology. *Journal of Surgical Research* 35(5): 433–460. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-4804\(83\)90034-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0022-4804(83)90034-3)
- Brito-Casillas, Y., Melián, C. & Wägner, A. M. (2016). Estudio de la patogénesis y tratamiento de la diabetes mellitus a través de modelos animales. *Endocrinología y Nutrición* 63(7): 345–353. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.03.011>
- Cárdenas-León, M., Díaz-Díaz, E., Argüelles-Medina, R., Sánchez-Canales, P., Díaz-Sánchez, V. & Larrea, F. (2009). Glicación y entrecruzamiento de proteínas en la patogénesis de la diabetes y el envejecimiento. *Revista de Investigación Clínica* 61(6): 505-520. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=40898>
- Chang, J.-H. & Gurley, S. B. (2012). Assessment of Diabetic Nephropathy in the Akita Mouse. In: Joost, HG., Al-Hasani, H., Schürmann, A. (eds) *Animal Models in Diabetes Research. Methods in Molecular Biology* Vol. 933. (pp. 17–29). Humana Press, Totowa, NJ. [https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-62703-068-7_2)

- Chen, X. Yan, Jiang, W. Wen, Liu, Y. Ling, Ma, Z. Xia & Dai, J. Qiang (2022). Anti-inflammatory action of geniposide promotes wound healing in diabetic rats. *Pharmaceutical Biology* 60(1): 294–299. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2030760>
- Couto, M. & Cates, C. (2019). Laboratory guidelines for animal care. In: Pelegri, F. (eds) *Vertebrate Embryogenesis. Methods in Molecular Biology*, vol 1920. (pp. 407–430). Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9009-2\\_25](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9009-2_25)
- Cowie, M. R. & Fisher, M. (2020). SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control. *Nature Reviews Cardiology* 17: 761–772. <https://doi.org/10.1038/s41569-020-0406-8>
- Dahlqvist, S., Ahlén, E., Filipsson, K., Gustafsson, T., Hirsch, I. B., Tuomilehto, J., Imberg, H., Ahrén, B., Attvall, S. & Lind, M. (2018). Variables associated with HbA1c and weight reductions when adding liraglutide to multiple daily insulin injections in persons with type 2 diabetes (MDI Liraglutide trial 3). *BMJ Open Diabetes Research and Care* 6(1): e000464. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2017-000464>
- Dalama, B. & Mesa, J. (2016). Nuevos hipoglucemiantes orales y riesgo cardiovascular. Cruzando la frontera metabólica. *Revista Española de Cardiología* 69(11): 1088–1097. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2016.07.029>
- Dalco, L. J. & Dave, K. R. (2023). Diabetic rodent models for chronic stroke studies. In: Karamyan, V.T., Stowe, A.M. (eds) *Neural Repair. Methods in Molecular Biology*, Vol. 2616. (pp. 429–439). Humana, New York, NY. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2926-0\\_30](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-2926-0_30)
- Di Magno, L., Di Pastena, F., Bordone, R., Coni, S. & Canettieri, G. (2022). The mechanism of action of biguanides: New answers to a complex question. *Cancers* 14(13):3220. <https://doi.org/10.3390/cancers14133220>
- Díaz, L., Zambrano, E., Flores, M. E., Contreras, M., Crispín, J. C., Alemán, G., Bravo, C., Armenta, A., Valdés, V. J., Tovar, A., Gamba, G., Barrios-Payán, J. & Bobadilla, N. A. (2020). Ethical considerations in animal research: The principle of 3R's. *Revista de Investigacion Clinica* 73(4): 199–209. <https://doi.org/10.24875/RIC.20000380>
- Dunn, L., Prosser, H. C. G., Tan, J. T. M., Vanags, L. Z., Ng, M. K. C. & Bursill, C. A. (2013). Murine model of wound healing. *Journal of Visualized Experiments* (75): e50265. <https://doi.org/10.3791/50265>
- ElSayed, N. A., Aleppo, G., Aroda, V. R., Bannuru, R. R., Brown, F. M., Bruemmer, D., Collins, B. S., Gaglia, J. L., Hilliard, M. E., Isaacs, D., Johnson, E. L., Kahan, S., Khunti, K., Leon, J., Lyons, S. K., Perry, M. Lou, Prahalad, P., Pratley, R. E., Seley, J. J., ... Association, A. D. (2022). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of care in diabetes—2023. *Diabetes Care* 46(Supplement\_1): S19–S40. <https://doi.org/10.2337/dc23-S002>
- Fisher, M. (2022). Acarbose and alpha glucosidase inhibitors. In M. Fisher, G. A. McKay & A. Llano (eds) *Diabetes Drug Notes* (pp. 229–238). Wiley Online Library. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9781119785033.ch11>

- Fu, X., Zhou, X., Liu, Y., Lei, Y., Xie, H., Leng, Y., Gao, H. & Xie, C. (2021). Exploration of SQC formula effect on type 2 diabetes mellitus by whole transcriptome profile in rats. *Endocrine, Metabolic y Immune Disorders Drug Targets* 21(7): 1261–1269. <https://doi.org/10.2174/1871530321666210225125141>
- Furman, B. L. (2021). Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats. *Current Protocols* 1(4). <https://doi.org/10.1002/CPZ1.78>
- Garrido Calvo, A. M., Cía Blasco, P. & Pinós Laborda, P. J. (2003). El pie diabético. *Medicina Integral* 41(1): 8–17. <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-articulo-el-pie-diabetico-13044043>
- Guerrero-Romero, F., Simental-Mendía, L. E., Guerra Rosas, M. I., Sayago-Monreal, V. I., Morales Castro, J. & Gamboa-Gómez, C. I. (2021). Hypoglycemic and antioxidant effects of green tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) calyces' extracts. *Journal of Food Biochemistry* 45(4): e13678. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13678>
- Guerrero-Romero, F., Simental-Mendía, L. E., Martínez-Aguilar, G., Sánchez-Meraz, M. A. & Gamboa-Gómez, C. I. (2020). Hypoglycemic and antioxidant effects of five commercial turmeric (*Curcuma longa*) supplements. *Journal of Food Biochemistry* 44(9): e13389. <https://doi.org/10.1111/JFBC.13389>
- Guilbaud, A., Howsam, M., Niquet-Léridon, C., Delguste, F., Boulanger, E. & Tessier, F. J. (2019). The LepR<sup>db/db</sup> mice model for studying glycation in the context of diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 35(2): e3103. <https://doi.org/10.1002/dmrr.3103>
- Hallschmid, M. (2021). Intranasal insulin. *Journal of Neuroendocrinology* 33(4 A Special Issue of neuroendocrine review articles to mark the centenary of the discovery of insulin): e12934. <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/jne.12934>
- He, X., Zhang, T., Tolosa, M., Goru, S. K., Chen, X., Misra, P. S., Robinson, L. A. & Yuen, D. A. (2019). A new, easily generated mouse model of diabetic kidney fibrosis. *Scientific Reports* 9: 12549. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49012-4>
- Khan, R. M. M., Chua, Z. J. Y., Tan, J. C., Yang, Y., Liao, Z. & Zhao, Y. (2019). From pre-diabetes to diabetes: Diagnosis, treatments and translational research. *MDPI Medicina* 55(9): 546. <https://doi.org/10.3390/medicina55090546>
- Kumar, S., Mittal, A., Babu, D. & Mittal, A. (2021). Herbal medicines for diabetes management and its secondary complications. *Current Diabetes Reviews* 17(4): 437-456. <https://doi.org/10.2174/1573399816666201103143225>
- Luo, Y., Peng, B., Wei, W., Tian, X. & Wu, Z. (2019). Antioxidant and anti-diabetic activities of polysaccharides from Guava leaves. *MDPI Molecules* 24(7): 1343. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES24071343>

- Luo, X. M., Yan, C. & Feng, Y. M. (2021). Nanomedicine for the treatment of diabetes-associated cardiovascular diseases and fibrosis. *Advanced Drug Delivery Reviews* 172: 234-248. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.01.004>.
- Mahana, A., Hammada, H. M., Khalifa, A. A., Elblehi, S. S., Harraz, F. M. & Shawky, E. (2023). Integrated serum pharmacochimistry and network pharmacology analyses reveal the bioactive metabolites and potential functional mechanism of ground cherry (*Physalis pruinosa* L.) in treatment of type 2 diabetes mellitus in rats. *Journal of Ethnopharmacology* 300: 115750. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115750>
- Martín-Carro, B., Donate-Correa, J., Fernández-Villabrille, S., Martín-Vírgala, J., Panizo, S., Carrillo-López, N., Martínez-Arias, L., Navarro-González, J. F., Naves-Díaz, M., Fernández-Martín, J. L., Alonso-Montes, C. & Cannata-Andía, J. B. (2023). Experimental models to study diabetes mellitus and its complications: Limitations and new opportunities. *MDPI Molecular Sciences* 24(12): 10309. <https://doi.org/10.3390/ijms241210309>
- Martínez-Higuera, A., Rodríguez-Beas, C., Villalobos-Noriega, J. M. A., Arizmendi-Grijalva, A., Ochoa-Sánchez, C., Larios-Rodríguez, E., Martínez-Soto, J. M., Rodríguez-León, E., Ibarra-Zazueta, C., Mora-Monroy, R., Borbón-Nuñez, H. A., García-Galaz, A., Candia-Plata, M. del C., López-Soto, L. F. & Iñiguez-Palomares, R. (2021). Hydrogel with silver nanoparticles synthesized by *Mimosa tenuiflora* for second-degree burns treatment. *Scientific Reports* 11: 11312. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-90763-w>
- Maruhashi, T. & Higashi, Y. (2021). Pathophysiological association between diabetes mellitus and endothelial dysfunction. *MDPI Antioxidants* 10(8): 1306. <https://doi.org/10.3390/antiox10081306>
- Miyazaki, A., Hanafusa, T., Yamada, K., Miyagawa, J., Fujino-Kurihara, H., Nakajima, H. & Tarui, S. (1985). Predominance of T lymphocytes in pancreatic islets and spleen of pre-diabetic non-obese diabetic (NOD) mice: a longitudinal study. *Clin. exp. Immunol* 60 (3): 622-630. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1577215/>
- Nauck, M. A., Wefers, J. & Meier, J. J. (2021). Treatment of type 2 diabetes: challenges, hopes, and anticipated successes. *The Lancet Diabetes y Endocrinology* 9(8): 525-544. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(21\)00113-3](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(21)00113-3)
- Olivares, A. M., Althoff, K., Chen, G. F., Wu, S., Morrisson, M. A., DeAngelis, M. M. & Haider, N. (2017). Animal models of diabetic retinopathy. *Current Diabetes Reports* 17: 93. <https://doi.org/10.1007/s11892-017-0913-0>
- Oroian, M. & Escriche, I. (2015). Antioxidants: Characterization, natural sources, extraction and analysis. *Food Research International* 74: 10-36. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.04.018>
- Pandey, S. & Dvorakova, M. C. (2019). Future perspective of diabetic animal models. *Endocrine, Metabolic y Immune Disorders - Drug Targets* 20(1): 25-38. <https://doi.org/10.2174/1871530319666190626143832>

- Politis, M. J. & Dmytrowich, A. (1998). Promotion of second intention wound healing by emu oil lotion: Comparative results with Furasin, Polysporin, and Cortisone. *Plastic and Reconstructive Surgery* 102(7): 2404-2407. <https://goo.su/Vao1cQ7>
- Rabbani, N. & Thornalley, P. J. (2018). Advanced glycation end products in the pathogenesis of chronic kidney disease. *Kidney International* 93(4): 803-813. <https://doi.org/10.1016/J.KINT.2017.11.034>
- Reidy, P. T., Monnig, J. M., Pickering, C. E., Funai, K. & Drummond, M. J. (2021). Preclinical rodent models of physical inactivity-induced muscle insulin resistance: Challenges and solutions. *Journal of Applied Physiology* 130(3): 537-544. <https://doi.org/10.1152%2Fjappphysiol.00954.2020>
- Rodríguez Chula, E. & García Carmona, M (2020). Efectividad de la terapia de presión negativa en la cicatrización de las heridas crónicas en el pie de pacientes con diabetes. *Universidad Privada Norbert Wiener - Tesis*. <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/3864>
- Rosas-Saucedo, J., Rosas-Guzmán, J., Agustín Mesa-Pérez, J., González-Ortiz, M., Martínez-Abundis, E., González-Suárez, R., Sinay, I. & Lyra, R. (2019). Sulfonilureas. Estado actual de su empleo en América Latina. Documento de posición de la Asociación Latinoamericana de Diabetes. *Revista de La ALAD* 9(2). <https://doi.org/10.24875/ALAD.19000375>
- Santos-Sánchez, N. F., Salas-Coronado, R., Villanueva-Cañongo, C. & Hernández-Carlos, B. (2019). Antioxidant compounds and their antioxidant mechanism. In: Emad Shalaby (ed) *Antioxidants* (pp. 10: 1-29). IntechOpen. <https://www.intechopen.com/chapters/66259>
- Seow, K. M., Juan, C. C., Wang, P. H., Ho, L. T. & Hwang, J. L. (2012). Expression levels of vascular cell adhesion molecule-1 in young and nonobese women with polycystic ovary syndrome. *Gynecologic and Obstetric Investigation* 73(3): 236-241. <https://doi.org/10.1159/000334175>
- Tilg, H. & Moschen, A. R. (2008). Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. *Molecular Medicine* 14: 222-231. <https://doi.org/10.2119/2007-00119.Tilg>
- Tu, Z., Zhong, Y., Hu, H., Shao, D., Haag, R., Schirner, M., Lee, J., Sullenger, B. & Leong, K. W. (2022). Design of therapeutic biomaterials to control inflammation. *Nature Reviews Materials* 7: 557-574. <https://doi.org/10.1038/s41578-022-00426-z>
- Unuofin, J. O. & Lebelo, S. L. (2020). Antioxidant effects and mechanisms of medicinal plants and their bioactive compounds for the prevention and treatment of type 2 diabetes: An updated review. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2020: 1356893. <https://doi.org/10.1155/2020/1356893>
- Wang, H., Teng, Y., Li, S., Li, Y., Li, H., Jiao, L. & Wu, W. (2021). UHPLC-MS-based serum and urine metabolomics reveals the anti-diabetic mechanism of Ginsenoside Re in type 2 diabetic rats. *MDPI Molecules* 26(21): 6657. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES26216657>
- Weiss, H., Bleich, A., Hedrich, H. J., Kölsch, B., Elsner, M., Jörns, A., Lenzen, S., Tiedge, M. & Wedekind, D. (2005). Genetic analysis of the LEW.1AR1-iddm rat: An animal model for

spontaneous diabetes mellitus. *Mammalian Genome* 16: 432–441. <https://doi.org/10.1007/s00335-004-3022-8>

Willcox, A., Richardson, S. J., Bone, A. J., Foulis, A. K. & Morgan, N. G. (2009). Analysis of islet inflammation in human type 1 diabetes. *Clinical and Experimental Immunology* 155(2): 173–181. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2008.03860.x>

Yabeta, J., Moscoso, A. & Osorio, P. (2022). Relación de las características farmacológicas de los hipoglucemiantes orales usados en pacientes con el tratamiento de diabetes mellitus tipo II. *Universidad - Ciencia y Sociedad* 23(2): 47–51. <https://doi.org/10.61070/ucs.v23i2.27>

Yagihashi, S. (2023). Contribution of animal models to diabetes research: Its history, significance, and translation to humans. *Journal of Diabetes Investigation* 14(9): 1015–1037. <https://doi.org/10.1111/jdi.14034>

2024 TECNOCENCIA CHIHUAHUA

Esta obra está bajo la Licencia Creative Commons Atribución No Comercial 4.0 Internacional.



<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>