



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

**MECANISMOS MOLECULARES DEL
EXTRACTO ACUOSO DE *Calea
urticifolia* Mill DC SOBRE LA
RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN
MODELO *IN VIVO* E *IN VITRO***

Tesis para obtener el grado de:
Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:
Gaytán Esquivel Rocio Janeth

Directora de Tesis
Dra. Erika García Chávez



UASLP-Sistema de Bibliotecas

Repositorio Institucional Tesis Digitales Restricciones de Uso

DERECHOS RESERVADOS

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en este Trabajo Terminal está protegido por la Ley Federal de Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos.

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo, mencionando el autor o autores.

Cualquier uso distinto o con fines de lucro, reproducción, edición o modificación será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Calea urticifolia* Mill DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO IN VIVO E IN VITRO

© 2024 by Rocio Janeth Gaytán Esquivel is licensed under Creative Commons Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International

Este proyecto se realizó en el laboratorio de Recursos Bióticos del Instituto de Investigación de Zonas Desérticas y el laboratorio de Células Truncasles y Neuronales de la Coordinación para la Innovación y Aplicación de la Ciencia y la Tecnología adscritos a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, en el periodo comprendido entre enero de 2017 y enero de 2020, bajo la dirección de la Dra. Erika García Chávez y fue apoyado por recursos propios del grupo colaborativo de este proyecto y del Cuerpo Académico de Recursos Bióticos CA-206.

El programa de Maestría o Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí pertenece al Sistema Nacional de Posgrados de Calidad (SNP) del CONHACYT, registro 003383. Número de registro de la beca otorgada por CONAHCYT: 592468.

Los datos del trabajo titulado **Mecanismos moleculares del extracto acuoso de *Calea urticifolia* Mill DC sobre la resistencia a la insulina en un modelo in vivo e in vitro** se encuentran bajo el resguardo de la Facultad de Ciencias Químicas y pertenecen a la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
POSGRADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS



DOCTORADO EN CIENCIAS FARMACOBIOLOGICAS

REGISTRO DE TESIS DE DOCTORADO

GENERACIÓN 2015-2019

M. EN C. ROCIO JANETH GAYTAN ESQUIVEL

Nombre del alumno: _____

Tema de tesis: MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Calea urticifolia* Mill DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO IN VIVO E IN VITRO

Línea de investigación en la que se inserta la tesis: INVESTIGACIÓN FARMACOLÓGICA Y TÓXICA DE PLANTAS MEDICINALES DE LA SIERRA MADRE ORIENTAL DE SAN LUIS POTOSÍ.

COMITÉ TUTELAR

	Nombre	Firma
Director de tesis	Dra. Erika García Chávez	
Codirector de tesis (opcional)		
Asesor del PCFB	Dra. Othir Gidalti Galicia Cruz	
Asesor del PCFB	Dr. Gerson Alonso Soto Peña	
Asesor externo	Dra. Libia Vega Loyo	

Trabajo de tesis vinculada con:

Convenio _____ Servicio _____ Proyecto _____ Grupo _____ Artículo X

Financiamiento de tesis otorgado por:

Institución, organismo o asociación: LABORATORIO DE RECURSOS BIÓTICOS DEL IIZD DE LA UASLP, LABORTATORIO DE CITOGENÉTICA DEL DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA DEL CINVESTAV-ZACATENCO-IPN, LABORATORIO DE FARMACOLOGÍA ANALÍTICA DEL DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA UASLP.

Nombre del proyecto en su caso: _____

Monto \$:

Fecha de ejecución del proyecto: _____

Objetivo del proyecto: _____

Participantes del proyecto: _____



DRA ERIKA GARCÍA CHÁVEZ

Director de tesis

21 de febrero de 2018

DRA. ERIKA GARCÍA CHÁVEZ
PROFESORA INVESTIGADORA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE ZONAS DESÉRTICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
PRESENTE.

Con relación a su solicitud de revisión del protocolo titulado "MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO Y ETANÓLICO DE *CALEA URTICIFOLIA* (MILL.) DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO DE INFLAMACIÓN DE BAJO GRADO", el Comité de Investigación y Docencia de la Facultad de Ciencias Químicas (CEID-FCQ) por mi conducto le informa que en la sesión del 21 de febrero del año en curso, tomó la decisión de dictaminar este protocolo **APROBADO** para su realización. El dictamen cuenta con el registro **CEID2017117R1**.

Conforme al Reglamento del CEID-FCQ, todo protocolo registrado y aprobado queda sujeto al seguimiento señalado en el Art. 13, en particular al apartado 13.2.2:

El profesor o investigador responsable deberá entregar al CEID-FCQ un informe al término del proyecto ante la suspensión prematura del estudio o cuando le sea requerido. Si el proyecto no ha sido terminado en el lapso de un año deberá entregarse un informe anual que señale el grado de avance. Para la entrega de este informe se considerará un año transcurrido desde la fecha de emisión del dictamen de aprobación y un lapso no mayor de 10 días hábiles. El incumplimiento de lo anterior impedirá la revisión de un nuevo protocolo del investigador solicitante. El informe se enviará al CEID-FCQ con una carta de presentación dirigida al Presidente, así como el respectivo informe.

ATENTAMENTE



Dra. Rosa del Carmen Milán Segovia
Presidenta del CEID-FCQ



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas

MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Calea urticifolia* Mill DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO *IN VIVO E IN VITRO*

Tesis para obtener el grado de:
Doctorado en Ciencias Farmacobiológicas

Presenta:

Gaytán Esquivel Rocio Janeth

SINODALES

Presidente: Dr. Gerson Alonso Soto Peña

Secretario: Dra. Erika García Chávez

Vocal: Dra. Libia Vega Loyo

Vocal: Dra. Claudia G. Castillo Martín del Campo

Vocal: Dra. Othir Gidalti Galicia Cruz

SAN LUIS POTOSÍ, S.L.P.

JULIO 2024

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORIAL ACADÉMICO

Dra. Erika García Chávez: Directora de tesis. Colaboradora del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. Adscrita al Instituto de Investigación de Zonas Desérticas de la UASLP, México.

Dra. Libia Vega Loyo: Tutor de tesis. Asesor externo del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. Adscrita al Laboratorio de Genética Toxicológica e Inmunotoxicología del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV). Unidad Zacatenco Ciudad de México, México.

Dra. Othir Gidalti Galicia Cruz: Tutor de tesis. Colaboradora del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. Adscrita al Laboratorio de Farmacología Analítica del Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina, UASLP, México.

Dr. Gerson Alonso Soto Peña: Tutor de tesis. Colaborador del Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, San Luis Potosí, S.L.P. Adscrito al Laboratorio de Análisis Químicos y Biológicos de la Facultad de Ingeniería, UASLP, México.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas
Programa de Doctorado

Formato D5

Carta Cesión de Derechos

San Luis Potosí SLP a julio / 01/ 2024

En la ciudad de San Luis Potosí el día 01 del mes de julio del año 2024. La que suscribe Rocio Janeth Gaytán Esquivel Alumna del programa de posgrado en Ciencias Farmacobiológicas adscrito a la Facultad de Ciencias Químicas manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo terminal, realizado bajo la dirección de: Dra. Erika García Chávez y cede los derechos del trabajo titulado Mecanismos moleculares del extracto acuoso de *Calea urticifolia* MIL DC sobre la resistencia a la insulina en un modelo in vivo e in vitro a la **Universidad Autónoma de San Luis Potosí**, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir de forma total o parcial texto, gráficas, imágenes o cualquier contenido del trabajo si el permiso expreso del o los autores. Éste, puede ser obtenido directamente con el autor o autores escribiendo a la siguiente dirección erika.garcia@uaslp.mx. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

Rocio Janeth Gaytán Esquivel



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
Facultad de Ciencias Químicas
Centro de Investigación y Estudios de Posgrado
Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas
Programa de Doctorado

Formato D28

Carta de Análisis de Similitud

San Luis Potosí SLP a 06/ 03 /2024

L.B. María Zita Acosta Nava
Biblioteca de Posgrado FCQ

Asunto: Reporte de porcentaje de similitud de tesis de grado

Por este medio me permito informarle el porcentaje de similitud obtenido mediante Ithenticate para la tesis titulada **MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO DE CALEA URTICIFOLIA Mill DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO IN VIVO E IN VITRO** presentada por la autora **Rocio Janeth Gaytán Esquivel**. La tesis es requisito para obtener el grado de Doctorado en el Posgrado en Ciencias **Farmacobiológicas**. El análisis reveló un porcentaje de similitud de **18 %** excluyendo referencias y metodología.

Agradezco sinceramente su valioso tiempo y dedicación para llevar a cabo una exhaustiva revisión de la tesis. Quedo a su disposición para cualquier consulta o inquietud que pueda surgir en el proceso.

Sin más por el momento, le envío un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Dr. Sergio Zarazúa Guzmán

Coordinador Académico del Posgrado
en Ciencias Farmacobiológicas

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

A mi familia, mis padres Lidia y Miguel, mis hermanos Miguel, Alba y Brenda, mis sobrinos Angela, Daria, Sofía, Aurelio, Jadier y Jordy, a mis cuñados Jesús y César, por todo su cariño y apoyo, por comprender mis ausencias y tener siempre palabras de aliento, porque incluso el más mínimo detalle de comprensión me ayudó a continuar y no rendirme; gracias por el hermoso cariño que me han hecho sentir durante todo este tiempo, sin ustedes no hubiese sido posible.

A mis cachorros Lucky y Nymeria, por ser siempre una fuente inagotable de cariños y mimos que me ayudaron a continuar incluso en los momentos más difíciles.

A mis compañeros de batallas Paulina, Edson, Gaby, Arleth, Judith, Carlos, Rita y Edgar por estar siempre presentes y compartir sus valiosas experiencias para crecer juntos como personas y profesionales y por el tiempo que me dedicaron.

A mis amigos Paulina y Daniel, por su incansable apoyo y comprensión, gracias por todo.

A mis sinodales y asesores, Dra. Claudia, Dr. Gerson, Dra. Othir y Dra. Libia, gracias por compartir su conocimiento conmigo para convertirme en un mejor profesional.

En especial a la Dra. Erika, gracias por hacerme ver el valor del conocimiento y la importancia de compartirlo, por ser el pilar que guió todo este trabajo y me ayudó en todos los aspectos, humanos y profesionales que me ayudaron a convertirme en la persona y profesional que soy hoy en día.

RESUMEN

La resistencia a la insulina (RI) se relaciona con una variedad de comorbilidades, como la diabetes tipo 2, hígado graso, arterosclerosis, hipertensión. Los mecanismos subyacentes de la RI incluyen la insensibilidad al receptor de insulina, la disfunción en la expresión de GLUT-4 y la inflamación crónica de bajo grado inducida por la síntesis de citocinas como el TNF- α e IL-6, lo que afecta la captación de glucosa. En este contexto, se ha investigado el potencial hipoglucemiante de la planta medicinal *Calea urticifolia*. Para ello, se utilizó modelos de inflamación, cultivos de islotes pancreáticos y células 3T3L1. Se identificó dos posibles mecanismos del extracto acuoso de *C. urticifolia*: uno dependiente de la insulina y otro independiente de ella. Estos hallazgos sugieren el potencial de la especie en el abordaje de la RI.

Palabras clave: Diabetes, Insulina, *Calea*, Resistencia a la insulina, Inflamación de bajo grado.

ABSTRACT

Insulin resistance (IR) is linked to various comorbidities such as type 2 diabetes mellitus (DM-2), fatty liver, atherosclerosis, and hypertension. Underlying mechanisms of IR include insulin receptor insensitivity, dysfunction in GLUT-4 expression, and chronic low-grade inflammation induced by cytokines such as TNF- α and IL-6, affecting glucose uptake. In this context, the hypoglycemic potential of the medicinal plant *Calea urticifolia* was investigated. To this end, inflammation models, pancreatic islets cultures, and 3T3-L1 cells were used. Two possible mechanism of the aqueous extract of *C. urticifolia* were identified: one insulin-dependent and another insulin-independent. These findings suggest the potential of the species in addressing IR.

Keywords: Diabetes, Insulin, *Calea*, Insulin resistance, low grade inflammation.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	3
2.1. Insulina y su efecto en la homeostasis de glucosa	3
2.2. Resistencia a la insulina	4
2.3. Factores inmunológicos relacionados con la RI	4
2.4. Tejido adiposo y mediadores inflamatorios	6
2.5. Vías de metabolismo de la glucosa independientes de la insulina	7
2.6. Captación de glucosa en el adipocito	7
2.7. Modelos experimentales de RI	8
2.8. Tratamientos de la RI y DM2.	9
2.9. Tratamientos alternativos: Plantas medicinales	10
2.10. <i>Calea urticifolia</i>	11
2.11. Caracterización química de <i>Calea urticifolia</i>	12
2.12. Caracterización toxicológica de <i>Calea urticifolia</i>	13
2.13. Caracterización de la actividad biológica de <i>Calea urticifolia</i>	14
3. JUSTIFICACIÓN	15
4. HIPÓTESIS	16
5. OBJETIVO GENERAL	17
6. OBJETIVOS PARTICULARES	17
7. MATERIALY MÉTODOS	18
7.1. Rendimiento de extracción	18
7.2. Modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6 por dieta rica en grasa.	18
7.2.1. Evaluación del efecto terapéutico del extracto acuoso de <i>Calea urticifolia</i> en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.	19
7.2.2. Evaluación del efecto protector del extracto acuoso de <i>Calea urticifolia</i> en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.	20
7.2.3. Sacrificio animal y obtención de tejidos	20
7.2.4. Cuantificación de citocinas proinflamatorias	20
7.3. Cultivo primario de Islotes pancreáticos	22

7.3.1. Obtención del tejido celular	22
7.3.2. Tratamientos para los modelos <i>in vitro</i>	22
7.3.3. Evaluación de la actividad metabólica de los islotes aislados.	23
7.3.4. Evaluación de la secreción de insulina.	23
7.4. Cultivo de adipocitos 3T3-L1	24
7.4.1. Tinción diferencial	24
7.4.2. Evaluación de la actividad metabólica de los adipocitos 3T3-L1	24
7.4.3. Desarrollo del modelo de RI en adipocitos 3T3-L1.	25
7.4.4. Determinación de la expresión de GLUT-4 y AKT	25
7.5. Análisis estadístico	26
8. RESULTADOS	27
8.1. Rendimiento de extracción	27
8.2. Modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6 por dieta rica en grasa.	27
8.2.1. Evaluación del efecto terapéutico del extracto acuoso de <i>Calea urticifolia</i> en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.	28
8.2.2. Evaluación del efecto protector del extracto acuoso de <i>Calea urticifolia</i> en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.	29
8.2.3. Cuantificación de citocinas	30
8.3. Cultivo primario de islotes pancreáticos	32
8.3.1. Evaluación de la actividad metabólica de los islotes pancreáticos	32
8.3.2. Evaluación de la secreción de insulina	33
8.4. Cultivo de adipocitos 3T3-L1	34
8.4.1. Tinción diferencial	34
8.4.2. Evaluación de la actividad metabólica de los adipocitos 3T3-L1	34
8.4.3. Desarrollo del modelo de RI en adipocitos 3T3-L1.	34
8.4.4. Evaluación de la recaptura de glucosa en los adipocitos 3T3-L1	35
8.4.5. Determinación de la expresión de GLUT-4 y AKT	35
9. DISCUSIÓN	36
10. CONCLUSIONES	39
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

12. RESUMEN DEL REPORTE DE SIMILITUD	48
13. ANEXOS	49
13.1.2. Artículo	49
14. CARTA DE ACEPTACIÓN DEL ARTÍCULO	50
15. GLOSARIO	51

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Compuestos identificados en Calea urticifolia.</i>	12
Figura 2. Estrategia experimental para evaluar el efecto terapéutico y protector del extracto acuoso de <i>Calea urticifolia.</i>	19
Figura 3. Curva de calibración para la evaluación de citocinas proinflamatorias.	31
Figura 4. Cuantificación de citocinas proinflamatorias en el desarrollo del modelo hiperglucemiante y la evaluación del efecto protector de <i>C. urticifolia.</i>	31
Figura 5. Islotes pancreáticos obtenidos tras la disección y digestión enzimática del páncreas.	32
Figura 6. Porcentaje de actividad metabólica de islotes pancreáticos aislados de ratón.	33
Figura 7. Resultados de la secreción de insulina de los islotes pancreáticos en los cultivos.	33

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Efecto de la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia en ratón C57BL6.	28
Tabla 2. Efecto terapéutico del extracto acuoso de <i>C. urticifolia</i> en los ratones C57BL6 sometidos a la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia.	29

Tabla 3. Efecto protector del extracto acuoso de *C. urticifolia* en los ratones C57BL6 sometidos a la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia. 30

1. INTRODUCCIÓN

La glucosa desempeña un papel esencial en el metabolismo energético al servir como la fuente primaria para la generación de ATP (Adenosinatrifosfato), debido a que facilita las reacciones metabólicas y biológicas fundamentales a nivel celular. Por tal importancia, el almacenamiento preciso y la regulación homeostática de la glucosa son considerados procesos críticos para el buen funcionamiento orgánico de órganos y tejidos (Scaffidi et al., 2023).

En este contexto, la incorporación de glucosa en la célula se establece como un proceso metabólico y molecular esencial. El incremento de las concentraciones de glucosa circulante por arriba de su homeostasis, se desencadena una serie de reacciones celulares en cascada que favorecen la regulación de la glucosa circulante a niveles normales (80 a 100 mg/dL).

Este proceso depende de factores clave, entre los cuales se destaca la activación de receptores celulares por insulina (hormona liberada por las células beta del páncreas en respuesta al incremento de los niveles de glucosa en sangre), que permiten a través de señales intracelulares, la síntesis de proteínas transportadoras de glucosa (GLUT), que desempeñan un papel determinante en este proceso (Foster y Klip, 2000).

La insulina es una hormona peptídica producida por las células beta de los islotes de Langerhans en el páncreas, ésta interactúa con los receptores celulares estimulando la captación de glucosa, especialmente en tejidos periféricos como el músculo y tejido adiposo. Además, inhibe la gluconeogénesis y lipólisis, mientras estimula la gluconeogénesis y síntesis de proteínas (Anaya y Ariza, 2005).

No obstante, la disminución de la sensibilidad del receptor celular a la insulina, conocida como resistencia a la insulina (RI), puede modificar negativamente la homeostasis de la glucosa y contribuir al desarrollo de trastornos como la diabetes mellitus de tipo 2 y otras comorbilidades.

La RI es un fenómeno complejo que implica alteraciones en diversos niveles celulares y moleculares, incluyendo la desregulación de la señalización insulínica, acumulación de lípidos intracelulares, presencia de inflamación crónica de bajo grado, disfunción del tejido adiposo, estrés oxidativo, disfunción mitocondrial,

factores genéticos y epigenéticos, y la acción de hormonas contrarreguladoras como los glucocorticoides (Hurrell y Hsu, 2017).

Las enfermedades crónicas asociadas con la RI pueden demeritar la calidad de vida de quienes las padece, además, genera costos socioeconómicos significativos tanto para los individuos quienes la padecen y familiares, así como para los sistemas de salud y la economía en general.

Esta situación se intensifica en países de vías de desarrollo y sus poblaciones rurales, donde la falta de recursos y los elevados costos asociados a los tratamientos convencionales dificultan el manejo de las condiciones de salud. En consecuencia, muchas personas recurren a prácticas tradicionales, como el uso de plantas medicinales, como alternativas más accesibles. Ante este escenario, la investigación de los tratamientos alternativos surge como un campo de oportunidad valioso para descubrir nuevas opciones terapéuticas y es la base de esta investigación.

2. ANTECEDENTES

2.1. Insulina y su efecto en la homeostasis de glucosa

La insulina es una hormona peptídica con un peso molecular de 5.8 KDa. Se secreta por las células β de los islotes pancreáticos de Langerhans en respuesta a niveles elevados de glucosa en la sangre. Su función principal radica en mantener la homeostasis de glucosa, permitiendo su aprovechamiento en el organismo (Roberts et al., 2013).

La secreción y producción de insulina involucra diversas rutas metabólicas. El proceso inicia con la presencia de hiperglucemia en sangre y la incorporación de glucosa a las células pancreáticas, que se convierte en adenosín trifosfato (ATP). Este último inactiva los canales de potasio dependientes de ATP, resultando en la acumulación de iones de potasio al interior de la célula y la consiguiente despolarización de la membrana. El siguiente paso es la apertura de canales de calcio, facilitando la movilización de gránulos que contienen insulina (Huang y Joseph, 2014).

La insulina liberada circula a través del torrente sanguíneo a todo el organismo hasta interactuar con el receptor de superficie celular denominado receptor de insulina (IR) de cada célula (Huang y Joseph, 2014).

Los mecanismos moleculares desencadenados por la activación del receptor de insulina (IR) involucran la fosforilación del propio receptor y su acoplamiento con el sustrato del receptor de insulina (IRS). Tras esta interacción, se inician dos cascadas de señalización intracelular. La primera es la vía de las MAP cinasas, esta inicia a través de la activación del complejo Proteína 2 unida al receptor de factor de crecimiento (Grb2) y el recambiador de nucleótidos de guanina (SOS), ya sea directamente a través del IRS o por la unión y activación de la proteína Shc (proteína mediadora de transducción de señales intracelulares). Esta cascada culmina con la activación de las cinasas ERK1 y 2, proteínas que desempeñan un papel en la regulación de la expresión génica en tejidos sensibles a la insulina, aunque no necesariamente en el metabolismo de glucosa (Andrali et al., 2008).

La segunda cascada de señalización se lleva a cabo a través de la activación de la cinasa fosfoinositol 3 (PI3K), vía principal por la que la insulina regula el metabolismo

de la glucosa. Este proceso inicia con la unión del IRS, que se fosforila para acoplarse a diversas proteínas, activando así diferentes isoformas de PI3K. Estas isoformas, a su vez, activan AKT (cinasa dependiente de serina/treolina o proteína quinasa B), una proteína que regula múltiples funciones, incluyendo apoptosis, síntesis de glucógeno, síntesis de proteínas, adipogénesis y el metabolismo de glucosa. AKT está directamente relacionada con la traslocación de los receptores de glucosa GLUT-4 desde las células musculares y adiposas hacia la membrana, facilitando el ingreso de glucosa al interior celular para su posterior metabolismo. El proceso se detiene una vez finalizado el estímulo de la insulina, aunque no se detiene por completo (Roberts et al., 2013).

2.2. Resistencia a la insulina

La resistencia a la insulina implica una disminución en la respuesta del receptor de insulina al estímulo hormonal, especialmente en tejidos como el músculo, tejido adiposo e hígado. Esta falta de respuesta conlleva a efectos relacionados con su función biológica y se propicia un aumento en la secreción de insulina por parte del páncreas, resultando en hiperinsulinemia, así como de hiperglicemia, hipertensión, dislipidemia, adiposidad visceral, hiperuricemia, elevación de marcadores inflamatorios, disfunción endotelial y estado protrombótico. Estas alteraciones contribuyen al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes mellitus (DM) (Freeman, 2022). La DM es una enfermedad presente a nivel mundial, cuyos índices de aparición lejos de disminuir, aumentan año con año. En un estudio epidemiológico realizado por (Khan et al., 2019), se estimó que alrededor de 462 millones de personas en el mundo viven con DM2, lo que corresponde al 6.28% de la población mundial. Se espera que estos datos aumenten a 7.09% en 2030 y a 7.86% en el 2040.

2.3. Factores inmunológicos relacionados con la RI

La presencia de hiperglicemia trae como consecuencia un efecto lipogénico (hipertrigliceridemia), que, aunado al consumo de una dieta hipercalórica, aumenta la concentración de lípidos circulantes. Este aumento provoca la instauración de un

proceso inflamatorio crónico de bajo grado, caracterizado por la activación del receptor TLR-4 (Toll like receptor 4, por sus siglas en inglés). Este receptor forma parte de la familia compuesta por 13 receptores, cada uno activado por diversos estímulos. El tipo TLR-4 está ampliamente distribuido en los tejidos de los mamíferos y se activa principalmente por lipopolisacáridos (LPS) presentes en la membrana celular de bacterias (Ciesielska et al., 2021). Sin embargo, se ha demostrado que también puede activarse mediante otros estímulos endógenos, como los ácidos grasos de cadena corta liberados durante la hipertrofia y apoptosis de las células adipocíticas, que acumulan grandes cantidades de estos ácidos grasos.

Una vez activado este receptor por la presencia de ácidos grasos libres, promueve la formación de citocinas y el reclutamiento de macrófagos hacia el tejido (Hong et al., 2020). Entre estas proteínas inflamatorias incluyen a la proteína C reactiva (CRP), además un aumento en la secreción de interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y otras interleucinas y adipocinas proinflamatorias (Esposito et al., 2003).

Las adipocinas son proteínas sintetizadas por el tejido adiposo que cumplen diversas funciones en el organismo. Mientras algunas de ellas exhiben propiedades antiinflamatorias, otras se consideran proinflamatorias. En estados de obesidad, comúnmente están vinculadas con enfermedades metabólicas, se observa una sobreexpresión de la mayoría de las adipocinas proinflamatorias. Entre estas se encuentran la leptina, resistina, lipocaína y angiopoyetina, las cuales se suman a la producción de IL-6 y TNF- α . Esta sobreproducción de proteínas proinflamatorias, combinada con otras, genera un estado de inflamación crónica de bajo grado (ICBG), que eventualmente interfiere en la señalización del receptor de insulina (Ouchi et al., 2011).

La ICBG no es producida de manera natural en sujetos sanos. Esto se evidencia por la presencia de macrófagos infiltrados en el tejido adiposo en individuos con sobre peso y obesidad (Olefsky y Glass, 2010).

2.4. Tejido adiposo y mediadores inflamatorios

El tejido adiposo (TA) se clasifica según su composición y función en tejido adiposo blanco (WAT) y el tejido adiposo marrón. El tejido blanco es conocido como un órgano endócrino debido a su función secretagogo de hormonas denominadas adipocinas, que incluyen la adiponectina, la leptina, resistina, grelina y la visfatina (Olefsky y Glass, 2010).

La adiponectina participa en el metabolismo de la glucosa y tiene efectos antiinflamatorios que mejoran la sensibilidad de la insulina y promueve la activación de la AMP proteína cinasa (AMPK) tanto en hígado como tejido muscular. Se ha demostrado que reduce la inflamación al inhibir la producción de TNF- α inducido por el factor de transcripción NF-kB. Por otro lado, la leptina regula el apetito y la termogénesis, mientras que la grelina controla la adiposidad, energía y apetito. La resistina, está relacionada directamente con la resistencia con la insulina al participar en el incremento de enzimas gluconeogénicas en el hígado y la disminución de la actividad de AMPK y la expresión de IRS (Leal y Mafra, 2013).

La actividad endócrina del TA produce quimiocinas y citocinas como la proteína quimiotáctica de monocitos 1 (MCP-1), IL-8, TNF- α , IL-6 e IL-1 β (Gregor y Hotamisligil, 2011).

Estas últimas actúan como mediadores proinflamatorios promoviendo un aumento en la infiltración de diversas células del sistema inmune al tejido adiposo. Los macrófagos pueden activarse a través de tres vías distintas, siendo la vía clásica, una de la más caracterizada por la presencia de linfocitos Th1 y células Natural Killer (NK), que activan macrófagos tipo M1. Estos macrófagos se conocen por su extensa secreción de TNF- α e IL-6. Además de la vía clásica, otras vías de activación incluyen la vía de activación alternativa, la vía innata y la vía humoral (Tilg y Moschen, 2006).

Los macrófagos M1 infiltrados rodean al adipocito necrótico formando estructuras de tipo corona y secundario a esto, los linfocitos Th1 y citotóxicos acuden para la eliminación del tejido muerto y su consecuente liberación de ácidos grasos libres (Göransson et al., 2023).

Los ácidos grasos libres que se acumulaban en el tejido adiposo son capaces de unirse a TLR-4 (Kawai y Akira, 2011), receptores localizados en la membrana de los macrófagos. Esta unión ligando-receptor desencadena vías de señalización intracelular, como I κ B/NF- κ B y JNK/AP-1 que culminan con la activación de la respuesta inflamatoria y exacerban la producción de mediadores inflamatorios involucrados en la inducción de RI (Jialal et al., 2012). Prieur y colaboradores (2011), demostraron la capacidad de diferenciación de macrófagos M2 a M1 en un modelo de inflamación de bajo grado, además de presencia de RI en ratones C57BL/6, esto sugiere que es un factor importante para el desarrollo de lipotoxicidad (Prieur et al., 2011).

2.5. Vías de metabolismo de la glucosa independientes de la insulina

La incorporación de glucosa intracelular no se limita exclusivamente a las vías insulino-dependientes mencionadas anteriormente. Existen mecanismos que son independientes a la insulina, pero entran en acción en respuesta de la ausencia de Insulina y la elevada concentración de glucosa extracelular.

Cuando se induce una inhibición en la sensibilidad del receptor celular de insulina, las células requieren nuevos mecanismos para aprovechar la glucosa presente en el medio extracelular. Uno de estos métodos es la activación de AMPK, una enzima heterotrimérica $\alpha\beta\gamma$ que inhibe la liberación de ácidos grasos por el hígado y tejido adiposo al inhibir la activación de la acetil-CoA carboxilasa 1 y 2 (ACC1 y ACC2). Algunos medicamentos, como la metformina, incrementan la actividad de la AMPK, inhibiendo así la respiración mitocondrial e incrementando los niveles de AMP, mejorando de esta forma la sensibilidad del receptor de insulina (Ford et al., 2015). La AMPK entonces actúa en escenarios en los cuales la insulina no ejerce su efecto debido a deficiencias en su receptor, proporcionando una vía alternativa para la incorporación de glucosa intracelular.

2.6. Captación de glucosa en el adipocito

El tejido adiposo, como ya se ha mencionado previamente, desempeña un papel crucial en la homeostasis de glucosa en el organismo. En términos generales, el

adipocito capta la glucosa circulante por medio de los receptores de insulina, los cuales, al activarse por el estímulo de esta proteína, promueven la traslocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 a la membrana celular (Czech, 2020).

Además de esta vía insulino-dependiente, el adipocito puede ingresar glucosa al interior celular por otras vías, como lo es el ayuno sostenido o situaciones de estrés celular, inflamación o en respuesta a daño celular. Este estado promueve la inhibición de hormonas como la insulina y la leptina, y aumenta la secreción de glucagón, cortisol, adrenalina y noradrenalina. Estas hormonas promueven la captación de glucosa por vías alternas que permiten al adipocito obtener energía suficiente para los siguientes pasos relacionados con su sobrevivencia (Kersten, 2023). La función principal del adipocito es almacenar ácidos grasos como reserva energética para el organismo en condiciones de ayuno, transformando la glucosa extracelular en acilglicéridos que eventualmente serán fuente energética en el organismo (Scaffidi et al., 2023).

2.7. Modelos experimentales de RI

En modelos *in vivo*, numerosos estudios respaldan el efecto de la resistencia a la insulina en roedores. Se han descrito metodologías en las cuales los animales son sometidos a tratamientos con diabétogénicos químicos como la estreptozotocina o con dietas altas en grasa, que inducen un estado inflamatorio relacionado con la generación de resistencia a la insulina (Liu et al., 2019). En ratones C57BL6, se ha demostrado el papel crucial de la insulina en el control glicémico, al activar rutas metabólicas importantes como la activación del PIK3 y AKT, la activación de los transportadores de glucosa (GLUT4, GLUT2) y, como consecuencia, el ingreso de glucosa a las células. Además de estas vías, se ha observado la importancia de la activación de la AMPK como vía insulino-dependiente que funciona como un sensor de energía, activándose en estados de disponibilidad de glucosa, pero no de insulina. La activación de AMPK ayuda a regular el metabolismo de glucosa al movilizar GLUT-4 a la membrana y promover glucólisis. Estos modelos de alto consumo de grasas han sido ampliamente usados como modelos para estudiar posibles

tratamientos de diabetes mellitus, ya que inducen un estado de RI e hiperglucemia (Hu et al., 2022).

Por otro lado, se han estudiado modelos *in vitro* que permiten estudiar los mecanismos de clave de la resistencia a la insulina y DM2, así como el efecto de múltiples tratamientos alternativos. La línea celular 3T3-L1 se ha establecido como una herramienta ampliamente utilizada para estos estudios, ya que permite comprender de manera más precisa los mecanismos que generan la hipertrofia celular. Este modelo proporciona información detallada sobre las vías activadas o suprimidas sin las interferencias o caminos desconocidos presentes en los adipocitos obtenidos de cultivo primario (Jackson et al., 2023). Numerosos estudios han usado esta línea celular como base para el desarrollo de descubrimientos que correlacionen con observaciones en modelos *in vivo* o bien que sirvan como base para este tipo de modelos.

Existen también modelos *ex vivo*, que permiten establecer los mecanismos que generan diversos xenobióticos en el organismo. El cultivo primario de adipocitos o islotes pancreáticos ayuda a tener una idea clara del efecto de estos durante procesos metabólicos como ocurre en la RI. El cultivo primario de islotes pancreáticos ha permitido evaluar el efecto secretagogo e insulinoprodutor de múltiples compuestos terapéuticos o alternativos que pueden ser utilizados como herramienta para el tratamiento de la DM2 o de la RI (Mahmoud et al., 2015).

2.8. Tratamientos de la RI y DM2

La RI es el resultado de una falla progresiva en las células β -pancreáticas o por defectos en su receptor celular. El tratamiento para mejorar la resistencia a la insulina se traduce, a su vez, en mejorar la sintomatología de la DM2. Dentro de estos tratamientos actuales se encuentran:

- **Sulfonilureas:** este grupo de fármacos se unen a los canales de potasio (K⁺) sensibles a ATP de las células β -pancreáticas, inhibiendo la salida de K⁺ y causando despolarización de la membrana. Esto promueve la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje que favorecen el ingreso del mismo ion y con esto la señalización que culmina con la liberación de insulina, en donde el

principal efecto adversos de este tipo de medicamentos es la hipoglucemia (Imam, 2013).

- **Metformina:** se le atribuyen dos acciones principales: el aumento de la sensibilidad del receptor de insulina de los tejidos musculares y adiposos a la acción de la insulina, además de disminuir la gluconeogénesis. Este fármaco puede causar náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal y pérdida del apetito (Imam, 2013).
- **Tiazolidinedionas:** son agonistas del receptor nuclear PPAR γ , el cual actúa como factor de transcripción para distintos genes, incluido el gen Ob de la leptina. Además, promueve la inhibición del factor nuclear NF- κ B, involucrado en la resistencia a la insulina a través del TNF- α . Sin embargo, es importante tener en cuenta que pueden llegar a presentar toxicidad hepática (Imam, 2013).

Estos tratamientos son efectivos si se siguen de acuerdo con lo establecido para el tratamiento de personas que viven con DM2, los cuales son publicados por la Asociación Americana de Diabetes y se actualizan año con año. Sin embargo, muchos pacientes no mantienen un apego al tratamiento, especialmente en México, debido a diversos factores, incluido el acceso y costo de los medicamentos, los efectos adversos de los mismos y la falta de seguimiento médico.

Ante este escenario, el uso de tratamientos alternativos como la medicina tradicional es una estrategia cultural que ha persistido por generaciones en la humanidad.

2.9. Tratamientos alternativos: Plantas medicinales

El uso de plantas medicinales ha sido empleado desde el origen del hombre como un tratamiento farmacológico alterno, México es uno de los cinco países con mayor diversidad vegetal a nivel mundial, con más de 30,000 especies, entre las cuales se conocen entre 5,000 a 7,000 plantas útiles, incluyendo plantas medicinales (*Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, s/f*).

En la actualidad, su uso se ha visto limitado debido al descubrimiento y desarrollo de múltiples moléculas con alto interés farmacológico. Además, la urbanización también ha disminuido la diversidad y prevalencia de distintas especies, junto con el escaso

interés generacional en este conocimiento ancestral. Sin embargo, en comunidades indígenas, su uso sigue prevalente para el tratamiento de múltiples afecciones. Un ejemplo de esto es la etnia Xi'iyu de la región de la Palma, comunidad del municipio de Rayón, en el estado de San Luis Potosí, quienes utilizan múltiples plantas para tratar diversas enfermedades y sintomatologías (Guzmán-Guzmán, 2010).

Una de las plantas empleadas por la comunidad Xi'iyu es *Calea urticifolia* (Mill.) DC., especie utilizada tradicionalmente para el tratamiento de procesos inflamatorios y como hipoglucemiante. Nuestro grupo de trabajo ha corroborado farmacológicamente sus usos tradicionales con anterioridad y promete ser eficiente en el tratamiento de afecciones inflamatorias, incluso en la inflamación de bajo grado producida en la obesidad y, en consecuencia, en la resistencia a la insulina (Segura-Esparragoza, 2017).

Si bien el uso de plantas medicinales es importante en diferentes culturas, incluida la mexicana, se sabe poco acerca de las plantas utilizadas. Existe una cantidad limitada de información sobre su composición química y aún menos información sobre los mecanismos que siguen para ejercer un efecto farmacológico. Debido a esto, la herbolaria es un campo de investigación amplio y poco estudiado que puede proporcionar importantes contribuciones a la medicina moderna y coadyuvar al sistema de salud.

2.10. *Calea urticifolia*

Calea urticifolia (*C.urticifolia*) es un arbusto de la familia Compositae, comúnmente conocida en México como Chilchaca, jarilla, tacote, jaral de castilla o negrito. Son arbustos que pueden medir hasta 2 m de altura, poseen hojas ovaladas dentadas con flores amarillas agrupadas en cabezuelas. Se encuentra comúnmente desde México hasta Panamá y habita en climas cálidos y semicálidos. En México, se localiza principalmente en estados como Veracruz, Yucatán, San Luis Potosí, el sur de Durango, Jalisco, Hidalgo entre otros. (*Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, s/f*).

Su uso en comunidades indígenas del estado de San Luis Potosí es variado. En la comunidad Vicente Guerrero y Potrero del Carnero del municipio de Rayón, se utiliza

para tratar diabetes mellitus y problemas gastrointestinales. El tratamiento tradicional de la especia consiste en la infusión de dos hojas secas (en promedio 0.13 g) de la especie sumergidas en una taza con agua hirviendo bajo reposo de 3 a 5 minutos. Los pacientes toman esta infusión dos veces al día, por la mañana en ayunas y por la tarde hasta tener mejoría (Guzmán-Guzmán, 2010).

2.11. Caracterización química de *Calea urticifolia*

Se han aislado siete germacronólidos de caleína, cinco heiangólidos, y ocho derivados de isoeugenol de esta planta, incluyendo raíces flores, hojas y tallos (Yamada et al., 2004). En el extracto acuoso de la planta se han identificado compuestos fenólicos, derivados del ácido cafeoilquínico, así como algunos flavonoides (Torres-Rodríguez, et al., 2016b). En estudios fitoquímicos de extractos orgánicos de las hojas, se han localizado grasas, carbohidratos, heterósidos cardiotónicos, taninos, alcaloides, triterpenos, flavonoides, saponinas y lactonas sesquiterpénicas (Zermeño-Macías, 2013). Un resumen de las estructuras encontradas en las diferentes especies de *Calea* puede observarse en la recopilación de Lima y colaboradores del 2018 donde adicionalmente se localizan las funciones biológicas encontradas en las diferentes especies reportadas a la fecha (Lima et al., 2018).

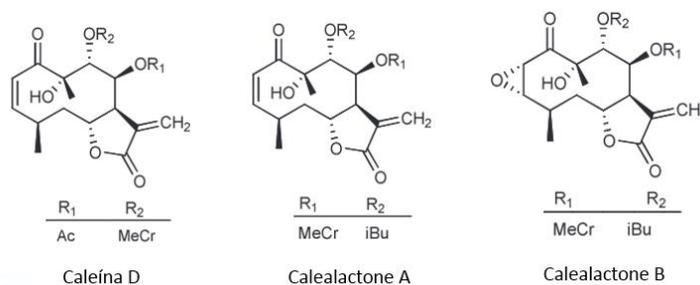


Figura 1. Compuestos identificados en *Calea urticifolia*.

Se muestran algunas estructuras de compuestos obtenidos de *Calea urticifolia* a lo largo de los años por diferentes autores, figura adaptada de *The genus Calea L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities*. (Lima et al., 2018).

Algunos de estos componentes han demostrado tener actividades biológicas por separado. Algunos de los germacronólidos de caleína han demostrado tener actividad citotóxica (Yamada et al., 2004). Estos mismos han demostrado inhibir la acumulación de lípidos en células 3T3-L1 (Matsuura et al., 2005). Los ácidos grasos inhiben prostaglandinas, los taninos inhiben citocinas proinflamatorias, las lactonas sesquiterpénicas son inhibidoras del factor NF- κ B, lo que indica el porqué de su actividad biológica al ingerirse como tratamiento en forma de té (Zermeño-Macías, 2013).

2.12. Caracterización toxicológica de *Calea urticifolia*

Se evaluó la toxicidad aguda *in vivo* del extracto acuoso y etanólico; así como, la toxicidad sub-crónica para el extracto acuoso de *Calea urticifolia* en ratas Wistar. La toxicidad aguda se realizó de acuerdo con la guía 423 de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), en el cual se establecen dosis fijas de experimentación por 14 días. En este estudio se incluyeron dosis de 50, 100, 300, 2000 y 5000 mg/kg para el extracto acuoso y de 50, 100, 300 y 1000 mg/kg para el extracto etanólico. Con estas dosis se logró establecer un DL50 de 5000mg/kg para el extracto acuoso y de 1000mg/kg para el extracto etanólico, sin observarse signos de toxicidad aguda o muerte, clasificándose en la categoría 5 para los extractos acuoso y 4 para el extracto etanólico de acuerdo con la clasificación toxicológica del Sistema Mundialmente Armonizado de Clasificación (GHS) siendo 1 la máxima toxicidad y 5 la mínima (Torres-Rodríguez, et al., 2016a).

Para determinar la toxicidad sub-crónica, se siguió la guía 407 de la OCDE. Se utilizaron dosis de 0.5, 50 y 500 mg/kg del extracto acuoso administrados en menos de 0.5 mL. Los animales estuvieron bajo observación por 30 días sin evidencia de cambios en el comportamiento, peso o parámetros bioquímicos, estableciéndose de esta forma un DL50 > 5g/kg, el cual se clasifica en la categoría 5 del GHS, misma categoría asignada para este extracto en la toxicidad aguda. La dosis tradicional representa 22,727 y 18,115 veces menos que la DL50 establecida para el extracto etanólico y acuoso respectivamente, lo que sugiere que el margen de seguridad de los extractos es amplio.

2.13. Caracterización de la actividad biológica de *Calea urticifolia*

C. urticifolia ha sido estudiada por distintos grupos de investigación en el mundo, derivado de ello se han logrado establecer distintas actividades biológicas de relevancia para la salud de los individuos que la consumen en forma de infusión o té herbal.

El efecto atribuido tradicionalmente como agente antiinflamatorio fue corroborado en sus extractos acuoso y etanólico (Guzmán-Guzmán, 2010). Los resultados mostraron la inhibición de la producción de citocinas proinflamatorias (TNF- α , IL-6 e IL-1 β), en un modelo de inflamación aguda mediado por carragenina en ratas Wistar. Por otra parte, en rata Wistar se evaluó la capacidad del extracto etanólico como antiinflamatorio un modelo de inflamación crónica de bajo grado inducido por una dieta rica en grasa. Los resultados mostraron la capacidad inhibitoria de la producción TNF- α , IL-6 e IL-1 β (Guzmán-Guzmán, 2010).

El grupo de ratas Wistar tras la inducción de la inflamación de bajo grado mostraron incrementos significativos de la glucosa sérica, indicativo de la presencia de RI, además de un incremento de triglicéridos y colesterol. Signos representativos del síndrome metabólico. Al administrar el extracto etanólico se observó una mejora de la homeostasis de glucosa (efecto hipoglucemiante), lo que sugiere que el extracto vegetal es capaz de modular la resistencia a la insulina generada TNF- α e IL-6.

Adicionalmente, se determinó la concentración de adiponectina, adipocina antiinflamatoria que en estudios clínicos se describe su participación en la inhibición de TNF- α y por ende sugerimos puede retrasar la presencia de RI (Guzmán-Guzmán, 2010; Segura-Esparragoza, 2017; Torres-Rodríguez, 2016b).

Torres Rodríguez y colaboradores (2016b), evaluó el efecto anti-inflamatorio y antioxidante únicamente del extracto acuoso de la especie en macrófagos RAQ 264.7 estimulados por LPS; sus resultados mostraron que la actividad antiinflamatoria de la especie se relaciona por la modulación de la vía del óxido nítrico y óxido nítrico sintasa inducible, a través de la inhibición de la translocación de las subunidades p65 y p50 del factor nuclear kappa B (NF κ B).

3. JUSTIFICACIÓN

El uso de plantas medicinales es una práctica arraigada no solo en nuestro país, sino en todo el mundo. Sin embargo, su utilización ha disminuido debido a la escasez de información confiable que respalde su eficacia. A pesar de que México posee una amplia variedad de plantas medicinales, la evidencia científica sobre sus propiedades y actividades farmacológicas es limitada.

En este contexto, *Calea urticifolia* ha sido evaluada en nuestro grupo de trabajo para investigar sus efectos: antiinflamatorio, antioxidante e hipoglucemiante. Los resultados obtenidos son prometedores y sugieren su potencial uso como coadyuvante en el tratamiento de enfermedades de alto impacto en la salud pública como lo es la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que está en aumento tanto en México como a nivel mundial. Además de su actividad biológica, se ha probado la baja toxicidad de la planta, lo que la convierte en un punto de alto interés.

A pesar de los usos potenciales de *Calea urticifolia*, aún queda por explorar de manera exhaustiva el mecanismo preciso mediante el cual ejerce su efecto biológico. El entendimiento del mecanismo de acción de esta planta como tratamiento hipoglucemiante es crucial para comprender sus posibles aplicaciones terapéuticas. Esta información no solo proporcionará una visión más clara de los usos potenciales de la planta, sino que también servirá como indicador del pronóstico de su actividad en tratamientos a largo plazo. Con este enfoque, se pueden abrir nuevas posibilidades en el campo de la medicina tradicional y complementaria, ofreciendo opciones terapéuticas más accesibles y naturales para mejorar la salud y el bienestar.

Por lo anterior, este trabajo se basó en evaluar los biomarcadores y mecanismos implicados en la acción hipoglucemiante del extracto acuoso de *Calea urticifolia* tanto en un modelo *in vivo* como *in vitro*. Este análisis permitió comprender mejor cómo el extracto afecta los procesos moleculares relacionados con la homeostasis de glucosa, tanto a nivel de organismos completos como en entorno celular controlados.

4. HIPÓTESIS

El extracto acuoso de *Calea urticifolia* ejerce un efecto hipoglucemiante en un modelo *in vivo* de hiperglucemia al modular la sensibilidad del receptor de insulina, mediante la inhibición de citocinas proinflamatorias que provocan resistencia a la insulina. Además, se plantea que los mecanismos moleculares *in vitro* involucrados en este efecto incluyen la modulación de la síntesis de GLUT-4 por inhibición de la resistencia a la insulina mediada por TNF- α , excluyendo una acción secretagoga de la insulina por parte de los islotes pancreáticos.

5. OBJETIVO GENERAL

Investigar y caracterizar los mecanismos moleculares responsables del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en un modelo de hiperglucemia, tanto en un entorno *in vivo* como *in vitro*.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

- Desarrollar en ratones C57BL6 un estado de hiperglucemia por resistencia a insulina mediada por la generación de inflamación de bajo grado a través de la administración de dieta rica en grasa.
- Evaluar el efecto terapéutico y protector del extracto acuoso de *Calea urticifolia*, así como su influencia en la regulación de la glucosa sérica y los biomarcadores inflamatorios TNF- α e IL-6 asociados a la inducción de hiperglucemia en ratones C57BL6.
- Establecer y estandarizar cultivos primarios de islotes del pancreáticos de ratones C57BL6, para determinar la capacidad del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en inducir la secreción y producción de insulina.
- Evaluar en adipocitos diferenciados de la línea celular de 3T3-L1 con inducción de resistencia a la insulina mediada por TNF- α , la capacidad del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en generar un efecto hipoglucemiante ante la activación del transportador de glucosa (GLUT-4) vía insulino-dependiente y su efecto en ausencia de insulina.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. Rendimiento de extracción

El extracto acuoso de *Calea urticifolia* se preparó a partir de las hojas de la planta recolectadas en el municipio de Rayón SLP (21°52'29.16" Norte 99°27'7.92" Oeste a 900 msnm) en septiembre de 2017. Las ramas con hojas de las plantas fueron llevadas al laboratorio de Bioprocesos del Instituto de Investigación en Zonas Desérticas donde se colocaron sobre papel absorbente durante 48h para eliminar la humedad. Posteriormente, se separaron las hojas y se pusieron a secar durante 15 días al abrigo de la luz y a temperatura ambiente.

Se colocaron 1Kg de hojas pulverizadas y secas en un matraz Erlenmeyer con 1L de agua destilada, se dejaron hervir por 10 minutos en una placa calefactora y luego se dejaron enfriar a temperatura ambiente. Se filtró al vacío con un filtro Whatman número 2. El filtrado se congeló a -20°C y posteriormente se liofilizó en un Freeze Dryer TFD5505 Ilshin. El polvo liofilizado se conservó a 4°C hasta su uso y se reconstituyó con agua destilada estéril para la preparación de los tratamientos.

7.2. Modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6 por dieta rica en grasa.

Se emplearon 40 ratones macho C57BL6 con edades comprendidas entre 3 a 5 semanas y una masa corporal de 25±5g, los cuales fueron adquiridos en el Bioterio del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Los animales fueron manipulados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 y se alojaron en el bioterio de la Facultad de Medicina de la UASLP, bajo condiciones controladas de temperatura (22±1°C), humedad relativa (50±5%) y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas. Cada ratón fue alojado individualmente en cajas de acrílico con rejas de acero inoxidable y aserrín como material cama, tras un periodo de adaptación de 5 días previo a la aleatorización de grupos, durante el cual se les proporcionó alimento (Formulab Chow) y agua ad libitum.

Posteriormente, los ratones fueron divididos aleatoriamente en dos grupos (n=20), para evaluar el efecto terapéutico y protector de *Calea urticifolia*.

Ambos grupos (terapéutico y protector) fueron subdividido en dos subgrupos, el primero recibió alimentación con la dieta estándar (DE), cuyo aporte calórico fue de

415 kcal/100g de alimento Formulab Chow 5008 (n=10), mientras que el segundo subgrupo (n=10) fue alimentado con una dieta rica en grasa (DRG) elaborada con la adición de grasa con un aporte calórico de 547 kcal/100g de alimento según el método modificado de Guzmán-Guzmán (2010) y Segura-Esparragoza (2017). Ambas dietas, así como el consumo de agua, fueron monitoreadas semanalmente para cada ratón.

7.2.1. Evaluación del efecto terapéutico del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.

Los ratones alimentados con DE y DRG por 90 días para el desarrollo de hiperglucemia se dividieron aleatoriamente en 4 subgrupos de ratones (n=5). Para evaluar la capacidad terapéutica del extracto vegetal, se procedió a continuar la administración de las respectivas dietas + la administración del extracto acuoso por 90 días más, dejando dos subgrupos adicionales a manera de control del modelo sin administración del extracto. Los tratamientos administrados fueron los siguientes: **DE:** DE + agua, **DE+Ex:** DE + Extracto 11mg/kg, **DRG:** DRG + agua y **DRG+Ex:** DRG + Extracto 11mg/kg.

Se evaluó semanalmente la ganancia de peso, así como el consumo de alimento y agua durante 180 días. Se monitoreo la concentración de glucosa sérica cada 15 días (figura 2) y al final del desarrollo del modelo se cuantificaron citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6.



Figura 2. Estrategia experimental para evaluar el efecto terapéutico y protector del extracto acuoso de *Calea urticifolia*.

7.2.2. Evaluación del efecto protector del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.

Para evaluar la capacidad protectora del extracto vegetal, los animales fueron aleatorizados en 4 subgrupos y se procedió a administrar las dietas respectivas + el extracto acuoso de *Calea urticifolia* (11mg/kg) del día 1 al 180. El esquema de administración se muestra en la figura 2. Semanalmente se monitorearon los cambios de peso, consumo de alimento y de agua. Adicionalmente cada 15 días se monitoreaban los niveles de glucosa sérica.

7.2.3. Sacrificio animal y obtención de tejidos

El sacrificio de los animales fue realizado por exanguinación por punción cardiaca conforme al punto 9.4.1.2 de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Previamente, se administró anestesia por vía inhalatoria utilizando Isoflurano. Los animales fueron colocados en una cámara de saturación hermética, donde se les suministró una sobredosis de Isoflurano (Sofloran Vet, de PiSA Agropecuaria), que actúa como un inhibidor de la conducción de los potenciales de acción que reduce la frecuencia cardiaca y la presión sanguínea a una concentración superior al 4% (Medina et al., 2007).

Se monitorizó a los animales hasta que se observó una disminución en la frecuencia respiratoria y presión sanguínea, momento en el cual se procedió a realizar la punción cardiaca para inducir la muerte por exanguinación, tal como lo establece el punto 9.5.3.6 de la NOM-062-ZOO-1999. La sangre recolectada fue centrifugada para obtener suero en cada uno de los animales. Los sueros obtenidos fueron etiquetados y almacenados congelados hasta su posterior análisis para la determinación de citocinas proinflamatorias.

7.2.4. Cuantificación de citocinas proinflamatorias

Para la cuantificación de citocinas proinflamatorias se utilizaron kits de ELISA de la marca Peptotech siguiendo el protocolo establecido por el proveedor y haciendo uso de los sueros obtenidos de los ratones del modelo animal de los grupos DE y DRG.

Los sueros obtenidos fueron congelados hasta la evaluación de citocinas proinflamatorias.

En una placa de 96 pocillos se colocaron 100µl de anticuerpo de captura diluido a 1µg/mL en buffer de fosfatos (PBS) a pH de 7.0, la placa se dejó incubar a temperatura ambiente durante toda la noche sellada de manera correcta y a resguardo de la luz directa. Posterior al tiempo de incubación se retiró el anticuerpo con ayuda de una pipeta multicanal y se realizaron cuatro lavados añadiendo 400µl de PBS.

Posterior a los lavados se agregaron 300µl de buffer de bloqueo el cual consistió en una solución de 1% de alúmina de suero bovino en PBS, se dejó incubar la placa por 1h a temperatura ambiente y posterior al tiempo de incubación se realizaron de nuevo 4 lavados con PBS.

Los estándares contenidos en los kits de ELISA fueron diluidos en agua destilada estéril a una concentración de 0.02µg/ml, de esta se realizaron diluciones seriadas para obtener 7 concentraciones diferentes equivalentes a 2000pg/ml, 1000pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml, 62.5pg/ml y 31.25pg/ml las cuales fueron colocadas por triplicado en la placa como curva de concentración estándar adicional a las muestras de suero de los ratones.

Los estándares y las muestras problema fueron colocadas en la placa e incubadas por 2h a temperatura ambiente y posterior a ello se realizaron 4 lavados con PBS.

Para realizar la detección se colocaron 100µl de anticuerpo secundario o de detección biotinilado a una concentración de 0.5µg/ml diluido en PBS. El anticuerpo de detección se dejó incubar por 2h a temperatura ambiente y posterior a ello se realizaron 4 lavados.

Para la formación de coloración se agregaron 100 µl e ABTS (ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)) y se realizó una lectura en un lector de placas Synergy H5 a 405 nm con corrección de longitud de onda establecida en 650 nm. Los resultados fueron realizados por triplicado para ratón de los modelos (n=5 por grupo) y los estándares.

7.3. Cultivo primario de Islotes pancreáticos

7.3.1. Obtención del tejido celular

Las células fueron aisladas siguiendo el método descrito de (Mohallem y Aryal, 2020). Para ello, se utilizaron ratones C57BL/6 alimentados con DE y DRG. Tras el sacrificio de los animales, se procedió a la extracción del tejido pancreático. Inicialmente, se retiró el intestino del lado izquierdo del ratón para exponer el páncreas, situado en la parte inferior del estómago. Se localizó el conducto biliar común abajo del hígado y se colocó una pinza hemostática en cada lado del intestino delgado para evitar la entrada de colagenasa a los intestinos.

El páncreas infiltrado con una solución de colagenasa P (0.3 mg/ml-0.55 mg/ml) en buffer Hank's Balanced Salt Solution con calcio y Ácido 4-(2-hidroxietil)piperazin-1-iletanosulfónico (HBSS/Ca/HEPES). Una vez infiltrada la solución, se liberaron las pinzas y el páncreas fue retirado con cuidado, realizando cortes certeros para liberar el tejido. Este fue transferido rápidamente a un tubo cónico estéril de 50ml y aforado a 5mL con HBSS/Ca/HEPES precalentado a 37°C. El tubo se incubó a 37°C por 20 minutos hasta observar la disgregación del tejido, y luego se colocó en un baño de hielo durante 10 minutos para detener la actividad enzimática.

El sobrenadante del tubo fue aspirado sin romper el pellet celular, y se agregó buffer de HBSS/Ca/HEPES previamente enfriado hasta alcanzar un volumen total de 15ml. El pellet celular fue disuelto con agitaciones cuidadosas y el contenido del tubo se filtró a través de una malla estéril de 500µm humedecida con medio RPMI suplementado y frío. La suspensión obtenida se monitoreó y ajustó utilizando una solución de azul de tripano y una cámara de Neubauer, con el objetivo de ajustar 1000 islotes por pocillo.

7.3.2. Tratamientos para los modelos *in vitro*

Para los ensayos de secreción de insulina y las determinaciones de glucosa, se utilizaron los siguientes tratamientos: Extracto acuoso de *Calea urticifolia* 11µg/ml, como controles se utilizaron 0.07 µg/mL de Glibenclamida y 14.25 µg/mL de Metformina en el experimento de captación de glucosa por estímulo con insulina. La glibenclamida fue seleccionada como fármaco control debido a su mecanismo

secretagogo de insulina en los islotes pancreáticos, esperando que fuera nuestro estándar de comparación para esta actividad, mientras que la metformina fue utilizada como fármaco de referencia por el efecto que ejerce al sensibilizar el receptor de insulina en el tejido adiposo (Imam, 2013).

7.3.3. Evaluación de la actividad metabólica de los islotes aislados.

Los islotes se ajustaron en medio RPMI 1640 suplementado con 1g/L de glucosa, SFB al 10%, glutamina 4mM, piruvato de sodio 1mM y HEPES 10mM, todos suministrados por Gibco™. Se incubaron a 37°C con 5% CO₂ durante 24 horas para permitir su adaptación al medio antes de la evaluación de la actividad metabólica. Después de las 24 horas de cultivo, los islotes fueron observados al microscopio y se retiró el medio, que fue reemplazado por medio RPMI 1640 no suplementado y los tratamientos específicos para cada pocillo incluyendo peróxido de hidrógeno H₂O₂ 75µM como control de muerte. Se agregó rezasurina a una concentración de 10 µg/ml a cada pocillo para observar su conversión a resofurina. Tras una incubación de 2 horas a 37°C con 5% CO₂, la cuantificación del producto redox se llevó a cabo en un lector de placas modelo Synergy HT de BioTek, utilizando una longitud de onda de 600nm para la detección y 530nm para la excitación. Todos los experimentos se realizaron por triplicado en tres ocasiones distintas.

7.3.4. Evaluación de la secreción de insulina.

Para la evaluación de la secreción de insulina, se utilizó el sobrenadante de los islotes cultivados previamente. Se tomaron 200 µL de sobrenadante a la hora de incubación y a las 24 horas para evaluar la secreción y producción de insulina, respectivamente. Los sobrenadantes fueron congelados a -20°C hasta su análisis. La determinación de insulina se llevó a cabo utilizando un kit de ELISA de EZRMI-13K Rat/Mouse Insulin 96 plat assay Merck Millipore, siguiendo las instrucciones del fabricante. Las placas reveladas fueron leídas en un lector de microplacas 450nm y 590nm, de acuerdo con las sugerencias del proveedor. Los datos fueron recopilados en bases de datos para su posterior análisis estadístico.

7.4. Cultivo de adipocitos 3T3-L1

Se empleó la línea celular 3T3-L1 de ATCC® de *Mus musculus*, reconocida como preadipocitos. Se utilizaron tres tipos de medios de cultivo, un medio Base (MB): de DMEM con 1g/L de glucosa, suplementado con SFB, glutamina, piruvato de sodio y HEPES. Medio de Diferenciación (MD): MB con Insulina 1, IBMX, Dexametasona y Rosiglitazona y un medio de Mantenimiento (MM): MB con Insulina.

Los preadipocitos fueron descongelados gradualmente y sembrados en 5 mL de MB para determinar viabilidad y conteo celular con azul de tripano en cámara de Neubauer. Las células se colocaron en placas de 24 pozos. Las placas se incubaron con 5% de CO₂ a 37°C por 48 horas para el inicio del estímulo de diferenciación. Posterior a estas 48h las células se lavaron y se mantuvieron en MM hasta complementar la diferenciación celular de preadipocitos a adipocitos (de 15 a 20 días) colocando medio fresco cada 48h e identificando la diferenciación gracias a los cambios estructurales presentados por las células.

7.4.1. Tinción diferencial

Las células diferenciadas fueron lavadas con PBS pH 7.2, fijadas con formaldehído al 10% e incubadas a 4°C durante 60 minutos. Luego, se incubaron con rojo oleoso al 0.3% en isopropanol/agua (1:3) durante 60 minutos. El colorante se retiró y almacenó en tubos de vidrio para su posterior cuantificación. Las muestras se lavaron con isopropanol al 60%, recolectando el líquido en los tubos de colorante. Se realizaron lavados finales con PBS y las soluciones se almacenaron. La cuantificación se realizó con un lector de absorbancia a 518 nm, donde la absorbancia es inversamente proporcional a la diferenciación celular.

7.4.2. Evaluación de la actividad metabólica de los adipocitos 3T3-L1

Se evaluó la influencia del extracto liofilizado de *Calea urticifolia* sobre la actividad redox mitocondrial de los adipocitos mediante la conversión de resazurina a resofurina. Los adipocitos diferenciados se mantuvieron 24 horas en medio base sin SFB (-MB) para evitar interferencias, y luego se trataron con diferentes

concentraciones del extracto (5.5 µg/mL, 11 µg/mL y 55 µg/mL) para determinar la concentración óptima para la viabilidad celular. Se usó H₂O₂ (75 µM) como control de citotoxicidad. Los cultivos se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ durante 4 horas. La conversión de resazurina a resofurina, indicativa de la actividad mitocondrial, se cuantificó con un lector de placas a 600 nm y 530 nm. Los experimentos se realizaron por triplicado y en al menos tres experimentos independientes.

7.4.3. Desarrollo del modelo de RI en adipocitos 3T3-L1.

Se indujo RI siguiendo el método de Mohallem con modificaciones (Mohallem y Aryal, 2020). Este experimento permitió evaluar la funcionalidad metabólica de la insulina por la vía clásica en presencia de resistencia a la insulina. Se cultivaron adipocitos diferenciado 3T3L1 en medio base **MB** a 37°C en ambiente de 5% de CO₂ durante 24 horas. Posterior al tiempo de incubación, de manera independiente los medios fueron sustituidos por medios independientes correspondientes a MB, medio base con insulina **MBI**, medio con TNF-α como inductor de RI (**MBRI**) y un medio MBRI con insulina **MBRI+I**.

Se establecieron 3 grupos de tratamientos: Células sin estímulo (Control); células con extracto acuoso de *Calea urticifolia* a 11 µg/mL (Extracto) y células con el fármaco de referencia (Metformina). Al término del experimento se tomaron los sobrenadantes celulares y se conservaron hasta su posterior análisis para la determinación de glucosa por medio del método de glucosa oxidasa.

7.4.4. Determinación de la expresión de GLUT-4 y AKT

Las células diferenciadas fueron sometidas a los mismos tratamientos descritos en la inducción de RI en la línea celular 3T3-L1. Al término del tiempo de exposición a los tratamientos las células fueron desprendidas de la placa con ayuda de un rascador y tripsina para mejorar la segregación. Posteriormente, las células se resuspendieron cuidadosamente en MB fresco y se lavaron con PBS para retirar la enzima de segregación, manteniéndose en un baño frío hasta determinar su viabilidad mediante el método de azul de tripano y conteo por cámara de Neubauer con viabilidad superior al 95%.

La expresión de GLUT-4 tras la ausencia y presencia de RI se valoró mediante citometría de flujo.

Para la expresión de AKT, las células se permeabilizaron. Las células se incubaron en completa oscuridad y se fijaron con PFA. Las células fueron leídas en un citómetro de flujo Becton Dickinson y analizadas en el software Flow Jo v 10 de Tree Star Inc. Ashland, OR. Todos los tratamientos se realizaron por triplicado y en al menos tres experimentos independientes.

7.5. Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los experimentos se analizaron utilizando el software IBM SPSS Statistics. Se realizaron pruebas de Shapiro Wilk y Kolmogorov-Smirnov para la determinación de datos paramétricos y no paramétricos.

Para los conjuntos de datos que cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se realizaron pruebas de ANOVA (Análisis de Varianza) de una y dos vías. Posteriormente, se aplicó la corrección de Bonferroni para controlar el error tipo I debido a las múltiples comparaciones.

Para los conjuntos de datos que no cumplían con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se empleó la prueba de Kruskal-Wallis como alternativa no paramétrica a la ANOVA. Después de la prueba inicial, se realizó una prueba post hoc utilizando pruebas de Games Howell para comparaciones múltiples.

El nivel de significancia para determinar las diferencias se fijó en $p < 0.05$.

8. RESULTADOS

8.1. Material vegetal

Por cada 100g de planta seca se obtuvieron 19.88g de extracto liofilizado, generando un rendimiento del 19.8% del extracto acuoso de *Calea urticifolia*.

8.2. Modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6 por dieta rica en grasa.

Los resultados relacionados con la administración de las dietas se muestran en la tabla 1. Con respecto al consumo de alimento, el grupo tratado con la DE mostró mayor consumo de alimento (31g en promedio) en comparación con el grupo alimentado con DRG (28g en promedio). Sin embargo, en lo que respecta al consumo de calorías, el grupo tratado con la DRG ingirió un 7.3 % más de calorías en comparación con el grupo de la DE. Este sutil incremento de calorías se asoció con el incremento de peso corporal en un 11.5% en el grupo de ratones alimentados con DRG.

El consumo de agua por parte del grupo DRG fue menor comparado con la DE, disminuyendo el consumo de agua alrededor de 20mL en promedio para el grupo DRG en comparación con su contraparte DE.

La concentración de glucosa sanguínea en el grupo de ratones con DRG mostró un incremento significativo del 33.4 %. La administración de las dietas durante el tiempo de 90 días mostró un incremento de la glucosa sérica de 32.5 g/dL entre el inicio y final del experimento para el grupo de ratones alimentados con la DE. En cuanto al grupo tratado con la DRG, tal diferencia fue de 76.5 mg/dL evidenciando un incremento significativo de glucosa durante el periodo inicial y final del experimento.

Tabla 1. Efecto de la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia en ratón C57BL6.

Parámetros		DE	DRG	Valor de p
Consumo promedio de calorías		128.41 ± 2.10	137.84 ± 3.78 ^a	<0.0001
Consumo promedio de agua (mL)		62.00 ± 2.48	42.67 ± 2.48 ^a	<0.001
Peso (g)	Inicial	19.25 ± 1.89	19.80 ± 1.50	>0.05
	Final	27.25 ± 0.85	30.40 ± 1.47 ^a	<0.0001
Glucosa	Inicial	127.13 ± 7.90	114.38 ± 6.32	>0.05
	Final	159.63 ± 12.29	190.88 ± 7.39 ^a	<0.001

Los valores corresponden al promedio ± el error estándar de la media. ^arepresenta la comparación de los grupos por dieta respectiva. Se realizaron pruebas de ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni.

8.2.1. Evaluación del efecto terapéutico del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.

Este experimento se basó en la evaluación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *C. urticifolia* sobre la hiperglucemia inducida por la DRG. Los resultados con respecto al consumo promedio calórico y el consumo de agua entre los grupos de ratones alimentados con DE y DE+ Ext no mostraron diferencias significativas durante el tiempo de experimentación. Sin embargo, el grupo de ratones alimentados con DRG y DRG + Ext mostraron un incremento en el consumo de calorías debido a la composición de la dieta (Tabla 2). A lo largo del experimento se monitoreó el peso corporal de los animales. Los grupos DE y DE+Ext no mostró diferencias significativas entre ellos, mientras que los grupos de DRG presentaron incrementos de peso a lo largo del experimento, la DRG+Ext permaneció en un rango de peso inferior que aquellos ratones que no fueron administrados con el extracto en un promedio de 6.65g.

Con respecto a la concentración de glucosa sérica, el grupo de ratones tratados con DRG mostraron un incremento significativo del 59.8% comparado con el grupo de

ratones tratados con DE en los primeros 90 días. validando así el efecto hiperglucémico de la dieta rica en grasa. El extracto acuoso liofilizado de *Calea urticifolia* mostró disminución significativa de la concentración de glucosa sérica en un 9.3% entre el grupo de ratones tratados con DRG en comparación con DRG + Ext (Tabla 2).

Tabla 2. Efecto terapéutico del extracto acuoso de *C. urticifolia* en los ratones C57BL6 sometidos a la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia.

Parámetros		DE	DE+Ext	DRG	DRG+Ext
Consumo promedio de calorías		138.91 ± 3.5	144.38 ± 3.5	155.79 ± 2.8	163.57 ± 3.2 ^a
Consumo promedio de agua (mL)		49.33 ± 5.1	52.59 ± 3.8	44.29 ± 8.1	30.55 ± 7.6
Peso (g)	Inicial	26.13 ± 0.57	26.35 ± 0.20	35.75 ± 0.50	37.63 ± 1.78 ^a
	Final	29.03 ± 1.23	27.13 ± 1.13	44.58 ± 0.32	37.93 ± 1.28 ^a
Glucosa	Inicial	93.50 ± 0.50	97.00 ± 0.80	149.50 ± 0.83	137.50 ± 0.65
	Final	141.50 ± 2.50	130.50 ± 2.15	151.00 ± 0.93	137.00 ± 1.8 ^a

Los valores se muestran en medias ± SEM, * $p < 0.05$ comparados con el grupo control (DE) y ^arepresenta la comparación de los grupos por dieta respectiva. Se realizaron pruebas de ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni.

8.2.2. Evaluación del efecto protector del extracto acuoso de *Calea urticifolia* en el modelo de hiperglucemia en ratones C57BL6.

Al realizar la administración simultánea del extracto y la dieta se mantuvo el incremento significativo del consumo calórico en el grupo de ratas tratadas con DRG en comparación con DE, independientemente del consumo del extracto. Con respecto al consumo de agua se mantuvo homogéneo en la mayoría de los grupos, con un aumento del 16% en el grupo DRG+Ext. El peso corporal entre los grupos no mostró diferencias significativas entre las diferentes dietas, esto refiere que el

extracto acuoso de *C. urticifolia* previene el depósito de grasas en el tejido adiposo a pesar del consumo de la DRG mostrado en el efecto terapéutico.

Las concentraciones de glucosa del grupo DE y DE+Ext no presentaron diferencias significativas, tanto en el inicio como final del experimento, mientras que las concentraciones de glucosa de los ratones pertenecientes al grupo DRG+Ext presentó una disminución de las concentraciones de glucosa del 14% con respecto al grupo DRG al finalizar el experimento.

Tabla 3. Efecto protector del extracto acuoso de *C. urticifolia* en los ratones C57BL6 sometidos a la dieta estándar (DE) y rica en grasa (DRG) como modelo de hiperglucemia.

Parámetros		DE	DE+Ext	DRG	DRG+Ext
Consumo promedio de calorías		115.84 ± 5.4	116.85 ± 5.6	137.28 ± 3.2	147.96 ± 3.7 ^a
Consumo promedio de agua (mL)		50.17 ± 4.2	51.40 ± 6.5	37.14 ± 2.8	43.33 ± 3.3 ^a
Peso (g)	Inicial	19.94 ± 0.5	19.08 ± 0.4	19.72 ± 0.4	20.04 ± 0.5
	Final	25.81 ± 0.3	26.69 ± 0.8	34.96 ± 1.9	34.45 ± 2.3
Glucosa	Inicial	120.60 ± 13.5	103.40 ± 15	126.20 ± 7.1	121.20 ± 5.4 ^a
	Final	136.00 ± 6.6	146.60 ± 8.4	188.00 ± 10.5	160.13 ± 8.62 ^a

Los valores se muestran en medias ± SEM, * $p < 0.05$ comparados con el grupo control (DE) y ^arepresenta la comparación de los grupos por dieta respectiva. Se realizaron pruebas de ANOVA de dos vías y prueba de Bonferroni.

8.2.3. Cuantificación de citocinas

El modelo de hiperglucemia, se basó en la generación de resistencia a la insulina por inducción de un proceso de inflamación de bajo grado a través del consumo de una dieta hipercalórica en ratones C57BL6. La síntesis de citocinas proinflamatorias como TNF- α e IL-6 son características de la RI. Para la correcta medición de las muestras se realizó una curva de calibración (Figura 3) donde se obtuvo una R² de 0.9912 para las mediciones de TNF-a y de 0.9937 para las mediciones de IL-6

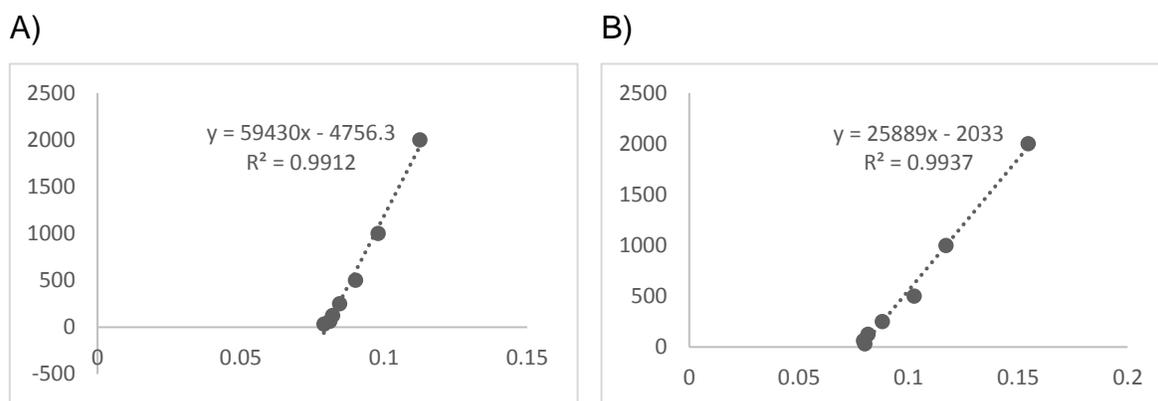


Figura 3. Curva de calibración para la evaluación de citocinas proinflamatorias.

A) Curva para TNF- α $R^2= 0.9912$, pendiente 59,430 B) Curva para IL-6 $R^2= 0.9937$, pendiente 25,889

La figura 4A, muestra el incremento de TNF- α (28% de incremento) en el grupo de ratones tratados con DRG con respecto al grupo tratado con DE. Por otra parte, el grupo de ratones tratados con DRG + Ext no incrementan la síntesis de la citocina proinflamatoria, observándose este efecto de igual manera con la IL-6 (Figura 4B). Este hallazgo aunado al no incremento del peso corporal por la dieta altamente calórica, sugiere que el efecto del extracto en el modelo *in vivo* podría estar asociado con la activación de la lipólisis de las grasas consumidas.

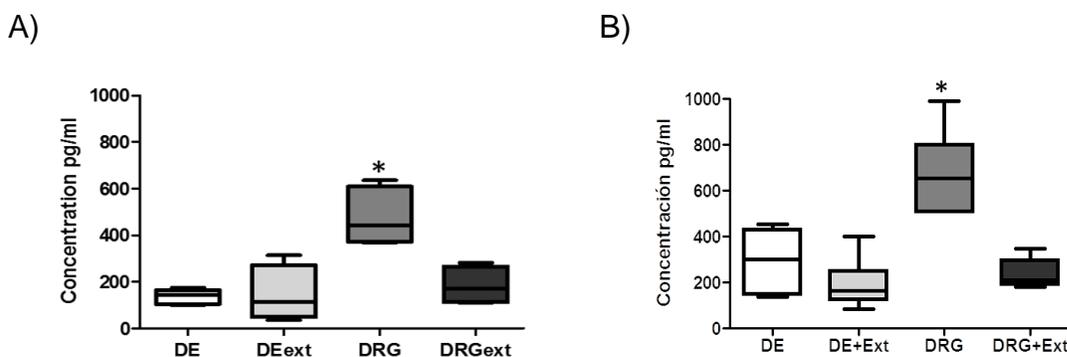


Figura 4. Cuantificación de citocinas proinflamatorias en el desarrollo del modelo hiperglucemiante y la evaluación del efecto protector de *C. urticifolia*. A) Concentración de TNF- α B) Concentración IL-6, se muestran los resultados del Análisis de ANOVA de una vía con post-hoc de Bonferroni. *DRG vs DE, DE+Ext y DRG+Ext ($p < 0.05$).

8.3. Cultivo primario de islotes pancreáticos

Posterior al desarrollo de la metodología de aislamiento de tejido se lograron obtener islotes pancreáticos disgregados del tejido, los cuales se mostraban como círculos irregulares, algunos aun presentaban algo de tejido acinar en su contorno. Las imágenes obtenidas se muestran en la figura 5 y corresponden a los islotes en medio RPMI previo a su contabilización y ajuste en la cámara de Neubauer.

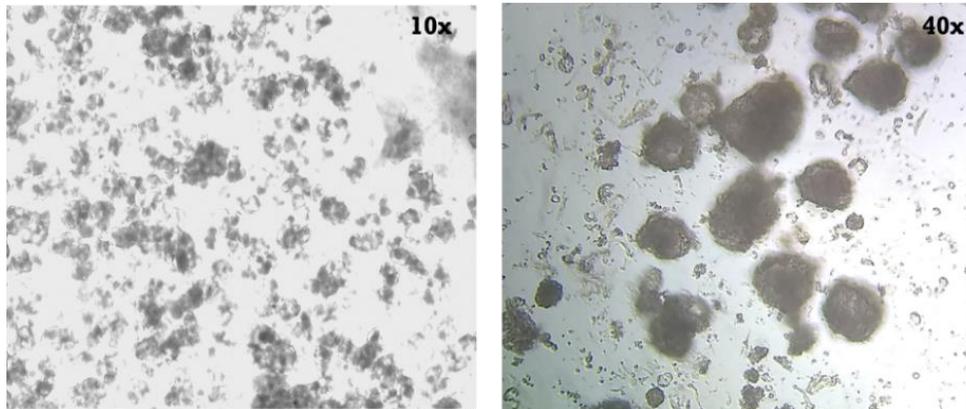


Figura 5. Islotes pancreáticos obtenidos tras la disección y digestión enzimática del páncreas. Se muestra el tejido disgregado y suspendido en medio de cultivo observado en un microscopio invertido a 10 y 40 aumentos.

8.3.1. Evaluación de la actividad metabólica de los islotes pancreáticos

El experimento permitió observar que existía sobrevida de los islotes durante su cultivo al presentar el control, los islotes tratados con el extracto y los islotes tratados con metformina una actividad biológica similar, caso contrario, el control de muerte presentó una disminución de la actividad metabólica menor al 50%. Los resultados se muestran a continuación en la figura 6.

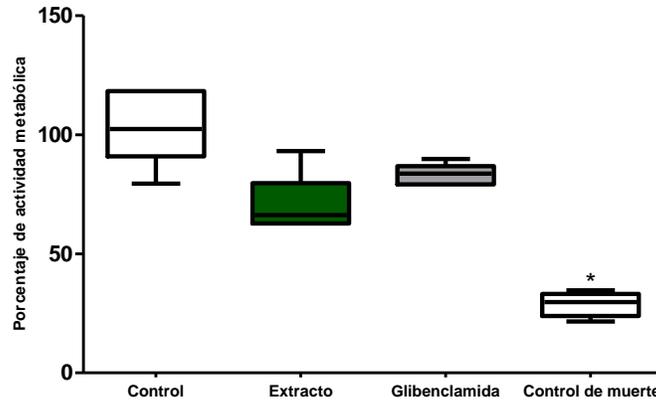


Figura 6. Porcentaje de actividad metabólica de islotes pancreáticos aislados de ratón. Los resultados se muestran en medias \pm SEM, $*p < 0.05$ comparados con el grupo control al cual se le asignó el 100% de actividad metabólica. Se realizaron pruebas de Kruskal Wallis con post-hoc de Games Howell.

8.3.2. Evaluación de la secreción de insulina

La insulina liberada por los islotes control en la primera hora fue de 0.564 ng/mL, las células con extracto presentaron un promedio de 0.594 ng/mL y los islotes tratados con glibenclamida de 0.07 μ g/mL, de estos resultados solamente la glibenclamida muestra un incremento estadísticamente significativo comparado con los islotes control ($p < 0.05$), al cabo de 24 horas las mediciones fueron muy similares estando todas en un promedio de 0.588 sin diferencias significativas.

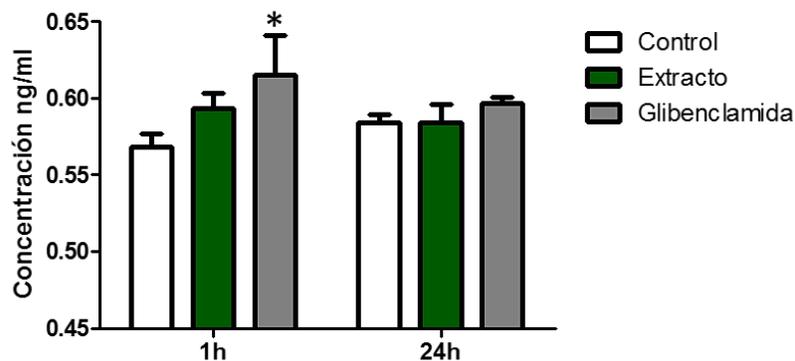


Figura 7. Resultados de la secreción de insulina de los islotes pancreáticos en los cultivos. Kruskal Wallis con post-hoc de Games Howell. *Diferencias estadísticas con respecto al grupo control ($p < 0.05$)

8.4. Cultivo de adipocitos 3T3-L1

8.4.1. Tinción diferencial

Las células cultivadas por 15-20 días en medio de mantenimiento posterior a la diferenciación mostraron cambios morfológicos que incluyeron la generación de vacuolas refringentes que al teñirse con rojo oleoso presentaron un color rojo brillante indicativo de la presencia de ácidos grasos.

8.4.2. Evaluación de la actividad metabólica de los adipocitos 3T3-L1

El extracto de *Calea urticifolia* en sus diferentes concentraciones (5.5 µg/mL, 11 µg/mL y 55 µg/mL) no mostró efecto dependiente de la concentración sobre la actividad metabólica mitocondrial, así mismo tampoco presentó diferencias significativas con respecto al grupo control. Con respecto al tratamiento con H₂O₂ este generó una disminución significativa en la actividad mitocondrial 46% (p<0.05), tal efecto se atribuye a los efectos citotóxicos que se le reconoce como inductor de especies reactivas de oxígeno (ROS), alteraciones en el equilibrio redox y daño en las enzimas mitocondriales (Zorov et al., 2006).

La concentración del extracto acuoso de 11 µg/mL, fue la seleccionada para valorar los efectos subsecuentes debido a los efectos biológicos favorables que observó Segura *et al.* en el 2017 en roedores C57BL/6.

8.4.3. Desarrollo del modelo de RI en adipocitos 3T3-L1.

Los adipocitos 3T3L1 pueden incorporar glucosa de manera insulino-independiente en un medio de baja glucosa. A los 15 minutos, el grupo control tuvo un bajo porcentaje de internalización de glucosa (0.3%), mientras que los grupos tratados mostraron mayores porcentajes: 8.1% con extracto, 7.6% con metformina y 9.0% con la mezcla. A los 30 minutos, se observó la máxima internalización de glucosa con 19% para el extracto, 14.8% para metformina y 19.3% para la mezcla (p=0.022). Este patrón persistió hasta los 60 minutos, cuando los valores regresaron a la línea base.

En presencia de insulina y baja concentración de glucosa, a los 15 minutos los tratamientos mostraron un efecto similar y más homogéneo con internalización de glucosa de 14.5% para el extracto, 15.3% para metformina y 14.8% para la mezcla, mantenidos hasta los 60 minutos. El grupo control mejoró su internalización a partir de los 30 minutos.

Con alta glucosa sin insulina, los porcentajes de internalización fueron altos en el control, extracto y metformina a los 15 y 30 minutos, mientras que la mezcla mostró porcentajes superiores de 47.0% y 34.7% respectivamente. En presencia de insulina, a los 15 minutos los tratamientos con extracto, metformina y mezcla aumentaron la internalización a 19.5%, 10.9% y 20.7% respectivamente, tendencia que se mantuvo a los 30 minutos, decreciendo en todos los tratamientos y el control a los 60 minutos.

8.4.4. Evaluación de la recaptura de glucosa en los adipocitos 3T3-L1

Las células de control exhiben niveles elevados de glucosa extracelular, lo cual es revertido efectivamente por el extracto acuoso liofilizado de *Calea urticifolia* y metformina, sugiriendo que ambos pueden contrarrestar la resistencia a la insulina (RI). Sin insulina, el extracto mostró una internalización de glucosa del 46.5%, y la metformina del 46.34%. Con insulina, estos porcentajes aumentaron al 55.1% y 67.6%, respectivamente

8.4.5. Determinación de la expresión de GLUT-4 y AKT

Los resultados no demostraron diferencias estadísticas, existe una tendencia notable que puede estar asociada con la activación clásica e independiente de la insulina del metabolismo de la glucosa (GLUT4 y AKT) en presencia tanto del extracto como de la metformina.

9. DISCUSIÓN

El rendimiento de extracción de metabolitos secundarios puede variar debido a factores como la especie vegetal y su variedad, la parte utilizada de la planta, su edad, la época de recolección, su ciclo fenológico y las condiciones asociadas a este como el tipo de clima, de suelo, altitud, humedad y la exposición a la luz solar, así como el método de extracción y la polaridad del disolvente de extracción especies (Akula y Ravishankar, 2011; Ghasemi Pirbalouti et al., 2013; Khan y Naeem, 2012; Liu et al., 2011; Marchese et al., 2010).

En esta investigación el rendimiento del material vegetal obtenido en su forma acuosa fue del 19.88%, que en comparación con lo obtenido por Torres-Rodríguez en 2016b (14.8%) y por Andrade-Cetto en 2019 (14.3%).

Tal diferencia consideramos que está relacionada con factores fenológicos asociados al grado de madures de las plantas por la recolección en diferentes épocas del año. Sin embargo, tal diferencia en el rendimiento de los metabolitos en esta especie, se mantienen sus efectos terapéuticos atribuidos por la medicina tradicional. Un estudio basado en evaluar el efecto antiinflamatorio del extracto etanólico de *C. urticifolia* en dos zonas distintas de distribución geográfica en el estado de San Luis Potosí, mostró que no existen diferencias significativas en su efecto biológico como inhibitorio de la citocina proinflamatoria TNF- α . Esto sugiere que existe la presencia de metabolitos secundarios de manera constitutiva, es decir por estímulos diferentes a los producidos por el estrés abiótico (Perez-Patiño, 2017).

Durante la experimentación del efecto terapéutico del extracto acuoso de *C. urticifolia* se observó la modulación del proceso inflamatorio en los ratones C57BL6 a través de disminuir la secreción de las citocinas proinflamatorias TNF- α e IL-6 y por consecuencia la inhibición de la RI. Estos resultados fueron consistentes con los hallazgos observados para la misma especie vegetal en trabajos previos en ratas Wistar y ratones C57BL6 (Guzmán-Guzmán, 2010; Segura-Esparragoza, 2017), como consecuencia de la inhibición del factor de transcripción NF κ B (Chaurasiya et al., 2016; Torres-Rodriguez, 2016).

Este efecto hipoglucemiante observado, pudiera estar relacionado con la presencia de los metabolitos secundarios identificados en la especie, como los flavonoides, y

que están presentes en las extracciones acuosas. Los flavonoides son compuestos fenólicos ampliamente distribuidos en el reino vegetal y varios estudios científicos han sugerido que tienen acciones hipoglucemiantes a través de mejorar la sensibilidad a la insulina y promover la captación de glucosa en los tejidos periféricos por estimular la translocación de transportadores de glucosa GLUT-4 en las membranas celulares, lo que aumenta la captación de glucosa en células musculares y adiposas (Kumar y Pandey, 2013).

En el experimento del efecto protector previo a la inducción de la inflamación de bajo grado, el extracto acuoso liofilizado de *C. urticifolia* no generó cambios significativos entre los grupos de experimentación con el grupo control sin tratar con el liofilizado. Este resultado demostró que el extracto vegetal no induce la incorporación de glucosa en presencia de condiciones de glucosa sanguínea a niveles normales y que la acción biológica del extracto acuoso depende de las modificaciones presentes en el metabolismo de la glucosa.

El efecto de hiperglucemia inducido por la DRG, como se ha descrito anteriormente, induce la secreción de TNF- α e IL-6, tales citosinas proinflamatorias están relacionadas principalmente en la respuesta inflamatoria y en el desarrollo de la resistencia a la insulina a través de interferir con la vía de señalización de la insulina, bloqueando la fosforilación de su sustrato, el receptor de insulina y/o el receptor del sustrato del receptor de insulina (IRS), lo que podría interferir en la traslocación de los transportadores de glucosa GLUT-4 (Shoelson, 2006). Este efecto sobre la sensibilidad del receptor de insulina puede estar exacerbado por la capacidad de las citocinas proinflamatorias por promover la lipólisis y la liberación de ácidos grasos libres que pueden activar los receptores Toll-4 de los macrófagos M1 y M2 (Wellen, 2005).

De acuerdo con los resultados observados sobre la hiperglucemia en los modelos animales establecidos por Torres-Rodríguez 2016b y Andrade-Cetto en 2021, así como la asociación del extracto acuoso de *C. urticifolia* con la inhibición de citocinas proinflamatorias, evaluadas en esta investigación, en ratones C57BL6 se estableció corroborar tal efecto en cultivos de adipocitos pertenecientes a la línea celular 3T3-L1 (Adolfo Andrade-Cetto et al., 2021; Torres-Rodriguez, 2016).

El extracto acuoso mejoró la captación de glucosa en adipocitos 3T3-L1, tanto en presencia como en ausencia de insulina, mostrando un posible mecanismo dual. En condiciones de alta glucosa, el extracto y la metformina mostraron efectos potenciados en la captación de glucosa. Esto se relaciona con la translocación de GLUT-4 y la activación de AMPK y AKT, independientemente de la insulina.

En modelos de RI inducida por TNF- α , el extracto incrementó la expresión de GLUT-4 en condiciones basales, mientras que la metformina mejoró la expresión de AKT. La captación de glucosa dependió de transportadores como GLUT-1 y GLUT-3, además de la modulación de la actividad enzimática. El extracto acuoso de *C. urticifolia* y la metformina demostraron ser efectivos en mejorar la captación de glucosa, sugiriendo su potencial terapéutico en la RI.

10. CONCLUSIONES

Calea urticifolia es una planta valiosa, especialmente como coadyuvante en enfermedades metabólicas como la resistencia a la insulina y la diabetes mellitus, relacionadas con procesos inflamatorios del tejido adiposo. Los resultados sugieren que su efecto hipoglucemiante puede explicarse mediante dos propuestas principales: la reducción de citocinas proinflamatorias y por una vía independiente de la insulina.

Esta investigación resalta el potencial terapéutico de *C. urticifolia* en el manejo de enfermedades metabólicas. Sin embargo, es necesario explorar todas las posibles formas en que esta planta ejerce su efecto hipoglucemiante bajo diferentes concentraciones del extracto, así como investigar los procesos de fosforilación de moléculas involucradas en las vías independientes de insulina.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adolfo Andrade-Cetto, Fernanda Espinoza-Hernandez, y Gerardo Mata-Torres.

(2021). Hypoglycemic Effect of *Calea urticifolia* (Mill.) DC. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2021, 10.

<https://doi.org/10.1155/2021/6625009>

Akula, R., y Ravishankar, G. A. (2011). Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants. *Plant Signaling y Behavior*, 6(11), 1720–1731. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17613>

Anaya, C. O. M., y Ariza, I. D. S. (2005). ACCIÓN INSULÍNICA Y RESISTENCIA A LA INSULINA: *Rev Fac Med Univ Nac Colomb*, 53(4).

Andrali, S. S., Sampley, M. L., Vanderford, N. L., y Özcan, S. (2008). Glucose regulation of insulin gene expression in pancreatic β -cells. *Biochemical Journal*, 415(1), 1–10. <https://doi.org/10.1042/BJ20081029>

Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. (s/f). Recuperado el 26 de noviembre de 2021, de <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/>

Chaurasiya, N. D., Gogineni, V., Elokely, K. M., León, F., Núñez, M. J., Klein, M. L., Walker, L. A., Cutler, S. J., y Tekwani, B. L. (2016). Isolation of Acacetin from *Calea urticifolia* with Inhibitory Properties against Human Monoamine Oxidase-A and -B. *Journal of Natural Products*, 79(10), 2538–2544. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00440>

Ciesielska, A., Matyjek, M., y Kwiatkowska, K. (2021). TLR4 and CD14 trafficking and its influence on LPS-induced pro-inflammatory signaling. *Cellular and*

Molecular Life Sciences, 78(4), 1233–1261. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03656-y>

Czech, M. P. (2020). Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Molecular Metabolism*, 34, 27–42.

<https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.12.014>

Esposito, K., Pontillo, A., Di Palo, C., Giugliano, G., Masella, M., Marfella, R., y

Giugliano, D. (2003). Effect of Weight Loss and Lifestyle Changes on Vascular Inflammatory Markers in Obese Women: A Randomized Trial.

JAMA, 289(14), 1799. <https://doi.org/10.1001/jama.289.14.1799>

Ford, R. J., Fullerton, M. D., Pinkosky, S. L., Day, E. A., Scott, J. W., Oakhill, J. S.,

Bujak, A. L., Smith, B. K., Crane, J. D., Blümer, R. M., Marcinko, K., Kemp,

B. E., Gerstein, H. C., y Steinberg, G. R. (2015). Metformin and salicylate synergistically activate liver AMPK, inhibit lipogenesis and improve insulin

sensitivity. *Biochemical Journal*, 468(1), 125–132.

<https://doi.org/10.1042/BJ20150125>

Foster, L. J., y Klip, A. (2000). Mechanism and regulation of GLUT-4 vesicle fusion

in muscle and fat cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*,

279(4), C877–C890. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.2000.279.4.C877>

Freeman, A. (2022). *Pennings N. Insulin Resistance*. StatPearls.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507839/>

Ghasemi Pirbalouti, A., Hashemi, M., y Ghahfarokhi, F. T. (2013). Essential oil and

chemical compositions of wild and cultivated *Thymus daenensis* Celak and

Thymus vulgaris L. *Industrial Crops and Products*, 48, 43–48.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2013.04.004>

- Göransson, O., Kopietz, F., y Rider, M. H. (2023). Metabolic control by AMPK in white adipose tissue. *Trends in Endocrinology y Metabolism*, 34(11), 704–717. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2023.08.011>
- Gregor, M. F., y Hotamisligil, G. S. (2011). Inflammatory Mechanisms in Obesity. *Annual Review of Immunology*, 29(1), 415–445. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101322>
- Guzmán-Guzmán, P. (2010). *Exploración, aprovechamiento y validación experimental de plantas con efecto anti-inflamatorio de la sierra madre oriental de San Luis Potosí* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma De San Luis Potosí]. <http://ninive.uaslp.mx/xmlui/bitstream/handle/i/3593/MCA1EXP01001.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Hong, Y., Yu, J., Su, Y., Mei, F., Li, M., Zhao, K., Zhao, L., Deng, W., Chen, C., y Wang, W. (2020). High-Fat Diet Aggravates Acute Pancreatitis via TLR4-Mediated Necroptosis and Inflammation in Rats. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2020/8172714>
- Hu, W., Li, M., Sun, W., Li, Q., Xi, H., Qiu, Y., Wang, R., Ding, Q., Wang, Z., Yu, Y., Lei, H., Mao, Y., y Zhu, Y. Z. (2022). Hirsutine ameliorates hepatic and cardiac insulin resistance in high-fat diet-induced diabetic mice and in vitro models. *Pharmacological Research*, 177, 105917. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105917>
- Huang, M., y Joseph, J. W. (2014). Assessment of the Metabolic Pathways Associated With Glucose-Stimulated Biphasic Insulin Secretion. *Endocrinology*, 155(5), 1653–1666. <https://doi.org/10.1210/en.2013-1805>

- Hurrle, S., y Hsu, W. H. (2017). The etiology of oxidative stress in insulin resistance. *Biomedical Journal*, 40(5), 257–262. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2017.06.007>
- Imam, K. (2013). Management and Treatment of Diabetes Mellitus. En S. I. Ahmad (Ed.), *Diabetes* (Vol. 771, pp. 356–380). Springer New York.
https://doi.org/10.1007/978-1-4614-5441-0_26
- Jackson, H. C., Pheiffer, C., Jack, B., y Africander, D. (2023). Time- and glucose-dependent differentiation of 3T3-L1 adipocytes mimics dysfunctional adiposity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 671, 286–291. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2023.06.026>
- Jialal, I., Huet, B. A., Kaur, H., Chien, A., y Devaraj, S. (2012). Increased Toll-Like Receptor Activity in Patients With Metabolic Syndrome. *Diabetes Care*, 35(4), 900–904. <https://doi.org/10.2337/dc11-2375>
- Kawai, T., y Akira, S. (2011). Toll-like Receptors and Their Crosstalk with Other Innate Receptors in Infection and Immunity. *Immunity*, 34(5), 637–650.
<https://doi.org/10.1016/j.immuni.2011.05.006>
- Kersten, S. (2023). The impact of fasting on adipose tissue metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1868(3), 159262. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2022.159262>
- Khan, M. A. B., Hashim, M. J., King, J. K., Govender, R. D., Mustafa, H., y Al Kaabi, J. (2019). Epidemiology of Type 2 Diabetes – Global Burden of Disease and Forecasted Trends: *Journal of Epidemiology and Global Health*, 10(1), 107.
<https://doi.org/10.2991/jegh.k.191028.001>
- Khan, M., y Naeem, M. (2012). *Drought Stress Effects on Medicinal and Aromatic Plants and the Possible Stress Amelioration by Mineral Nutrition*. 1. Medicinal

and Aromatic Plant Science and Biotechnology 6 (Special Issue 1), 69-83

©2012 Global Science Books.

<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:46423012>}

- Kumar, S., y Pandey, A. K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–16.
<https://doi.org/10.1155/2013/162750>
- Leal, V. D. O., y Mafra, D. (2013). Adipokines in obesity. *Clinica Chimica Acta*, 419, 87–94. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2013.02.003>
- Lima, T. C., Souza, R. J., Silva, F. A., y Biavatti, M. W. (2018). *The genus Calea L.: A review on traditional uses, phytochemistry, and biological activities.*
- Liu, H., Wang, X., Wang, D., Zou, Z., y Liang, Z. (2011). Effect of drought stress on growth and accumulation of active constituents in *Salvia miltiorrhiza* Bunge. *Industrial Crops and Products*, 33(1), 84–88.
<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.09.006>
- Liu, Y., Deng, J., y Fan, D. (2019). Ginsenoside Rk3 ameliorates high-fat-diet/streptozocin induced type 2 diabetes mellitus in mice *via* the AMPK/Akt signaling pathway. *Food y Function*, 10(5), 2538–2551.
<https://doi.org/10.1039/C9FO00095J>
- Mahmoud, A. M., Ahmed, O. M., Ashour, M. B., y Abdel-Moneim, A. (2015). In vivo and in vitro antidiabetic effects of citrus flavonoids; a study on the mechanism of action. *International Journal of Diabetes in Developing Countries*, 35(3), 250–263. <https://doi.org/10.1007/s13410-014-0268-x>
- Marchese, J. A., Ferreira, J. F. S., Rehder, V. L. G., y Rodrigues, O. (2010). Water deficit effect on the accumulation of biomass and artemisinin in annual

- wormwood(*Artemisia annua* L., Asteraceae). *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 22(1), 1–9. <https://doi.org/10.1590/S1677-04202010000100001>
- Matsuura, N., Yamada, M., Suzuki, H., Hasegawa, N., Kurosaka, C., Ubukata, M., Tanaka, T., y Inuma, M. (2005). Inhibition of Preadipocyte Differentiation by Germacranolides from *Calea urticifolia* in 3T3-L1 Cells. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 69(12), 2470–2474. <https://doi.org/10.1271/bbb.69.2470>
- Medina, L. V., Hrapkiewicz, K., Tear, M., y Anderson, L. C. (2007). Fundamental Training for Individuals Involved in the Care and Use of Laboratory Animals: A Review and Update of the 1991 NRC Core Training Module. *ILAR Journal*, 48(2), 96–108. <https://doi.org/10.1093/ilar.48.2.96>
- Mohallem, R., y Aryal, U. K. (2020). Regulators of TNF α mediated insulin resistance elucidated by quantitative proteomics. *Scientific Reports*, 10(1), 20878. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-77914-1>
- Olefsky, J. M., y Glass, C. K. (2010). Macrophages, Inflammation, and Insulin Resistance. *Annual Review of Physiology*, 72(1), 219–246. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-021909-135846>
- Ouchi, N., Parker, J. L., Lugus, J. J., y Walsh, K. (2011). Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature Reviews Immunology*, 11(2), 85–97. <https://doi.org/10.1038/nri2921>
- Perez-Patiño, M. A. (2017). *Distribución Geográfica De Calea Urticifolia (Mill) Dc. Y Variación Del Efecto Biológico De Extractos Obtenidos De Distintas Poblaciones De La Huasteca Potosina*. Proyecto Integrador. Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma De San Luis Potosí.

- Prieur, X., Mok, C. Y. L., Velagapudi, V. R., Núñez, V., Fuentes, L., Montaner, D., Ishikawa, K., Camacho, A., Barbarroja, N., O’Rahilly, S., Sethi, J. K., Dopazo, J., Orešič, M., Ricote, M., y Vidal-Puig, A. (2011). Differential Lipid Partitioning Between Adipocytes and Tissue Macrophages Modulates Macrophage Lipotoxicity and M2/M1 Polarization in Obese Mice. *Diabetes*, 60(3), 797–809. <https://doi.org/10.2337/db10-0705>
- Roberts, C. K., Hevener, A. L., y Barnard, R. J. (2013). Metabolic Syndrome and Insulin Resistance: Underlying Causes and Modification by Exercise Training. En R. Terjung (Ed.), *Comprehensive Physiology* (p. c110062). John Wiley y Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110062>
- Scaffidi, C., Srdic, A., Konrad, D., y Wueest, S. (2023). IL-27 increases energy storage in white adipocytes by enhancing glucose uptake and fatty acid esterification. *Adipocyte*, 12(1), 2276346. <https://doi.org/10.1080/21623945.2023.2276346>
- Segura-Esparragoza, E. (2017). *Evaluación del efecto anti-inflamatorio del extracto acuoso liofilizado de Calea urticifolia MILL (D.C.) en un modelo in vivo de inflamación de bajo grado y su efecto genotóxico* [Tesis de Maestría, Universidad Autónoma De San Luis Potosí]. <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/3942>
- Shoelson, S. E. (2006). Inflammation and insulin resistance. *Journal of Clinical Investigation*, 116(7), 1793–1801. <https://doi.org/10.1172/JCI29069>
- Tilg, H., y Moschen, A. R. (2006). Adipocytokines: Mediators linking adipose tissue, inflammation and immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6(10), 772–783. <https://doi.org/10.1038/nri1937>

- Torres-Rodríguez, M. L. (2016)a. Anti-inflammatory and anti-oxidant effect of *Calea urticifolia* lyophilized aqueous extract on lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *Journal of Ethnopharmacology*, 188, 266–274.
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.04.057>
- Torres-Rodríguez, M. L., García-Chávez, E., Soto-Peña, G. A., Aradillas-García, C., y Cubillas-Tejeda, A. C. (2016)b. Evaluación de la toxicidad aguda in vivo del extracto etanólico y acuoso de *Calea urticifolia*. *Botanical Sciences*, 94(1), 133. <https://doi.org/10.17129/botsci.191>
- Wellen, K. E. (2005). Inflammation, stress, and diabetes. *Journal of Clinical Investigation*, 115(5), 1111–1119. <https://doi.org/10.1172/JCI200525102>
- Yamada, M., Matsuura, N., Suzuki, H., Kurosaka, C., Hasegawa, N., Ubukata, M., Tanaka, T., y Inuma, M. (2004). Germacranolides from *Calea urticifolia*. *Phytochemistry*, 65(23), 3107–3111.
<https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2004.08.040>
- Zermeño-Macías, Á. (2013). *Caracterización química de extractos orgánicos de Calea urticifolia (MILL) DC y bioensayo dirigido para determinar su actividad antiinflamatoria in vitro* [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma De San Luis Potosí.
- Zorov, D. B., Juhaszova, M., y Sollott, S. J. (2006). Mitochondrial ROS-induced ROS release: An update and review. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1757(5–6), 509–517.
<https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2006.04.029>

12. RESUMEN DEL REPORTE DE SIMILITUD

MECANISMOS MOLECULARES DEL EXTRACTO ACUOSO DE CALEA URTICIFOLIA Mill DC SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO IN VIVO E IN VITRO

INFORME DE ORIGINALIDAD

18%

ÍNDICE DE SIMILITUD

13. Anexos

13.1.1. Artículo

v. 3, n. 10, 2023

International Journal of Biological and Natural Sciences

EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF *CALEA URTICIFOLIA* (MILL) DC IN ADIPOCYTES 3T3-L1 INSULIN RESISTANCE

Rocio Janeth Gaytán-Esquivel

Posgrado en Ciencias Farmacobiológicas,
Facultad de Ciencias Químicas, Universidad
Autónoma de San Luis Potosí, México
ORCID 0009-0006-9372-7410

Gerson Alonso Soto-Peña

Laboratorio de Análisis Químicos y
Biológicos. Facultad de Ingeniería
Universidad Autónoma de San Luis Potosí,
México
ORCID 0000-0002-4804-4083

*Claudia Guadalupe Castillo Martín del
Campo*

Coordinación para la Innovación y
Aplicación de Ciencia y la Tecnología.
Universidad Autónoma de San Luis Potosí,
México
ORCID 0000-0003-0796-4980

Erika García-Chávez

Instituto de Investigación de Zonas
Desérticas. Universidad Autónoma de San
Luis Potosí, México
ORCID 0000-0001-7155-4121

All content in this magazine is
licensed under a Creative Com-
mons Attribution License. Attri-
bution-Non-Commercial-Non-
Derivatives 4.0 International (CC
BY-NC-ND 4.0).



14. CARTA DE ACEPTACIÓN DEL ARTÍCULO



DECLARAÇÃO DE PUBLICAÇÃO

A Atena Editora, especializada na publicação de livros, revistas internacionais e coletâneas de artigos científicos em todas as áreas do conhecimento, com sede na cidade de Ponta Grossa-PR, declara que após avaliação cega pelos pares, membros do nosso Conselho Editorial, o artigo intitulado "EFFECT OF THE AQUEOUS EXTRACT OF CALEA URTICIFOLIA (Mill) DC IN ADIPOCYTES 3T3-L1 INSULIN RESISTANCE.", de autoria de "Rocio Janeth Gaytán-Esquivel, Gerson Alonso Soto-Peña, Claudia Guadalupe Castillo Martín del Campo, Erika García-Chávez, foi aprovado e publicado na revista "International Journal of Biological and Natural Sciences (ISSN 2764-1813)", sob ISSN 2764-1813 e DOI 10.22533/at.ed.8133102307115.

Agradeço a escolha pela Atena Editora como meio de transmitir ao público científico e acadêmico o trabalho e parabeno os autores pela publicação.

Reitero protestos de mais elevada estima e consideração.

Ponta Grossa, 26 de março de 2024



Prof.^a Antonella Carvalho de Oliveira
Doutora em ensino de ciência e tecnologia
Editora Chefe
ATENA EDITORA
PREFIXO EDITORIAL ISBN 97865
PREFIXO EDITORIAL DOI 10.22533

Rua Antônio Rodrigues Teixeira Júnior,122
Ponta Grossa – PR
CEP: 84.015-490
contato@atenaeditora.com.br
www.atenaeditora.com.br

765b357d-a306-485d-8bd4-c3db2eaedeae

Verifique a declaração em: <https://atenaeditora.com.br/verificar-declaracao/>

15. GLOSARIO

3T3-L1	Línea celular de preadipocitos de <i>Mus musculus</i> obtenidos de embriones de ratón
Acetil CoA	Compuesta por un grupo acetilo y coenzima A, tiene una alta funcionalidad en el metabolismo celular, principalmente en la obtención de energía
Acido cafeoilquinico	Isómero del ácido clorogénico, está presente en alimentos y bebidas como el café y se caracteriza por una elevada capacidad antioxidante
Adipocina	Citocina secretada por el tejido adiposo
AKT	Enzima relacionada con el metabolismo de la glucosa, serine/threonine kinase Akt
Alcaloides	Grupo de metabolitos secundarios sintetizados en algunas plantas a partir de aminoácidos.
AMP	Adenosin mono fosfato
AP-1	Proteína activadora 1, factor de transcripción
Arteriosclerosis	Acumulación de placa de ateroma en las arterias.
ATP	Adenosin tri fosfato
Caleína	Germacronólido sesquiterpeno encontrado en plantas del género <i>Calea</i>
Comorbilidades	Enfermedades relacionadas a un padecimiento específico y que se desarrollan como efecto de esta.
CRP	Proteína C Reactiva
DE	Dieta estándar
DE+Ext	Dieta estándar y administración del extracto acuoso de <i>C. urticifolia</i>
DL50	Dosis letal media
DRG	Dieta rica en grasa
DRG+Ext	Dieta rica en grasa y administración del extracto acuoso de <i>C. urticifolia</i>
ERK	Enzima quinasa por sus siglas en inglés Extracellular-Signal-Regulated Kinase
Ex vivo	Tiene lugar fuera del organismo, experimentos realizados sobre tejidos que anteriormente pertenecían a un organismo completo.
Fitomedicamento	Medicamentos formulados a partir de extractos de plantas medicinales
Flavonoides	Metabolito secundario de las plantas con una base de tres anillos de carbonos C6-C3-C6
Germacronolidos	Grupo de compuestos químicos derivados de las lactonas sesquiterpénicas
GHS	Proteína a base de glicina, histidina y serina.
Gluconeogenesis	Ruta metabólica para la obtención biosintética de glucosa
GLUT-4	Transportador de glucosa tipo 4
Grb2	Proteína 2 unida al receptor del factor de crecimiento
Heiangólidos	Compuestos orgánicos derivados del isoeugenol
Hiperglucemia	Aumento de glucosa en sangre
Hipertrigliceridemia	Aumento de triglicéridos en sangre
Homeostasis	Estado de equilibrio
ICBG	Estado de inflamación crónica de bajo grado
Ikkb	Proteína inhibidora de la subunidad beta de la quinasa kappa-B del factor nuclear
IL-1B	Interleucina 1B
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
In vitro	Ensayo realizado en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo

In vivo	Ensayo realizado en un organismo vivo
Insulina	Proteína encargada de regular el metabolismo de la glucosa
IRS	Sustrato del receptor de insulina
Isoeugenol	Fenilpropeno, metabolito encontrado en algunas plantas derivado de un propenil con sustituciones en grupos funcionales.
Isoflorano	Éter halogenado utilizado como anestésico.
JNK	Proteína de activación bajo estrés.
Lactonas	Compuesto orgánico tipo éster cíclico.
Lipólisis	Proceso catabólico para la movilización de lípidos
Lipotoxicidad	Efectos deletéreos del exceso de ácidos grasos y su acumulación
LPS	Lipopolisacárido
Macrófago M1	Macrófagos relacionados con el inicio de la inflamación
Macrófago M2	Macrófagos activados relacionados la actividad inflamatoria
MB	Medio basal
MBI	Medio basal con insulina
MBRI	Medio basal con TNF-a para la generación de resistencia a la insulina
MCP-1	Proteína quimioatrayente de monocitos 1
Nf-kB	Complejo proteico que controla la síntesis de ADN
NK	Célula natural killer
OCDE	Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico
PBS	Buffer de fosfatos
Peptídica	Que cuenta con una relación proteínica, unión tipo amida entre el grupo amino y carboxilo de dos aminoácidos
PFA	Para formaldehído
PI3K	Fosfoinositol 3 kinasa
PPAR γ	Receptor nuclear peroxisoma-proliferador-activado gamma
RI	Resistencia a la insulina
Saponinas	Heterósido con una parte glucídica y otra no glucídica esteroide o triterpénico.
Shc	Familia de proteínas por sus siglas en inglés e Src homology and Collagen
SOS	Conjunto de genes que codifican factores de intercambio de nucleótidos de guanina que actúan sobre la subfamilia Ras de pequeñas GTPasas
Th1	Linfocito colaborador tipo 1
TLR-4	Receptor tipo toll 4
TNF-a	Factor de necrosis tumoral alfa
Triterpenos	Terpenos con 30 átomos de carbón
WAT	Tejido adiposo blanco