



ESCRUTINIO DE ACTIVIDADES TIPO INSULINA EN PLANTAS MEXICANAS USADAS COMO ANTIDIABÉTICOS

Angel Josabad Alonso Castro, Luis Antonio Salazar Olivo

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, División de Biología Molecular. Camino a la Presa San José 2055. Lomas 4a sección. San Luís Potosí SLP, CP. 78216 Fax (444) 834 2010, olivo@ipicyt.edu.mx

Palabras clave: extractos vegetales, actividad insulino-mimética, adipogénesis.

Introducción. La Diabetes mellitus (DM) afecta a más de 120 millones de personas en el mundo y en México es la principal causa de muerte en mujeres y la segunda en hombres (1). Los hipoglucemiantes orales en uso, tiazolidinedionas, sulfonilureas y bioguanidas, presentan múltiples efectos adversos como alteraciones gastrointestinales, hepatotoxicidad y aumento de peso (2). El impacto de la DM en la calidad de vida y la falta de recursos económicos induce a muchos pacientes a buscar terapias alternativas. La medicina tradicional mexicana atribuye propiedades hipoglucemiantes a numerosas especies vegetales. Sin embargo, existen pocos estudios controlados sobre el uso de plantas como antidiabéticos y son escasos los reportes que elucidan la(s) molécula(s) responsable(s) de su actividad hipoglucemiante y sus mecanismos de acción.

Para determinar la presencia de actividades tipo insulina en plantas usadas en el tratamiento de la DM, evaluamos los efectos de 15 extractos vegetales acuosos sobre la diferenciación adiposa de los preadipocitos 3T3-F442A, un proceso altamente sensible a insulina.

Metodología.

Material vegetal. Se colectaron plantas usadas tradicionalmente como antidiabéticos en distintas localidades del estado de SLP durante abril-junio de 2006. Las plantas se secaron al abrigo de la luz, se molieron y se extrajeron por decocción en agua bidestilada estéril usando un sistema Soxhlet. Los extractos se centrifugaron y los sobrenadantes se liofilizaron. Se obtuvieron 15 extractos referidos como EA01 a EA15, los cuales se reconstituyeron en el medio de cultivo y se esterilizaron por filtración para su uso en los bioensayos. Todos los experimentos se realizaron al menos dos veces en tratamientos por triplicado.

Determinación de concentraciones no tóxicas de los extractos sobre células 3T3. Preadipocitos 3T3-F442A (1×10^4 células/pozo) se inocularon en placas de 24 pozos con medio basal (MB; medio de Eagle modificado por Dulbecco [DMEM] con 7 % de suero de ternera). Luego de dos días, los cultivos recibieron MB con distintas concentraciones de los extractos. La viabilidad celular se evaluó mediante recuentos celulares en hematómetro.

Efectos adipogénicos de los extractos vegetales. Los preadipocitos se inocularon como se describe arriba y después de dos días recibieron medio adipogénico (MA-I⁺; DMEM con 10% suero fetal bovino, 5 µg/mL de insulina y 1 µM biotina) con concentraciones inocuas de los extractos. Cultivos paralelos se alimentaron con medio no adipogénico (3) como control negativo. Después de 7 días, la

acumulación lipídica se cuantificó por la tinción de lípidos intracelulares con rojo oleoso O (4).

Evaluación de actividades tipo insulina en los extractos vegetales. Células 3T3-F442A se indujeron a diferenciación con MA-I⁺. Cultivos paralelos recibieron MA carente de insulina (MA-I⁻) y concentraciones no tóxicas de los extractos. Después de nueve días, la presencia de actividades tipo insulina se determinó cuantificando la acumulación lipídica en los diferentes tratamientos (4).

Resultados y discusión. Cuatro de los extractos obtenidos ejercieron un claro efecto adipogénico sobre las células 3T3-F442A; los extractos EA03, EA04, EA09 y EA15 indujeron incrementos en la acumulación lipídica de 2.8, 2.5, 1.6 y 0.8 veces, respectivamente, en comparación con el control (MA-I⁺ sin extractos). Por el contrario, los extractos EA10 y EA11 presentaron un efecto antiadipogénico superior al 85%, en tanto que los nueve extractos restantes no afectaron la adipogénesis. Cuando se ensayaron en MA-I⁻, 14 de los 15 extractos estudiados reemplazaron en diverso grado los efectos de la insulina. Los extractos EA09, EA13 y EA14 estimularon la acumulación lipídica de las células 3T3-F442A en 151, 132 y 108 veces con respecto al control (MA-I⁻ sin extractos). El extracto EA01 careció de efectos tipo insulina mientras que los 11 extractos restantes estimularon la acumulación lipídica entre 10 y 70 veces respecto al control (MA-I⁻).

Conclusiones. Nuestros resultados sugieren la presencia de potentes actividades tipo insulina en EA 09, 13 y 14, de señales adipogénicas (EA03, 04, 09 y 15) y antiadipogénicas (EA 10 y 11). Actualmente, caracterizamos el efecto de estos extractos sobre la incorporación de glucosa por células 3T3-F442A y exploramos sus mecanismos de acción.

Agradecimiento. Este trabajo fue parcialmente financiado por los Fondos Mixtos SLP (SLP-2005-C01-45). AJAC agradece al CONACYT por la beca de maestría (reg 210841)

Bibliografía.

1. Rull, J, Aguilar-Salinas, C y otros. (2005). Epidemiology of type 2 diabetes in Mexico. *Arch. Med. Res.* 36(3):188-96.
2. Spiller, H, y Sawyer, T. (2006). Toxicology of oral antidiabetic medications. *Am. J. Health Syst. Pharm.* 63: 929 -38.
3. Kuri-Harcuch W, Wise L y Green, H. (1978). Interruption of adipose conversion of 3T3 cells by biotin deficiency *Cell.*4:53-9.
4. Ramírez-Zacarías, J, Castro-Muñozledo, F y Kuri-Harcuch W. (1992). Quantitation of adipose conversion and tryglicerides by staining intracytoplasmatic lipids. *Histochemistry* 197: 493-7.