



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**EFFECTO DEL GEL DE *Aloe vera* SOBRE LA RESISTENCIA
A LA INSULINA EN UN MODELO MURINO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presenta:

M. en C. YOLANDA YAMILA PÉREZ TERÁN

Directores:

DR. RUBÉN ROMÁN RAMOS

DR. JAIME TORTORIELLO GARCÍA

Asesor:

DR. FRANCISCO J. ALARCÓN AGUILAR

MÉXICO, D.F.

ENERO 2008

COMITÉ TUTORAL

DIRECTORES DE TESIS

DR. RUBÉN ROMÁN RAMOS

Profesor Titular, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II

DR. JAIME TORTORIELLO GARCÍA

Investigador Titular, CIBIS, IMSS
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel II

ASESOR

DR. FRANCISCO JAVIER ALARCÓN AGUILAR

Profesor Titular, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa
Miembro del Sistema Nacional de Investigadores, Nivel I

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de las Unidades Iztapalapa y Xochimilco aprobó la Tesis que presentó:

M. en C. YOLANDA YAMILA PÉREZ TERÁN


El día 22 de enero de 2008

Sinodales:

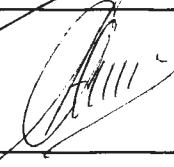
Dr. Rubén Román Ramos (Presidente)



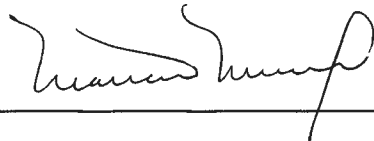
Dr. Jaime Tortoriello García (Secretario)



Dr. Francisco Javier Alarcón Aguilar (Vocal)



Dra. Mariana Meckes Fischer (Vocal)



Dra. María Adelina Jiménez Arellanes (Vocal)



El Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana pertenece al Padrón de Posgrados de Excelencia del CONACYT y cuenta con el apoyo del mismo Consejo, con el convenio PFP-20-93

La alumna del Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma Metropolitana, Yolanda Yamila Pérez Terán, recibió beca del CONACYT de septiembre de 2002 a agosto de 2006. Registro No. 172486

La presente investigación se realizó en:

Laboratorio de Farmacología del Centro de Investigación Biomédica del Sur
del Instituto Mexicano del Seguro Social, Xochitepec, Morelos.

Laboratorio de Farmacología del Departamento de Ciencias de la Salud,
División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Unidad Iztapalapa.

*Dedico el esfuerzo y la alegría que me
representa este trabajo:*

*A Florencio, porque hemos compartido
mucho más que esfuerzos y alegrías.*

*A Lucía y a Saíd, porque son el motivo
de casi todo lo que soy.*

Agradecimientos:

Me es prácticamente imposible anotar a todos los que han colaborado conmigo en el desarrollo de mi trabajo, por eso deseo disculparme con aquellos cuyos nombres no aparecen, pero en verdad he recibido tanto apoyo y afecto que las páginas en esta tesis no alcanzarían. Por otro lado, me temo que es el último trabajo de esta envergadura que yo escribo..., así que, por favor siéntanse todos incluidos

Agradezco:

A mi familia: Gabriel, July, Ale, David, Yolanda, Agustín y Bica, con sus respectivas parejas e hijos

A TODOS mis compañeros del CIBIS, especialmente a aquellos que han sido mis amigos y cómplices: Carol, Lucky, Gaby, Maira, Maribel, Enrique y Ale

También agradezco a todos los que me han enseñado, particularmente a los Dres. Jaime Tortoriello, Rubén Román y Marcelino Hernández

"La forma más segura de ser es haber sido..." Viktor Frankl. Por eso deseo recordar a los que no están físicamente conmigo, pero que sin duda me acompañan y están grabados en mi corazón: Aurora Rodríguez, Saúl Martínez, Don Oscar y Lalo Aranda

A todas esas mujeres valientes, inteligentes, bellas y sabias que han tocado mi vida, son tantas que la lista amenaza con salirse de control, algunas ya han sido anotadas; sin embargo, no pueden faltar las que en momentos de alegría o desesperación, son y serán un refugio seguro: Aurora Dorantes, Rosi Álvarez, Paty Ortiz, Sonia Contreras, Mary Carmen Sandoval, Lucrecia Barrera, Lulú Román...

... El sistema de almacenamiento de energía es indispensable para la sobrevivencia de los organismos multicelulares...; y se encuentra representado por la antigua y poderosa vía anabólica de la señalización de la insulina...

Wellen y Hotamisligil

ÍNDICE

	Pag.
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
Abreviaturas Utilizadas	v
RESUMEN	7
SUMMARY	8
ANTECEDENTES	
RESISTENCIA A LA INSULINA	9
Etiología	10
Desnutrición intrauterina	10
Fisiopatología	11
Diabetes mellitus tipo 2	14
Obesidad	15
Dislipidemias	18
Aterosclerosis	20
Inflamación	21
Hipertensión arterial	23
Tratamiento	25
<i>Aloe vera</i>	27
Aspectos botánicos	27
Compuestos químicos	31
Aspectos etnomédicos	33
<i>Aloe vera</i> en diabetes mellitus tipo 2	33
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	36
Pregunta de investigación	37
JUSTIFICACIÓN	38
HIPÓTESIS	40

OBJETIVOS	
General	41
Específicos	41
MATERIAL Y MÉTODOS	
Material vegetal	43
Preparación del extracto de gel de <i>A. vera</i> enriquecido en polifenoles	43
Cuantificación de antraquinonas	44
Animales	45
Inducción experimental de la resistencia a la insulina	45
Selección de ratones resistentes a la insulina	46
Procedimiento experimental	47
Reactivos	48
Fórmulas	48
Procedimientos de análisis bioquímicos	49
Análisis estadístico	50
RESULTADOS	
Inducción experimental de resistencia a la insulina	51
Cantidad de antraquinonas en el AvEP	53
Peso corporal e ingesta de alimentos	54
Curva de tolerancia a la insulina	55
Glucosa e insulina plasmática	56
HOMA-IR y HOMA- β	57
DISCUSIÓN	58
CONCLUSIONES	63
PERSPECTIVAS	64
REFERENCIAS	66
ARTÍCULO	77

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	29
Clasificación taxonómica de <i>A. vera</i>	
Tabla 2.	53
Efecto de los diferentes tratamientos en el peso corporal de ratones resistentes a la insulina	
Tabla 3.	54
Efecto de los diferentes tratamientos en la ingesta de alimento	
Tabla 4.	56
Efecto de los diferentes tratamientos sobre la glucosa, insulina y los valores de HOMA-IR y HOMA- β en ratones insulino-resistentes	

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.	28
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.	
Figura 2.	30
Corte transversal de una hoja de <i>A. vera</i>	
Figura 3.	30
Flores de <i>A. vera</i>	
Figura 4.	31
“Jugo” de <i>A. vera</i>	
Figura 5.	32
Gel de <i>A. vera</i>	
Figura 6.	52
A. Curva de tolerancia a la glucosa en ratones con bajo peso al nacimiento y sus controles a los 6 meses de edad	
B. Curva de tolerancia a la insulina en ratones con bajo peso al nacimiento y sus controles a los 6 meses de edad	
Figura 7.	55
Efecto de los diferentes tratamientos sobre la CTI en ratones resistentes a la insulina	

Abreviaturas utilizadas:

AngII	Angiotensina II.
Apo B	Apolipoproteína B
AT1	Receptor tipo 1 de la angiotensina II
AT2	Receptor tipo 2 de la angiotensina II
AvEP	Gel de <i>A. vera</i> enriquecido en polifenoles
CTG	Curvas de tolerancia a la glucosa
CTI	Curvas de tolerancia a la insulina
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
ECA	Enzima convertidora de angiotensina
GLUT	Transportador transmembrana de glucosa
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HOMA	Homeostasis model assessment
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
Hs PCR	Proteína C reactiva de alta sensibilidad
IGF-1	Factor de crecimiento semejante a la insulina-1
IL-6	Interleucina 6
LDL	Lipoproteínas de baja de densidad
LPL	Lipoprotein lipasa
MAP-k	Proteína cinasa activada por mitógenos
MLV	Músculo liso vascular
NO	Óxido nítrico
NOS	Sintasa del óxido nítrico
PI3-k	Fosfatidil inositol 3 - cinasa
PPAR	Receptor activador de proliferación de peroxisomas

RI	Resistencia a la insulina
SRI	Sustrato del receptor de la insulina
TG	Triglicéridos
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

EFFECTO DEL GEL DE *ALOE VERA* SOBRE LA RESISTENCIA A LA INSULINA EN UN MODELO MURINO

Introducción: La resistencia a la insulina (RI) se define como una disminución en la respuesta biológica a la acción de la insulina. Es una patología ampliamente distribuida en el mundo que precede a la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y se asocia con todas las patologías que conforman el síndrome metabólico. Su tratamiento es una de las principales metas para la medicina actual. *Aloe vera* se utiliza con fines curativos hace miles de años. Sus efectos inmunomodulador e hipoglucémico en DM2 se han comprobado científicamente, pero nunca se ha estudiado su influencia sobre la RI.

Objetivo: El propósito de este trabajo fue investigar el efecto de un extracto de gel de *Aloe vera* enriquecido en polifenoles (AvEP) sobre la RI inducida experimentalmente por desnutrición intrauterina y bajo peso al nacimiento en ratones ICR.

Material y Métodos: Para la inducción experimental de la RI se restringió en 50% el consumo de alimento a hembras preñadas, a partir del 12° día de gestación, con lo cual se obtuvieron crías con bajo peso al nacimiento y proclividad a la RI en la vida adulta. A los 6 meses de edad los ratones que disminuyeron $\leq 30\%$ los niveles de glucosa, en las curvas de tolerancia a la insulina (CTI), fueron considerados insulino-resistentes y seleccionados para el estudio. Se obtuvieron 25 machos con RI, que fueron asignados aleatoriamente a uno de tres tratamientos: i) Control: agua bidestilada ($n = 9$); ii) Control positivo: Pioglitazona, 50 mg/kg ($n = 8$); y iii) Experimental: AvEP, 350 mg/kg ($n = 8$), administrados diariamente, vía intragástrica, durante 4 semanas. Se midió el peso corporal y el consumo de alimento por semana, las concentraciones de glucosa e insulina plasmática y CTI, al inicio y al final del tratamiento. También se calcularon los valores de HOMA-IR y HOMA- β .

Resultados: El AvEP disminuyó el peso corporal ($p < 0.008$), los niveles de glucosa ($p < 0.005$) y protegió a los animales contra el deterioro que se observó en los resultados de HOMA-IR en el grupo control ($p < 0.05$). En la CTI el grupo control presentó los niveles más altos de glucosa, comparados con los ratones tratados con AvEP y pioglitazona ($p < 0.05$). El AvEP elevó los valores de HOMA- β en dos y tres veces más comparado con los grupos control y pioglitazona, respectivamente ($p < 0.005$). En conclusión, el AvEP disminuye la glucemia y el deterioro en el metabolismo de la glucosa producido por la RI.

Palabras Clave: Resistencia a la Insulina; Gel de *Aloe vera*; Aloin A; Aloe-emodin.

SUMMARY

EFFECT OF *ALOE VERA* GEL EXTRACT ON INSULIN RESISTANCE IN A MURINE MODEL

Introduction: Insulin resistance (IR) is defined as an impaired biological response to the action of insulin. Insulin resistance, which precedes type 2 diabetes mellitus, is a widespread pathology associated with all features of the metabolic syndrome. Finding an adequate treatment for this pathology is an important goal in medicine. *Aloe vera* has been used for healing purposes for thousands of years, because of its immunomodulatory and hypoglycemic effects. In spite of the fact that *Aloe vera* actions have been scientifically proven, this plant has never been studied on IR.

Objective: The purpose of the present research was to investigate the effect of an extract from *Aloe vera* gel containing a high concentration of polyphenols (PEAv) on experimentally induced insulin resistance by intrauterine malnutrition and low birth weight in ICR mice.

Materials and Methods: Experimental IR was induced with 50% restriction in food intake in pregnant females from the twelfth day of gestation, this resulted in pups with low birth weight and IR tendency in adult life. At the age of six months, insulin tolerance curve tests (ITC) were performed, the mice that diminished their plasmatic glucose levels in 30% or less, were considered insulin-resistant and selected for the experiment. The 25 male mice with IR, were randomly distributed to one of three treatments: i) Control group: bidistilled water ($n = 9$); ii) Positive control: Pioglitazone, 50 mg/kg ($n = 8$); and iii) Experimental group: PEA_v, 350 mg/kg ($n = 8$). The treatment was daily administered, intragastric via, for 4 weeks. Body weight and food intake by week, plasma concentrations of insulin and glucose were measured, also ITC tests were performed at the beginning and in the end. The values of HOMA-IR and HOMA- β were calculated.

Results: PEA_v was able to decrease body weight ($p < 0.008$) and blood glucose levels ($p < 0.005$). In addition, the PEA_v extract protected the animals against unfavorable results on HOMA-IR, which was observed in the control group ($p < 0.05$). The highest glucose levels during the ITC test were observed in the control group when compared to the PEA_v extract and pioglitazone treated mice ($p < 0.05$). The HOMA- β values were two and three times higher in the PEA_v group than in pioglitazone and control groups respectively ($p < 0.005$). In conclusion, PEA_v diminished plasmatic glucose levels and protected mice from metabolic impairment due to IR.

Keywords: Insulin resistance; *Aloe vera* gel; Aloin A; Aloe-emodin.

ANTECEDENTES

RESISTENCIA A LA INSULINA

La resistencia a la insulina (RI) es un proceso bioquímico-molecular que se caracteriza por una menor eficiencia biológica de esta hormona para actuar sobre sus diversos órganos blanco (ADA, 1998).

El concepto de RI fue descrito por Himsworth en 1936, quien propuso que la disfunción característica en muchos diabéticos era la disminución de la sensibilidad a la insulina y no la deficiencia de ella (Saltiel, 2000). Sin embargo, esta hipótesis no fue considerada seriamente hasta los 60's, cuando se demostró que los pacientes con diabetes tipo 2 presentan mayores niveles de insulina circulante que las personas sanas (Saltiel, 2000). Posteriormente, a fines de la década de los 80's, Reaven (1988) propuso que la RI es el sustrato fisiopatológico sobre el cual se desarrolla el Síndrome Metabólico.

La RI es un fenómeno muy complejo (Pessin, 2000), cuyas causas y efectos aún están lejos de ser bien comprendidos (Nigro et al., 2006); se encuentra asociado a diferentes alteraciones metabólicas y enfermedades, que incluyen: obesidad (Karter, 1996), hiperinsulinemia (Weyer, 1999), dislipidemias (Goff, 2000), cáncer (Facchini et al., 2001) y un estado

proinflamatorio (Shoelson et al., 2006), entre otros. Se calcula que entre el 83 y 96% de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) son insulino-resistentes (Ferrannini, 1998). Además, el 84% de las personas con hipertrigliceridemia, 88% de los que presentan colesterol HDL bajo, 62.8% de los pacientes con hiperuricemia y el 58% de los hipertensos padecen de RI (Bonora et al., 1998).

ETIOLOGÍA

Aunque no se conoce la etiología de la RI, se han encontrado algunos factores predisponentes, como son: bajo peso al nacimiento, modificación en los hábitos dietéticos tradicionales (migrantes), y la vida sedentaria (WHO, 2003). Actualmente se considera que el estado de RI es producto de la interacción de factores genéticos y factores ambientales, como la obesidad (Khan y Flier, 2000).

Desnutrición intrauterina y resistencia a la insulina

Barker y colaboradores (1993) descubrieron la asociación entre la desnutrición fetal y la manifestación de algunas enfermedades en la vida adulta. Desde entonces, se han llevado a cabo varios estudios epidemiológicos en diferentes poblaciones del mundo (Ozanne, 1999), que han confirmado la asociación entre el bajo peso al nacimiento y un mayor

riesgo de RI, intolerancia a la glucosa y desarrollo de DM2 en la etapa adulta (Lindsay, 1996).

Una posible explicación de estos hechos es la hipótesis del fenotipo economizador (Hales, 1992), la cual propone que las adaptaciones fetales al ambiente intrauterino adverso y que reducen el crecimiento fetal, producen cambios en la organogénesis, tales como disminución en la capacidad de secreción de insulina y resistencia a la misma (Hales, 1997).

Los experimentos en modelos animales para comprobar la asociación entre la desnutrición fetal y el desarrollo de RI y DM2 en la vida adulta han sido muy consistentes con los conceptos propuestos para los humanos (Ozanne, 1999). En ratones con antecedente de bajo peso al nacimiento por desnutrición intrauterina, se ha comprobado el desarrollo de obesidad y RI, a los seis meses de edad (Hernández-Valencia, 2005).

FISIOPATOLOGÍA

Descubierta por Banting y Best en 1922, la insulina es una hormona anabólica producida en las células insulares β del páncreas. A pesar de los periodos de digestión y ayuno, la concentración plasmática se mantiene constante entre 4 y 7 mmol/L (5-20 μ U/mL) en individuos sanos (Weyer et al.,

2000). El papel fisiológico de la insulina es muy amplio e incluye el metabolismo de los tres macronutrientes (carbohidratos, lípidos y proteínas), así como el crecimiento celular (Yu y Ginsberg, 2005).

Una vez que la insulina es secretada a la circulación general, llega a todos los tejidos que contienen receptores para ella. El receptor de la insulina es una proteína (tirosin cinasa) transmembranal, expresada como un tetrámero, con dos cadenas α y dos β . La hormona se une, con alta afinidad, a regiones específicas de la subunidad α , iniciando así la autofosforilación del receptor y el cambio conformacional requerido para la activación de los diferentes sustratos del receptor (Roith y Zick, 2001). Actualmente se conocen cuatro sustratos del receptor de insulina: SRI-1 (músculo), SRI-2 (hígado, tejido adiposo y músculo) (Saltiel y Khan, 2001), SRI-3 y SRI-4 (Sykietis y Papavassiliou, 2001). Los sustratos del receptor dan continuidad a la cascada intracelular en las vías de señalización, de las que existen dos principales: i) La vía de la MAP-k (proteína cinasa activada por mitógenos) que interviene en la regulación de la mitosis y la expresión génica, estimulando el crecimiento y la diferenciación celular; ii) La vía del PI3-k (fosfatidil inositol 3-kinase) a través de la cual la insulina ejerce sus efectos antilipólisis, antiapoptosis, aumento de la síntesis de proteínas y de glucógeno (Roith y Zick, 2001) y la expresión del receptor activador de proliferación de peroxisomas-gamma (PPAR- γ) en tejido adiposo (Alemán et

al., 2004). Además, activa a las proteínas transportadoras de glucosa (Roith y Zick, 2001), las cuales facilitan la difusión de este monosacárido hacia el interior de la célula.

Los transportadores de glucosa son proteínas transmembranales conocidas como GLUT y se han descrito cinco hasta la fecha (GLUT1 a GLUT5). El movimiento intracelular del GLUT se inicia al terminar la activación de toda la vía de señalización de la insulina, con la unión y fusión de esta proteína a la membrana celular. Por lo tanto, las GLUT son las mediadoras finales del empleo de glucosa estimulada por la insulina bajo circunstancias normales (Hernández-Valencia, 2006).

Debido a que la señalización de la insulina involucra la activación de múltiples vías de comunicación intracelular, la modificación estructural o funcional, en cualquiera de las proteínas participantes, desde el receptor hasta el GLUT, puede llevar a la RI (Hernández-Valencia M, 2006). La hiperinsulinemia aparece como consecuencia de la RI; es un hecho que las personas resistentes a la insulina y algunos pacientes con DM2, tienen mayores niveles de insulina circulante (Weyer et al., 2000; Nigro et al., 2006). Finalmente, la importancia de esta patología se refleja en su reconocimiento como piedra angular del Síndrome Metabólico o Síndrome de Resistencia a la insulina (Nigro et al., 2006).

El espectro de alteraciones metabólicas asociadas con RI se extiende mucho más allá de la hiperglucemia, a continuación se describen las interrelaciones que esta alteración metabólica guarda con las principales enfermedades crónico degenerativas y sus factores predisponentes.

Diabetes mellitus tipo 2

Se calcula que para el año 2030 habrá en el mundo 366 millones de personas con DM2 (Wild et al, 2004). Actualmente, en México, alrededor de 7% de la población entre 20 y 69 años padece esta enfermedad; sin embargo, en mayores de 50 años la prevalencia asciende a 16% (Olaiz-Fernández et al., 2006).

Se sabe que la RI precede y predice a la DM2 (Shulman, 2004). De hecho, en muchos pacientes la RI puede detectarse 10 a 20 años antes de la aparición de la enfermedad (Warram, 1990). Probablemente ésta es la causa de la presencia de complicaciones “tardías” al momento del diagnóstico en pacientes con DM2 (Matthaei et al., 2000).

Varios estudios epidemiológicos prospectivos en grandes grupos de población indican que la DM2 progresa por una disminución continua en la acción de la insulina (Weyer, 1999). La carencia de señalización de la insulina disminuye el transporte de glucosa en los tejidos periféricos, tales

como el músculo esquelético y la grasa e incrementa la producción endógena de glucosa por el hígado. La elevación de glucosa en el plasma es compensada por las células β del páncreas, las cuales compensan este defecto incrementando la secreción de insulina (hiperinsulinemia). Con la estimulación continua de secreción de insulina causada por la RI periférica, la célula β se hipertrofia y con el tiempo falla, presentándose entonces la intolerancia a la glucosa (Birnbaum, 2001) y, posteriormente, DM2 (Semenkovich, 2006).

La hiperinsulinemia y la alteración en la respuesta pancreática al estímulo glucémico, donde la secreción de insulina se encuentra disminuida en la primera fase y elevada en la segunda y tercera, también se consideran factores asociados y predictores importantes de DM2 (Weyer, 1999).

Obesidad

En los adolescentes de Estados Unidos de América la obesidad representa el factor de riesgo más importante para RI, independientemente del sexo, edad y raza (Lee et al., 2006). Lo mismo ocurre en países de Europa (Viner et al., 2005) y Asia (Sung et al., 2003), de donde se desprende que existe una fuerte relación entre ambas patologías.

El tejido adiposo es altamente sensible a los efectos de la insulina, la cual, en condiciones normales favorece el transporte de glucosa hacia los adipocitos (Kahn y Flier, 2000), origina hidrólisis de triglicéridos circulantes y promueve la producción y acción de lipoprotein-lipasa (LPL) en el tejido graso, más que en el músculo estriado (Fielding y Frayn, 1998). El efecto final de la insulina en el tejido adiposo es la esterificación de ácidos grasos libres a triglicéridos, para su captación y almacenamiento por los adipocitos; mientras que, en los pacientes obesos la producción de ácidos grasos libres aumenta, produciendo elevación de las concentraciones intracelulares de los mismos (Wellen y Hotamisligil, 2005). Como consecuencia, el músculo utiliza más grasa y menos glucosa como fuente energética, originando disminución en la captación y utilización periférica de esta última. Además, el incremento de los ácidos grasos intracelulares en el miocito daña las vías de señalización de la insulina a nivel del SRI-1 y PI3-k (Dresner et al., 1999). Todo lo anterior condiciona a RI e hiperinsulinismo secundario (Boden y Laakso, 2004).

La resistencia a la acción antilipolítica de la insulina en el tejido adiposo resulta en liberación excesiva de ácidos grasos y glicerol, los cuales sirven como sustrato para la gluconeogénesis (Nurjhan et al., 1992) y en consecuencia, un incremento de la producción endógena de glucosa (Foley, 1992) por el hígado (Boden et al., 2002). Además, debido a la hiperinsulinemia, aumenta la acción de la LPL en el hígado y músculo

esquelético (Yost et al., 1995), lo que condiciona el incremento intracelular de ácidos grasos y el subsecuente desarrollo de RI en estos tejidos (Boden et al., 2002).

El hiperinsulinismo crónico disminuye el número de receptores a la insulina en todos los órganos blanco, pero principalmente en los tejidos adiposo y muscular. También aumenta la expresión del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Hotamisligil et al., 1995) e interleucina 6 (IL-6) en los adipocitos (Kern et al., 2001). Ambos han sido relacionados con la RI.

Además, el tejido graso produce varias sustancias (adipocinas) que intervienen en el efecto de la insulina. La leptina es secretada en proporción directa a la cantidad de grasa corporal (Considine et al., 1996). En el músculo regula la oxidación de glucosa y ácidos grasos (Muoio et al., 1997), así como la actividad de varios SRI (Szanto y Kahn, 2000). Además, disminuye la lipogénesis tanto en hígado como en tejido graso (Cohen et al., 1996).

La adiponectina, cuya concentración sérica es inversamente proporcional a la RI y los niveles de TNF- α (Hoffstedt et al, 2004), controla la utilización de glucosa y la oxidación de ácidos grasos (Yamauchi et al, 2003), e inhibe la lipogénesis en músculo esquelético e hígado (Xu et al, 2003). Su

administración revierte la RI hepática (Berg et al., 2001) y sistémica en los estados de obesidad (Yamauchi et al., 2001).

La resistina, secretada durante la maduración de los preadipocitos, produce hiperglucemia y RI (Steppan et al., 2001).

Dislipidemias

El patrón más común de dislipidemia en la RI es la elevación de triglicéridos (TG) (Sheu et al, 1993) y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (Boden y Laakso, 2004), con disminución de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Teno, 2000).

La insulina es el principal regulador de la síntesis y actividad de la LPL, esta enzima es la encargada de hidrolizar los TG de las lipoproteínas circulantes, que una vez convertidos a ácidos grasos, son captados por el tejido adiposo. Además, la LPL estimula la expresión de enzimas lipogénicas intracelulares, para el almacenamiento de los ácidos grasos en forma de TG (Yi-Hao y Ginsberg, 2005). La LPL también regula negativamente a la apolipoproteína B (ApoB), disminuyendo su secreción y estimulando su degradación (Fisher y Ginsberg, 2002).

Durante la RI disminuye la actividad de la LPL, ocasionando el aumento en los ácidos grasos circulantes por supresión de la lipólisis de TG y decremento en su captación y almacenamiento por los adipocitos (Foley, 1992). La provisión aumentada de lípidos incrementa la producción y secreción de TG en el hígado, lo que, aunado a la estabilización de la ApoB, mejora el ensamble y liberación de partículas VLDL (Fisher y Ginsberg, 2002). Entonces, el exceso de ácidos grasos y la limitada degradación de la ApoB, explican la hipertrigliceridemia característica de la RI (Yi-Hao y Ginsberg, 2005).

El incremento en las concentraciones de triglicéridos ricos en partículas VLDL contribuye al metabolismo anormal de las HDL en la RI (Ginsberg, 2006). El cambio de ésteres de colesterol de las HDL por triglicéridos de las VLDL, resulta en VLDL enriquecidos en colesterol y HDL enriquecidos con triglicéridos. Lo anterior, hace a las partículas de HDL un mejor sustrato para la lipasa hepática, la cual puede estar incrementada en la RI; por lo que las HDL disminuyen, debido a su catabolismo aumentado (Semenkovich, 2006).

Por otro lado, el incremento de ácidos grasos causa RI en hígado y músculo esquelético (Samuel et al, 2004), con lo cual se cierra el círculo vicioso de RI y alteración metabólica de lípidos.

Atherosclerosis

Los factores específicos que desencadenan la aterosclerosis aún no han sido definidos totalmente, pero existe mucha evidencia que implica al endotelio vascular como un tejido blanco de la insulina. Además, la disfunción endotelial es uno de los primeros signos detectables de la RI (Nigro et al., 2006).

En condiciones normales, la insulina, vía de PI3-k, media la migración de células endoteliales (Liu W et al., 2001) y, vía MAP-k, regula la angiogénesis (Kubota et al., 2003). También incrementa la expresión y actividad de la sintasa de óxido nítrico (NOS) (Kuboki et al., 2000), a través de la cual, promueve la vasodilatación e inhibe la proliferación de células del músculo liso vascular (MLV) (Nigro et al., 2006). Asimismo, la señalización de la insulina ejerce efectos protectores sobre los vasos, modulando la respuesta al daño vascular (Kubota et al., 2003).

Durante la RI hay disfunción endotelial por: i) disminución en la respuesta de vasodilatación (Quiñones et al., 2004); ii) incremento en la migración de células del MLV; y iii) aumento en la expresión de moléculas de adhesión celular (Montagnani et al., 2002); todo lo anterior facilita la aparición de lesiones ateromatosas. La hiperinsulinemia concomitante igualmente acrecienta algunos procesos implicados en la aterogénesis, tales como: la

proliferación de las células del músculo liso vascular y el aumento del péptido C (producto de la pro-insulina); esta última actúa como estímulo quimiotáctico para la adherencia y penetración de linfocitos T a la pared de los vasos (Walcher et al., 2004).

Por último, la dislipidemia que acompaña a la RI, también participa en el desarrollo de aterosclerosis. El exceso de ácidos grasos libres circulantes, altos niveles de VLDL (Nigro et al., 2006) y la disminución de las HDL (encargados de la remoción del colesterol de la vasculatura) (Semenkovich, 2006), favorecen la oxidación y acumulación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) en la pared vascular, donde se une a los proteoglicanos en la matriz extracelular (Wight y Merrilees, 2004).

Inflamación

Los sistemas metabólico e inmune han evolucionado de forma cercana e interdependiente, y pueden regularse uno al otro (Wellen y Hotamisligil, 2005). Cualquier proceso ligado a la inflamación crónica disminuirá la acción de la insulina, y la RI resultante, conducirá al empeoramiento de la inflamación en un círculo vicioso (Fernández-Real y Ricart, 2003). Diversos estudios clínicos y epidemiológicos han mostrado que hay una correlación positiva entre la RI y diferentes marcadores

inflamatorios, entre ellos: la proteína C reactiva de alta sensibilidad (hsPCR) (Fröhlich et al., 2000), IL-6 y el TNF- α (Pittas et al., 2004).

Por ejemplo, la exposición durante 24 horas a TNF- α produce disminución en la concentración de receptores a la insulina, su sustrato SRI-1 y GLUT4 (Ruan et al., 2002). Mientras que, la neutralización de TNF- α , mejora la sensibilidad a la insulina, aumentando la actividad de los receptores de la hormona en los tejidos hepático y muscular (Kern, 1997).

La IL-6 es una citocina secretada por células del sistema inmune y el tejido adiposo, entre otros (Pittas et al., 2004). Se encuentra aumentada en los estados de RI (Kern, 1997) y es predictora del desarrollo de DM2 (Pradhan et al., 2001). También inhibe la señalización de la insulina en hígado de ratón (Shi et al., 2006) y es capaz de aumentar los niveles circulantes de glucosa en humanos (Tsigos et al., 1997).

En cuanto a las células del sistema inmune, se sabe que en la RI los macrófagos son más susceptibles a la apoptosis (Liang et al., 2007). Los linfocitos T no presentan receptores a la insulina, pero los pueden expresar después del contacto con un antígeno (Helderman y Strom, 1979; Braciale et al., 1982) y la estimulación de estos receptores de la insulina mantiene activados a los linfocitos T, incrementa sus efectos citotóxicos y les permite

adaptarse a los requerimientos extra de energía (Helderman y Strom, 1979). Sin embargo, la hiperinsulinemia disminuye el número de receptores a la insulina en linfocitos T, ulterior a la presentación de un antígeno (Helderman, 1981).

Hipertensión arterial

La hipertensión y la RI frecuentemente se encuentran asociadas, independientemente del peso o del índice de masa corporal (Ginsberg, 2000) y conllevan el riesgo de enfermedad cardiovascular (Horiuchi et al., 2006). Aunque no existe información que describa detalladamente la relación entre ambos (Ginsberg, 2000), parece haber mecanismos de retroalimentación entre las dos patologías.

Por ejemplo, la insulina activa al angiotensinógeno y la producción de angiotensina II (AngII); además, regula la expresión de los receptores tipo 1 de la AngII (AT1) (Kamide et al., 2004) y la secreción de óxido nítrico (NO) en las células endoteliales (Ginsberg, 2000). Entre sus múltiples acciones, el NO antagoniza los efectos de la AngII en el tono vascular, disminuyendo la síntesis de enzima convertidora de angiotensina (ECA) (Takemoto et al., 1997) y la expresión de los AT1 (Ichiki et al., 1998). Al mismo tiempo, se ha demostrado que la AngII puede modular negativamente las acciones mediadas por la insulina, a diferentes niveles de la vía de señalización (Folli

et al., 1997), posiblemente a través del estrés oxidativo producido por la AngII (Horiuchi et al., 2006).

La hiperinsulinemia secundaria a la RI promueve efectos potencialmente hipertensivos, como retención de agua y sodio en el riñón (Resnick, 1992). También aumenta la síntesis del factor de crecimiento semejante a la insulina-1 (IGF-1) y la densidad de sus receptores (Chisalita y Arnqvist, 2004), con lo cual incrementa la producción de DNA, RNA y proteínas, que inducen hipertrofia miocárdica y vascular (Nigro et al., 2006), en sinergismo con la AngII (Gustafsson et al., 1999). Por lo tanto, existe la posibilidad de que el remodelamiento cardiovascular presente en la hipertensión sea el resultado de las acciones concertadas entre la insulina y los receptores AT1 y AT2 de la AngII (Horiuchi et al., 2006).

Finalmente, el tratamiento de la hipertensión con inhibidores de la ECA reduce la incidencia de DM2 (Ginsberg, 2000); además, los antagonistas de los AT1, como el valsartán (Julius et al., 2004) y el losartán, aumentan la sensibilidad a la insulina (Olsen et al., 2005); posiblemente por un efecto sobre el sistema Renina-Angiotensina local del páncreas (Jandeleit-Dahm et al., 2005), que parece estar sobrerregulado en modelos animales de DM2.

TRATAMIENTO

La prevención y tratamiento de la RI y sus complicaciones, es una de las principales metas de la medicina actual. La piedra angular de la terapia en la RI consiste en lograr el control de peso y un adecuado seguimiento a recomendaciones de la dieta y ejercicio (Schoonjans, 2000), ya que, se ha demostrado que el ejercicio mejora la sensibilidad a la insulina, independientemente de la disminución de peso (Matthaei et al., 2000). Sin embargo, estas medidas implican un cambio importante en el estilo de vida de los pacientes que pocas veces es acatado y frecuentemente se hace necesaria la administración de medicamentos.

El tratamiento farmacológico de la RI se basa fundamentalmente en tres grupos de medicamentos.

A) Inhibidores de la α -glucosidasa. Como la acarbosa, que bloquea la absorción de carbohidratos a nivel intestinal, con lo cual disminuye la RI (Meneilly et al., 2000).

B) Biguanidas. Representadas por metformina y fenformina; ambas han demostrado su efectividad en disminuir la RI, probablemente actuando a nivel postreceptor de insulina, disminuyendo la absorción de glucosa y la producción hepática de esta última (Cleasby et al., 2004).

C) Tiazolidinedionas. Son fármacos que sensibilizan al receptor de la insulina a través de la activación de los PPAR- γ , modifican la expresión genética del adipocito y aumentan la expresión de GLUT4 (Shintani et al., 2001), lipoprotein lipasa (Nagashima et al., 2005), transportadores de ácidos grasos, PI3-k (Goetze et al., 2002) y adiponectina (Tsuchida et al., 2005); mientras que, disminuyen la expresión de leptina (Goetze et al., 2002), TNF- α , e IL-6 (Gervois et al., 2004). Los representantes de este grupo son: pioglitazona y rosiglitazona. El principal problema de estos medicamentos es que su costo los hace poco accesibles a un gran número de pacientes.

La insulina es la principal hormona en el metabolismo de la energía, coordina la utilización de los depósitos de grasa en el hígado, músculo y tejido adiposo; la utilización de glucosa, su entrada al citoplasma y la formación de glucógeno en el músculo para su almacenamiento (Nigro et al., 2006). La alteración en la señalización de insulina afecta al funcionamiento celular en su conjunto y aunada a la epidemia de obesidad, esta patología se convierte en el principal reto de salud que actualmente enfrenta la humanidad.

ALOE VERA

Las plantas han jugado un papel significativo en el mantenimiento de la salud y el mejoramiento de la calidad de vida por miles de años (Craig, 1999). Tanto así, que la Organización Mundial de la Salud estima que aproximadamente el 80% de las personas en el mundo confían en la medicina tradicional para el cuidado primario de su salud (WHO, 1999). La mayoría de las terapias involucran el uso de plantas en extractos o sus componentes activos (Craig, 1999). Entre las plantas más utilizadas (Vogler y Ernst, 1999) y antiguas (Poggi, 2001) se encuentran los aloes, a los que se atribuyen diversas propiedades curativas, hecho que ha motivado su estudio científico (Grindlay y Reynolds, 1986).

La especie vegetal *Aloe vera* (L.) Burm. f. es una planta originaria probablemente del norte de África, posteriormente introducida y naturalizada en la región del Mediterráneo y en la mayoría de las regiones del trópico y climas templados del mundo, incluyendo México (Argueta, 1994; WHO, 1999).

Aspectos botánicos

Es una planta perenne con tallo muy corto de donde salen las hojas de color verde oscuro. Las hojas están distribuidas en forma de roseta, son



Figura 1. *Aloe vera* (L.) Burm. f.

carneas, con bordes dentados y espinosos, alcanzando una longitud de 50 cm, por 10 cm de ancho en la base y 7 cm de grosor (Argueta, 1994); están compuestas de tres capas: una protección coriácea exterior, una capa fibrosa - donde se concentra la aloína - y un corazón gelatinoso donde almacena sus reservas de agua. Las flores de *A. vera* salen de un tallo y se presentan en inflorescencias densas de color amarillo brillante (WHO, 1999).

Tabla 1. Clasificación taxonómica de *Aloe vera* (Missouri Botanical Garden, 2007).

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Liliopsida
Orden:	Liliales
Familia:	Liliaceae
Género:	<i>Aloe</i>
Especie:	<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f.

Se describe a: *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe vera* Tourn. Ex. Linn., y *Aloe vulgaris* Lamarck, como sinonimias. La especie es conocida con diferentes nombres vulgares: sávila, zábila, huaja (otomí); posacmetl (náhuatl); hunpets 'k 'inki y petk'inki (maya) (Argueta, 1994).

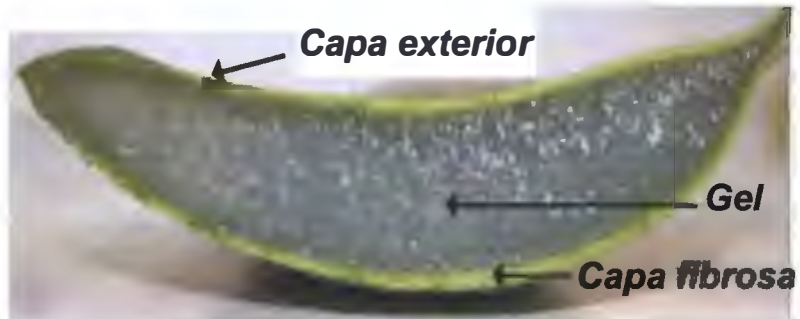


Figura 2. Corte transversal de la hoja de *A. vera* en donde se aprecian las tres capas que la forman.



Figura 3. Las inflorescencias del *A. vera* salen de un tallo largo (der.).
Arriba: Detalle de la flor.

Compuestos químicos

El exudado amarillo-café y amargo que fluye espontáneamente al cortar la hoja, se conoce como jugo y tiene un alto contenido en compuestos polifenólicos del tipo de las antraquinonas, principalmente aloin A (15 a 40%) y aloe-emodin (WHO, 1999). Este último con propiedades antitumorales (Pecere et al., 2000).



Figura 4. El jugo rico en compuestos polifenólicos fluye espontáneamente al cortar la hoja.

La pulpa de la hoja recibe el nombre de gel, por su aspecto mucilaginoso, producido por las células parenquimatosas de la hoja. El gel es viscoso, incoloro, inodoro y de sabor ligeramente amargo (WHO, 1999). Está compuesto por 99% de agua y el peso seco representa de 1 a 1.2%, aproximadamente. Los carbohidratos del gel constituyen cerca del 40% del peso seco (Yaron, 1993), están compuestos principalmente por manosa, y a ellos se les atribuye el aspecto gelatinoso (Yaron, 1993), así como sus propiedades cicatrizantes (Chintra et al., 1998) e inmunoestimulantes (Qiu et al., 2000). Las sustancias de naturaleza proteínica constituyen sólo el 6% de los sólidos totales y presentan también actividades inmunomoduladoras y antiinflamatorias (Winters y Bouthet, 1995). Además de estos compuestos, el gel contiene aminoácidos, esteroides, enzimas (WHO, 1999), calcio, hierro, fósforo, magnesio y manganeso, entre otros (Reynolds y Dweck, 1999).



Figura 5. El gel de *A. vera* se encuentra en la parte interna de la hoja y es viscoso, incoloro e inodoro.

Aspectos etnomédicos

La descripción más antigua de la planta y sus propiedades terapéuticas se remonta a 1 500 a.C., en el papiro de Ebers (Poggi, 2001). *A. vera* es ampliamente utilizada desde entonces en Arabia (Ajabnoor, 1990), India (Grover et al, 2002) y China (Tan y Vanitha, 2004), principalmente por su actividad antiinflamatoria y cicatrizante (Poggi, 2001), cualidades científicamente comprobadas en la actualidad (Winters y Bouthet, 1995; Chintra et al., 1998). Entre sus múltiples aplicaciones terapéuticas, se ha utilizado como remedio para la diabetes mellitus; en la actualidad hay reportes de su uso etnomédico con este fin por méxico-americanos en EEUU (Brown et al, 2002), en México (Argueta, 1994), y en otros países del Medio Oriente (Riddle, 2004) y Asia (Yongchaiyudha et al., 1996; Grover et al., 2002).

Aloe vera y diabetes mellitus tipo 2

La primera referencia de la utilización del gel de *Aloe vera* en el tratamiento de la DM2, se remonta a la edad media. En un libro de recetas del Monasterio de Reichenau, que data del siglo IX o X d.C., se encuentra una fórmula, atribuida a Galeno (200 d.C.), en la cual el gel de *A. vera* es el principal ingrediente, y se prescribía presumiblemente para el tratamiento sintomático de lo que hoy conocemos como DM2 (Riddle, 2004).

Agarwal (1984) fue el primero en describir científicamente el efecto hipoglucemiante del gel de *A. vera* en humanos. Desde entonces, se han realizado sólo dos ensayos clínicos en pacientes con diabetes, con buenos resultados (Yongchaiyudha et al., 1996; Bunyaphatsara et al., 1996). También se reporta disminución (44%) en las cifras de triglicéridos (Yongchaiyudha et al., 1996). Desafortunadamente, estos estudios no son concluyentes debido a la falta de aleatorización y cegamiento (Vogler y Ernst, 1999).

Estudios en ratas y ratones también han demostrado el efecto hipoglucémico del gel de *A. vera* (Ajabnoor, 1990; Okyar et al., 2001), que es mayor al de la glibenclamida cuando se administra a animales obesos (Beppu et al., 1993). El gel de *A. vera* también presenta efecto hepato (Can et al., 2004) y nefroprotector (Bolkent et al., 2004) en ratas diabéticas. Se ha indicado que la capacidad hipoglucemiante de la planta, mejora notablemente cuando se utiliza la hoja completa, no sólo el gel (Beppu et al., 1993; Okyar et al., 2001). Estos resultados son consistentes con los reportes de la capacidad del aloe-emodin para disminuir la absorción de glucosa en el intestino y aumentar los niveles séricos de insulina en ratones con diabetes experimental. El gel de *A. vera* también protege de la inflamación y la destrucción pancreática provocada por bajas dosis repetidas de estreptozotocina (Beppu et al., 2006).

Una de las características más importantes de *A. vera* es que no se reportan efectos colaterales o tóxicos por su uso, ni en humanos (Agarwal, 1985; Vogler y Ernst, 1999), ni en animales de experimentación (Beppu et al, 1993, 2006).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La insulina es la principal hormona en el metabolismo de la energía y cualquier alteración en sus vías de señalización provoca RI, que afecta al funcionamiento celular en su conjunto. Además la RI se encuentra asociada a DM2, hipertensión, obesidad y estados inflamatorios subclínicos crónicos; por lo que, las personas que la padecen presentan mayor riesgo de enfermedad cardiovascular y muerte. Aunada a la epidemia de obesidad, la RI y su tratamiento son el principal reto de salud que actualmente enfrenta la humanidad.

Una de las principales dificultades de la investigación en RI reside en los modelos experimentales, los cuales pueden ser costosos y no muy semejantes a la patología humana. Tratando de demostrar la asociación entre la desnutrición fetal y el desarrollo de alteraciones metabólicas en la vida adulta, se ha encontrado que animales de laboratorio, sometidos a desnutrición intrauterina desarrollan RI, similar a la humana.

La utilización de plantas como recurso terapéutico data desde el inicio de la historia del hombre. Entre las más antiguas se encuentra *A. vera*, que es una planta de fácil cultivo, para la cual no se han demostrado efectos colaterales o tóxicos y que se ha estudiado con éxito en humanos y animales

de laboratorio por su facultad de disminuir las cifras de glucosa sanguínea en la DM2. Su capacidad como hipoglucemiante ha sido científicamente demostrada y este efecto se atribuye tanto al gel como a los compuestos polifenólicos, del tipo de las antraquinonas. Estos últimos pueden ser absorbidos cuando se administran por vía oral, disminuyen la absorción de glucosa en el tracto digestivo y aumentan los niveles plasmáticos de insulina. Aunque esta especie vegetal se ha utilizado por cientos de años como hipoglucemiante, nunca se ha estudiado su efecto sobre la RI, por lo que nos preguntamos:

¿El extracto del gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles, disminuye la resistencia a la insulina?

JUSTIFICACIÓN

Debido a que la insulina es la principal hormona anabólica, la disminución en su actividad biológica se acompaña de alteraciones en el metabolismo de lípidos, carbohidratos y proteínas, además de trastornos en la reproducción celular. Al mismo tiempo, el proceso de RI se encuentra íntimamente relacionado con diferentes patologías que, a su vez, son importantes factores de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y constituyen las principales causas de muerte en muchos países del mundo. De aquí surge la importancia de la investigación encaminada a la prevención y tratamiento de la RI. En años recientes se ha resaltado la importancia de la asociación entre la RI y diversas alteraciones de tipo inflamatorio, esta interrelación podría explicarse porque ambos sistemas (inmune y de almacenamiento de la energía) son muy antiguos y han evolucionado de forma interdependiente.

A. vera es una de las plantas de uso medicinal más antiguo y abundante. Sus beneficios más difundidos son: antiinflamatorio y antidiabético, al mismo tiempo que ambas propiedades han sido ampliamente comprobadas desde el punto de vista científico. *A. vera* se cultiva fácilmente en la mayoría de las regiones tropicales y subtropicales del mundo; además, su administración, ya sea del extracto íntegro o de sus

fracciones, no produce efectos colaterales o tóxicos. Estas cualidades, aunadas a sus efectos inmunomodulador e hipoglucemiante, hacen de *A. vera* un candidato ideal para el estudio de su actividad sobre la RI.

HIPÓTESIS

El extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles disminuye la resistencia a la insulina en un modelo experimental de ratones con bajo peso al nacimiento.

OBJETIVOS

GENERAL

Estudiar el efecto del extracto del gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles sobre la resistencia a la insulina, inducida experimentalmente por bajo peso al nacimiento, en ratones.

ESPECÍFICOS

Medir la cantidad de aloin A y aloe-emodin presentes en el extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles.

Inducir resistencia a la insulina en ratones, ocasionada por desnutrición intrauterina y bajo peso al nacimiento.

Comparar las curvas de tolerancia a la glucosa y las curvas de tolerancia a la insulina de ratones normales con las de ratones desnutridos en útero y bajo peso al nacimiento.

Comparar las curvas de tolerancia a la insulina de ratones resistentes a la insulina, tratados diariamente, durante cuatro semanas, con agua bidestilada, pioglitazona o extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles.

Comparar los niveles de glucosa e insulina de ratones resistentes a la insulina, administrados diariamente, durante cuatro semanas, con agua bidestilada, pioglitazona o extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Las plantas fueron obtenidas de un área de cultivo controlado en la población de Xochitepec, Morelos. Se prepararon ejemplares de referencia que fueron analizados e identificados en el Herbario de Plantas Medicinales del Instituto de Antropología e Historia, donde un ejemplar fue depositado para referencia bajo el número 2029.

Preparación del extracto de gel de A. vera enriquecido en polifenoles

Las hojas maduras (10 kg), de 50 a 70 cm de longitud, fueron lavadas con agua corriente y cortadas desde su base; se dejaron reposar en una bandeja, durante 10 min, para coleccionar el jugo rico en compuestos polifenólicos, principalmente aloin A y aloe-emodin. A continuación, se separó la cáscara de la pulpa gelatinosa con una cuchara metálica. Los filetes de gel fueron homogeneizados, se añadió el jugo y la sustancia mucilaginoso obtenida se filtró y evaporó hasta llevarlo a sequedad, mediante un proceso de destilación a presión reducida a 30°C. El extracto seco se almacenó a -20°C, en alícuotas de 105 mg, hasta su utilización.

Cuantificación de antraquinonas

Las muestras fueron analizadas en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (HPLC). El equipo consistió de un Módulo de Separación Waters 2695, equipado con un detector de arreglo de diodos (PDA 996 Waters) y el programa Empower Chromatography Manager, version 1. El análisis se realizó con una columna de fase reversa RP-18, Chromolith (Merck). La fase móvil consistió en un gradiente lineal agua/acetonitrilo, con concentración inicial de 20% de acetonitrilo, que se incrementó a 30% en 3 minutos; esta concentración se mantuvo por 5 minutos y volvió a incrementarse (2 min) hasta 50%. Finalmente, se utilizaron 2 minutos para regresar a las condiciones iniciales (20% acetonitrilo). El flujo se mantuvo a 1 mL/min. El volumen de inyección fue de 70 μ L. La identificación de los picos cromatográficos se estimó usando un barrido de 230 a 600 nm, fijando la longitud de onda a 356 nm.

Como estándares se utilizaron: aloin A y aloe-emodin comerciales (Sigma Chemical Co., USA), con grado de pureza 97 y 95%, respectivamente, y tiempo de retención de 3.91 min el primero y 6.33 min el último. Para la determinación cuantitativa de aloin A y aloe-emodin, se construyeron curvas basadas en las áreas de los picos de los cromatogramas de HPLC, usando 4 puntos de dilución en metanol para cada compuesto: 125, 250, 500 y 1000 μ g/mL ($R^2 = 0.99$ and 0.98 para aloin A and

aloe-emodin, respectivamente). Todos los compuestos fueron detectados a 356 nm, usando volúmenes de inyección de 70 μ L. Los experimentos se realizaron por triplicado y los valores se expresaron en miligramos por peso seco. La cantidad total de antraquinonas fue obtenida por la suma de las cantidades presentes de aloin A y aloe-emodin. La muestra de *A. vera* se inyectó a una concentración de 4 mg/ml.

Animales

Se utilizaron ratones de la cepa ICR, ya que no presentan carga genética o predisposición fenotípica para DM2. Todos los animales fueron criados y mantenidos en condiciones de bioterio, con un ciclo de 12 horas de luz por 12 horas de oscuridad y temperatura controlada entre 22 y 25°C. A excepción de las hembras, en el apartado de inducción experimental de la RI, los ratones tuvieron acceso libre al agua y alimento. El manejo de los animales estudiados estuvo apegado a los estatutos del Comité para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) y a la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999), revisada en 2001.

Inducción experimental de resistencia a la insulina

Se utilizaron 20 ratones hembras de la cepa ICR con 3 meses de edad (Harlan México, S.A. C.V.), las cuales fueron expuestas con machos de la misma cepa y edad para su apareamiento. El inicio de la gestación se

determinó por la presencia de tapón mucoso vaginal. Las hembras preñadas se dividieron en dos grupos: i) Hembras gestantes alimentadas *ad libitum* (dieta 2018, Harlan Teklad), durante todo el periodo gestacional. Estas sirvieron para calcular la cantidad de comida que se proporcionó a las madres del segundo grupo. ii) Hembras preñadas que recibieron la misma dieta, a libre demanda, hasta el 12° día de gestación, a partir del cual se les proporcionó solamente el 50% de sus requerimientos normales. Al día siguiente del nacimiento todas las crías fueron pesadas y se seleccionaron los ratones que presentaron un déficit de peso igual o superior al 30% con respecto a las crías del primer grupo. En ambos grupos se estandarizaron las camadas a seis crías por hembra. Todos los productos fueron amamantados por sus madres, las cuales recibieron alimento normal, *ad libitum*, a partir del nacimiento de las crías. Los ratones controles y con bajo peso al nacimiento fueron pesados cada dos semanas hasta los dos meses de edad y, posteriormente, cada mes hasta cumplir seis meses.

Selección de los ratones resistentes a la insulina

A los tres y seis meses de edad se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa (CTG) y curvas de tolerancia a la insulina (CTI) a los ratones control y con bajo peso al nacimiento. Las primeras curvas sirvieron para conocer si la maniobra de desnutrición había tenido éxito. Las CTI realizadas a los seis meses de edad se utilizaron para seleccionar a los animales resistentes a la

insulina. Los ratones con antecedente de bajo peso al nacimiento y que en la CTI disminuyeron sus cifras de glucosa plasmática en 30% o menos, fueron seleccionados.

Procedimiento experimental

Se incluyeron en el estudio 25 ratones machos de la cepa ICR con RI inducida de la forma descrita. Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en tres diferentes grupos de tratamiento: 1) Grupo control, ($n=9$) recibieron 5 μ l/g de agua bidestilada. 2) Control positivo, ($n=8$) administrados con 50 mg/kg de pioglitazona (Zactos, tabletas de 15 mg, Takeda Chemical Industries, Ltd., Japón, y Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, USA). 3) Grupo experimental, ($n=8$) recibieron 350 mg/kg de extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles (AvEP). Los tratamientos se disolvieron en agua bidestilada suficiente para alcanzar un volumen de administración de 5 μ l/g, y suministrados diariamente, a las 9:00 a.m., por vía intragástrica (sonda orogástrica), durante 4 semanas.

Antes del inicio y al final del tratamiento se realizaron CTI y se tomaron muestras de sangre para la cuantificación de insulina y glucosa plasmáticas. Se registró el peso de los animales tres veces a la semana, en

días alternos; también, se cuantificó el alimento ingerido, durante tres días seguidos, cada semana.

Reactivos

La medición de la glucosa plasmática se realizó con el método de glucosa-oxidasa, utilizando tiras reactivas (KDK Corporation, Japón; para Bayer Corporation, Alemania) y un glucómetro Ascencia Elite, de Bayer (HealthCare Division, Bayer Corporation, Alemania). La insulina fue medida con el método de ELISA, usando reactivos específicos para rata/ratón, de LINCO Research, USA.

Fórmulas

Los índices de resistencia a la insulina y el funcionamiento de las células β del páncreas, fueron calculados con las fórmulas del homeostasis model assessment (HOMA) (Matthews et al, 1985).

Para medir la RI se utilizó:

$$\text{HOMA-IR} = \text{insulina en ayuno } (\mu\text{U ml}^{-1}) \times \text{glucosa en ayuno (mM)} / 22.5.$$

Para medir la función de células β se utilizó:

$$\text{HOMA-}\beta = (\text{insulina en ayuno } (\mu\text{U ml}^{-1}) \times 20) / (\text{glucosa en ayuno (mM)} - 3.5).$$

Procedimientos de análisis bioquímicos

Obtención de sangre. Previo ayuno de 12 horas, se extrajeron 200 μL de sangre de la vena caudal, que fueron colectados en tubos eppendorf de 0.5 mL. Los primeros 20 μL de sangre se utilizaron para la medición de glucosa. El resto de la muestra fue centrifugada a 1096 x g durante 7 minutos, para separar el suero, el cual permaneció almacenado a -70°C , hasta su análisis. El suero se utilizó para la determinación de insulina plasmática, antes y después de los tratamientos.

Curva de tolerancia a la glucosa. En ratones con 12 horas de ayuno se aplicó, vía intraperitoneal, 2 mg/kg de glucosa (Dextrosa al 50%, solución inyectable, Laboratorios Pisa S.A. de C.V., México). Para la determinación de los niveles de glucosa plasmática se obtuvieron 20 μL de sangre, de la vena caudal, antes (tiempo 0) y 15, 30, 60 y 120 minutos después de la administración de la dextrosa.

Curva de tolerancia a la insulina. Los animales fueron administrados, vía intraperitoneal, con 0.75 UI/kg de insulina humana de acción rápida (Humulin Regular, Lilly France, S.A., Francia). Para determinar las cifras de glucosa plasmática se tomaron muestras de sangre (20 μL) de la vena caudal, antes (tiempo 0) y 15, 30 y 60 minutos después de la administración de insulina.

Análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo de las CTG y las CTI de los ratones desnutridos *in utero* y sus controles. También se describen las variaciones del peso corporal y consumo de alimento por semana de tratamiento y los valores finales de glucosa, insulina, HOMA-IR y HOMA- β . Los resultados se presentan como *Media* \pm Error estándar de la media (*EEM*).

Se utilizó la prueba de *t de Student*, de una cola y grupos independientes, para comparar el peso al nacimiento y los diferentes puntos de las CTG y CTI entre los ratones con bajo peso al nacimiento y controles. El contraste de medias entre los tres grupos de tratamiento se realizó con la prueba de Análisis de Varianza (*ANOVA*) de un factor y se usó la prueba de Tukey para establecer las diferencias entre los grupos. En todos los casos se consideró diferencia estadísticamente significativa cuando $p \leq 0.05$. La totalidad de las pruebas estadísticas se efectuaron con el programa SPSS para Windows, versión 11.0.

RESULTADOS

Inducción experimental de RI

De las 20 hembras para cruce se aparearon solamente 18, de las cuales 4 se destinaron al grupo control y 14 al grupo de desnutrición *in utero*. De las madres desnutridas, solamente 10 (71%), tuvieron camadas cuyos críos presentaron déficit de peso (34.8% respecto del grupo control). Se obtuvieron 18 crías del grupo control (8 machos y 10 hembras) con peso promedio de: 1.90 ± 0.043 g y 60 crías (32 machos y 28 hembras) catalogadas como bajo peso al nacimiento con 1.24 ± 0.031 g ($p < 0.001$).

En el lapso de seis meses en que fueron estudiados, los ratones desnutridos no alcanzaron el peso de los animales normales. A los 3 meses de edad, en la CTG, los machos con bajo peso al nacimiento presentaron mayores niveles plasmáticos de glucosa a los 30, 60 y 120 minutos (336, 247 y 129 mg/dL, respectivamente), comparados con sus controles (272, 180 y 97 mg/dL), ($p \leq 0.001$). No obstante, en las CTI no hubo diferencias entre ambos grupos. Como se observa en la *Figura 6* (A y B) a los 6 meses de edad, la RI fue aparente en ambas pruebas, con elevaciones significativas en los niveles de glucemia, incluso en todos los tiempos de la CTI.

La maniobra de desnutrición surtió mayor efecto en los machos, de los cuales, el 78% (25) fueron catalogados como resistentes a la insulina; en contraste, solamente el 10.7% (3) de las hembras presentaron alteración metabólica.

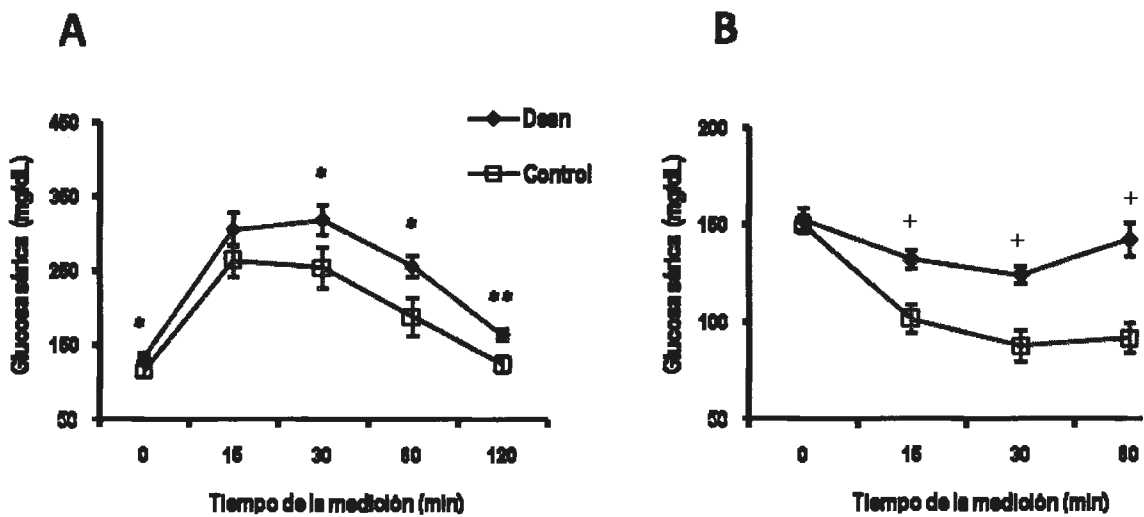


Figura 6A y 6B. Curvas de tolerancia a la glucosa (A) e insulina (B) en los ratones con bajo peso al nacimiento y sus controles, a los seis meses de edad. Los datos representan medias \pm EEM. \blacklozenge = Desnutridos; \square = Controles. $*$ = $p < 0.05$; $**$ = $p < 0.01$; $+$ = $p \leq 0.001$ (*t* de Student)

Cantidad de antraquinonas en el AvEP.

El análisis químico mostró que el contenido de aloin A y aloe-emodin en el AvEP fue de 181.5 mg/g y 3.6 mg/g de peso seco, respectivamente. El contenido total de antraquinonas fue de 185.1 mg/g. Por lo tanto, la dosis diaria de antraquinonas fue de: 63.5 mg/kg/día de Aloin A y 1.26 mg/kg/día de Aloe-emodin.

Tabla 2. Efecto producido por la administración diaria, intragástrica, durante 4 semanas de AvEP (350mg/kg) y pioglitazona (50 mg/kg) sobre el peso corporal (g) de ratones resistentes a la insulina

Tratamiento/ Diferencias en el peso corporal respecto al inicio	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4
Control	-1.53 ± 0.58	1.04 ± 0.23	-2.65 ± 0.31	-0.65 ± 0.56
Pioglitazona	-0.09 ± 0.74	-1.62 ± 0.55	-0.78 ± 0.32	-0.92 ± 0.17
AvEP	-3.09 ± 0.60*	-1.00 ± 0.34	-1.02 ± 0.25	-0.93 ± 0.28

AvEP: Extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles. Los datos son *medias ± EEM* de la diferencias en el peso corporal.

* $p = 0.008$ vs. pioglitazona (ANOVA).

Peso corporal e ingesta de alimentos

Como se ilustra en la Tabla 2, al inicio del tratamiento el AvEP fue capaz de reducir el peso corporal en los animales. En la primera semana el efecto fue estadísticamente diferente ($p=0.008$) del producido por la pioglitazona. Mientras que, el grupo control mostró cambios inconsistentes en el peso. El AvEP también disminuyó la ingesta de alimento, principalmente en la cuarta semana de tratamiento ($p=0.001$), (Tabla 3).

Tabla 3. Efecto producido por la administración diaria, intragástrica, durante 4 semanas de AvEP (350mg/kg) y pioglitazona (50 mg/kg) sobre la ingesta de alimento (g) en ratones resistentes a la insulina

Tratamiento \ Ingesta	Sem 1	Sem 2	Sem 3	Sem 4
Control	4.31 ± 0.26	4.59 ± 0.22	4.30 ± 0.20	5.07 ± 0.25
Pioglitazona	4.12 ± 0.40	4.13 ± 0.22	3.98 ± 0.17	4.21 ± 0.15*
AvEP	3.63 ± 0.36	4.05 ± 0.26	3.98 ± 0.24	3.96 ± 0.20*

AvEP: Extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles. Los datos son *medias* ± *EEM* de la ingesta de alimento. * $p = 0.001$ vs. Control (ANOVA).

Curva de tolerancia a la insulina

Durante las CTI, en las mediciones basal, 15 y 30 minutos, los niveles de glucosa fueron similares en los animales tratados con AvEP (127 ± 5 , 96 ± 6 y 87 ± 7.7 mg/dL) y pioglitazona (125 ± 5 ; 93 ± 7 y 84 ± 6.6 mg/dL). Sin embargo, el grupo control presentó los niveles más altos de glucosa (144 ± 6.9 , 119 ± 7.2 , y 107 ± 8.2 mg/dL), con valores de $p < 0.05$; < 0.01 y < 0.05 , respectivamente (Fig. 7).

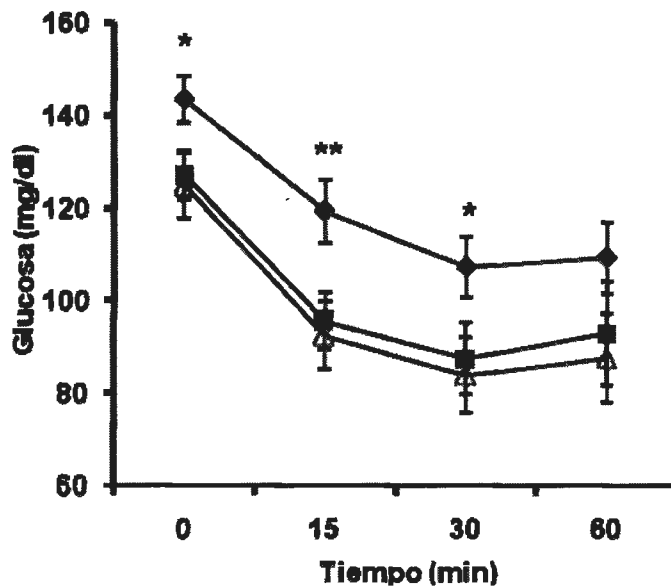


Figura 7. Efecto producido por la administración diaria de AvEP (350 mg/kg), pioglitazona (50 mg/kg), o agua bidestilada (control), durante cuatro semanas sobre la CTI (0.75 U/kg, i.p.), en ratones insulino-resistentes. Los datos representan *medias ± EEM*. ◆ = Control; ■ = AvEP; Δ = Pioglitazona. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

Tabla 4. Efecto producido por la administración, intragástrica, durante 4 semanas de AvEP (350mg/kg) y pioglitazona (50mg/kg) en los niveles séricos de glucosa e insulina; así como en los valores de HOMA-IR y HOMA-β en ratones ICR insulino-resistentes.

Tratamiento	Glucosa ^a (mM/dL)	Insulina (UI)	HOMA-IR	HOMA-β
Control	7.3 ± 0.10	23.6 ± 2.2	7.7 ± 0.78	125 ± 10
Pioglitazona	6.2 ± 0.45	21.7 ± 2.9	5.7 ± 0.52	212 ± 63
AvEP	4.7 ± 0.10*	26.7 ± 2.6	5.5 ± 0.50**	481 ± 70*

AvEP: Extracto de gel de *A. vera* enriquecido en polifenoles. ^a 12 h de ayuno. Los datos representan *medias y EEM*. * $p \leq 0.005$ vs. pioglitazona y control; ** $p < 0.05$ vs. Control (ANOVA).

Glucosa e insulina plasmáticas

Los niveles de glucosa sanguínea, que antes del tratamiento fueron en promedio de 5.4 mM/dL, después de 4 semanas de tratamiento aumentaron significativamente en el grupo control, alcanzando 7.3 ± 0.45 mM/dL, ($p < 0.005$). El tratamiento con pioglitazona no produjo cambios significativos (6.2 ± 0.1 mM/dL); mientras que la administración de AvEP provocó disminución en la glucemia a 4.7 ± 0.1 mM/dL, ($p < 0.005$), (Tabla 4). Los

niveles finales de insulina no mostraron diferencias estadísticamente significativas.

HOMA-IR y HOMA- β

Mientras que el índice de HOMA-IR se incrementó en el grupo control de 5.7 ± 0.70 a 7.7 ± 0.78 ($p < 0.05$), los animales tratados con pioglitazona y AvEP no mostraron cambios en este parámetro (5.7 ± 0.52 [NS] and 5.5 ± 0.50 [NS], respectivamente). En cuanto al funcionamiento de la célula β del páncreas, calculada con la fórmula HOMA- β , se incrementó significativamente ($p = 0.001$) en el grupo tratado con AvEP, cuando lo comparamos con los grupos control y pioglitazona (Tabla 4).

DISCUSIÓN

El modelo de desnutrición intrauterina en ratas y ratones se ha utilizado, en años recientes, para estudiar las alteraciones estructurales y funcionales del páncreas, así como en trastornos del metabolismo que acompañan al síndrome de resistencia a la insulina. En este estudio, la restricción calórica a las madres gestantes resultó efectiva para producir alteraciones metabólicas, en las curvas de tolerancia a la glucosa y a la insulina. Los cambios mostrados en los ratones con bajo peso al nacimiento, coinciden con los resultados obtenidos por Hernández-Valencia et al. (2005) y son consistentes con el estado de resistencia a la insulina, necesario para la evaluación del extracto del gel de *A. vera*.

En esta investigación se confirmó la capacidad del AvEP para disminuir los niveles de glucosa sanguínea y se evidenció un mayor efecto que el producido por la pioglitazona. Las cifras de insulina plásmática fueron marginalmente más elevadas en el grupo tratado con AvEP; lo cual concuerda con la capacidad del gel de *A. vera* para aumentar los niveles séricos de la hormona en ratones con diabetes experimental (Beppu et al., 2006).

Las fórmulas de HOMA-IR y HOMA- β fueron diseñadas para humanos, pero empiezan a utilizarse en estudios que evalúan el efecto de algunos tratamientos sobre la resistencia a la insulina en animales, principalmente en ratas (Pickavance et al., 2005). En los resultados de HOMA-IR se observaron efectos similares de la pioglitazona y el AvEP; ambos protegieron a los ratones del deterioro metabólico observado en los animales del grupo control. Al aplicar la fórmula HOMA- β (función pancreática), el grupo tratado con AvEP mostró dos y casi tres veces mejor funcionamiento de las células insulares del páncreas, comparado con los tratamientos de pioglitazona y control, respectivamente. Este resultado es importante porque el deterioro en la función pancreática, como consecuencia de la hiperinsulinemia, es una de las causas en la aparición de hiperglucemia. Muchos estudios están encaminados a la preservación de la función del páncreas, por lo que, estos resultados adquieren especial importancia ya que reflejan el potencial del gel de *A. vera* en el tratamiento de la RI.

Otro efecto benéfico del AvEP fue la disminución del peso corporal presente desde la primera semana de tratamiento. Se ha demostrado que los medicamentos específicos para tratar la RI (PPAR- α,γ) conservan o aumentan el peso. Teniendo en cuenta que el sobrepeso y la obesidad representan un importante problema metabólico, asociado a la disminución

en la sensibilidad a la insulina; el efecto de disminución de peso, aunado a la mejoría en el parámetro de glucosa sanguínea se considera favorable. No obstante, los animales de los tres grupos de tratamiento redujeron su peso, en el caso de los ratones del grupo control, puede explicarse por la descompensación metabólica, demostrada en las mediciones finales de glucosa y HOMA IR. El deterioro en el metabolismo de los controles se atribuye a la evolución natural de la RI, contra la cual no estaban protegidos y que fue exacerbada por el estrés diario durante la administración del medicamento.

El incremento sobre la ingesta de comida que se observó en los ratones del grupo control, también puede explicarse por el desbalance metabólico, ya que la polifagia es uno de los síntomas de descompensación. Mientras tanto, los animales administrados con AvEP redujeron significativamente su consumo de alimento en la cuarta semana, lo cual, probablemente está relacionado con la mejoría metabólica demostrada por disminución de la glucemia en este grupo de tratamiento.

No sabemos cómo se produce el efecto benéfico del AvEP sobre la RI, pero existen por lo menos tres mecanismos a través de los cuales el extracto puede actuar:

a) Como fibra dietética. Se ha comprobado que los carbohidratos complejos disminuyen el peso y las cifras de glucosa sanguínea; al impedir su absorción en el tracto intestinal favorecen la disminución postprandial de glucosa e insulina (Wolever et al., 2004). El Aloin disminuye la absorción de glucosa en el intestino delgado (Beppu et al., 2006). Además, la mayoría de los compuestos presentes en el gel de los aloes son polisacáridos de alto peso molecular y podrían actuar como fibra dietética.

b) Por su efecto antiinflamatorio. En la actualidad se conoce la estrecha relación que existe entre algunas citocinas proinflamatorias y la RI. Hay sustancias antiinflamatorias, por ejemplo, el ácido acetil-salicílico que disminuye los niveles de glucosa y aumenta la sensibilidad a la insulina en personas con diabetes. Por otro lado, el efecto antiinflamatorio de los aloes ha sido de los más ampliamente estudiados y comprobados; prácticamente todos los compuestos descritos en el gel y el jugo de *A. vera* poseen este efecto. Por lo tanto, el mecanismo de acción del AvEP podría estar relacionado con la capacidad antiinflamatoria de esta especie vegetal.

c) Como antioxidante. Los radicales libres y el estrés oxidativo han sido implicados en el desarrollo de las enfermedades crónicas, incluida la DM2. Se ha demostrado que el gel de *A. vera* posee efecto antioxidante, lo cual se comprobó en ratas diabéticas (Can et al., 2004; Beppu et al., 2003).

Debido a que se trata de una primera aproximación del efecto del *A. vera* sobre la RI, se utilizó un extracto íntegro de la parte mucilaginoso, adicionado con el jugo drenado de la cáscara, rico en antraquinonas. Por lo tanto, no se investigó en este trabajo cuál, o cuáles de los compuestos conocidos de esta planta, es el que posee el efecto. Sin embargo, pueden hacerse algunas consideraciones:

Prácticamente todos los componentes del *A. vera* poseen propiedades, principalmente inmunomoduladoras, que pudieran disminuir la RI. Los polisacáridos del gel y los compuestos polifenólicos del jugo, como el aloin A y el aloe-emodin, pueden ser absorbidos en el tracto intestinal, y así ejercer su acción biológica. Por lo anterior, sería razonable pensar que varios de los compuestos presentes en AvEP estén actuando sinérgicamente. No obstante, estudios con *A. vera* fraccionado apuntan hacia los compuestos fenólicos del tipo de las antraquinonas, por ejemplo: el aloin A y el aloe-emodin, como los más potentes para disminuir la presión arterial (Saleem et al., 2001), la absorción de glucosa (Beppu et al., 2006), modificar las cifras de glucosa e insulina plasmática en ratas con diabetes experimental (Beppu et al., 2003; Beppu et al., 2006) y neutralizar radicales libres (Beppu et al., 2003). Aunque el extracto utilizado en este experimento fue enriquecido en polifenoles y presentó buen efecto, no se puede afirmar que el aloin A y el aloe-emodin sean los únicos compuestos activos para proteger del deterioro metabólico ocasionado por la RI.

CONCLUSIONES

Los ratones con desnutrición intrauterina y bajo peso al nacimiento desarrollan alteraciones en las CTG y CTI consistentes con la RI y pueden utilizarse para la investigación de productos relacionados con esta patología.

Se corroboró el efecto hipoglucémico del extracto de AvEP.

La administración del extracto de AvEP disminuyó la RI e impidió el deterioro en el metabolismo de la glucosa.

El consumo diario del extracto de AvEP mejoró el funcionamiento de las células β en ratones con RI, medido con la fórmula HOMA- β .

PERSPECTIVAS

De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación se considera importante continuar con el estudio del *A. vera* sobre la RI, particularmente en los siguientes aspectos:

- ✚ Estudiar cuál o cuáles de los componentes encontrados en esta especie vegetal ejercen su efecto sobre la RI.

- ✚ Determinar si el extracto de *A. vera* posee efecto sobre el Síndrome Metabólico en su conjunto.

- ✚ Evaluar el efecto del *A. vera* y sus compuestos sobre el funcionamiento del páncreas, en modelos animales de RI y DM2.

- ✚ Establecer el efecto de *A. vera* sobre la obesidad y el tejido adiposo.

- ✚ Estudiar el efecto del *A. vera* sobre el metabolismo de los lípidos.

- ✚ Establecer el efecto de los diferentes compuestos de *A. vera* sobre sustancias inflamatorias como TNF- α e IL-6.

- ↓ Determinar si *A. vera* tiene algún potencial preventivo sobre el desarrollo de complicaciones asociadas con la RI, como aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares y DM2

REFERENCIAS

- ADA. 1998. Concensus development conference on insulin resistance: American Diabetes Association. *Diabetes Care* 21:310-314.
- Agarwal OP. 1985. Prevention of atheromatous heart disease. *Angiology* 36(8):485-492.
- Ajabnoor MA. 1998. Effect of aloes on blood glucose levels in normal and alloxan diabetic mice. *J Ethnopharmacol* 282:15-20.
- Alemán G, Torres N, Tovar AR. 2004. Los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) en el desarrollo de obesidad y resistencia a la insulina. *Rev Invest Clin* 56:351-367.
- Argueta VA, Camp AL, Rodarte ME. Sábila. En: Instituto Nacional Indigenista, editor. Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. México: 1994, p.1243-1245.
- Barker DJ, Hales CN, Fall CH, Osmond C, Phipps K, Clark PM. 1993. Type 2 (non-insulin dependent) diabetes mellitus, hypertension and hyperlipidaemia (syndrome X): relation to reduced fetal growth. *Diabetología* 36:62-67.
- Beppu H, Koike T, Shimpo K, Chihara T, Hoshino M, Ida C, Kuzuya H. 2003. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet B-cell destruction in rats. *J Ethnopharmacol* 89:37-45.
- Beppu H, Shimpo K, Chihara T, Kaneko T, Tamai I, Yamaji S, Ozaki S, Kuzuya H, Sonoda S. 2006. Antidiabetic effects of dietary administration of *Aloe arborescens* Miller components on multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components. *J Ethnopharmacol* 103:468-477.
- Beppu H, Nagamura Y, Fujita K. 1993. Hypoglycaemic and antidiabetic effects in mice of *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger. *Phytotherapy Res* 7:S37-S42.
- Berg AH, Combs TP, Du X, Brownlee M, Scherer PE. 2001. The adipocyte-secreted protein Acrp30 enhances hepatic insulin action. *Nat Med* 7:947-953.
- Birnbaum MJ. 2001. Turning down insulin signaling. *J Clin Invest* 108:655-659.
- Boden G, Cheung P, Stein TP, Kresge K, Mozzoli M. 2002. FFA cause hepatic insulin resistance by inhibiting insulin suppression of glycogenolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 283:E12-E19.

- Boden G, Laakso M. 2004. Lipids and glucose in type 2 diabetes. What is the cause and effect? *Diabetes Care* 27:2253-2259.
- Bolkent S, Akev N, Ozsoy N, Sengezer-Inceli M, Can A, Alper O, Yanardag R. 2004. Effect of *Aloe vera* (L.) Burm. fil. leaf gel and pulp extracts on kidney in type-II diabetic rat models. *Indian J Exp Biol* 42:48-52.
- Bonora E, Kiechl S, Willeit J, Oberhollenzer F, Egger G, Targher G, Alberiche M, Bonadonna RC, Muggeo M. 1998. Metabolic Disorders. The Bruneck Study. *Diabetes* 47:1643-1649.
- Braciale VL, Gavin JR, Bracéale TJ. 1982. Inducible expression of insulin receptors on T lymphocyte clones. *J Exp Med* 156:664-669.
- Brown SA, Garcia AA, Kouzekanani K, Hanis CL. 2002. Culturally competent diabetes self-management education for Mexican Americans: the Starr County border health initiative. *Diabetes Care* 25:259-268.
- Bunyapraphatsara N, Yongchaiyudha S, Rungpitarangsi V, Chokechaijaroenporn O. 1996. Antidiabetic activity of *Aloe vera* L. juice II. Clinical trial in diabetes mellitus patients in combination with glibenclamide. *Phytomedicine* 3:245-248.
- Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, Okyar A. 2004. Effect of *Aloe vera* leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biol Pharm Bull* 27:694-698.
- Chintra P, Sajithlal GB, Chandrakasan G. 1998. Influence of *Aloe vera* on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J Ethnopharmacol* 59:195-201.
- Chisalita SI, Arnvqvist HJ. 2004. Insulin-like growth factor I receptors are more abundant than insulin receptors in human micro and macrovascular endothelial cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 286:E896-E901.
- Cleasby ME, Dzamko N, Hegarty BD, Cooney GJ, Kraegen EW, Ye JM. 2004. Metformin prevents the development of acute lipid-induced insulin resistance in the rat through altered hepatic signaling mechanisms. *Diabetes* 53:3258-3266.
- Cohen B, Novick D, Rubinstein M. 1996. Modulation of insulin activities by leptin. *Science* 274:1185-1188.
- Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL. 1996. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med* 334:292-295.
- Craig WJ. 1999. Health-promoting properties of common herbs. *Am J Clin Nutr* 70:491S-499S.

- Dresner A, Laurent D, Marcucci M, Griffin ME, Dufour S, Cline GW, Slezak LA, Andersen DK, Hundal RS, Rothman DL, Petersen KF, Shulman GI. 1999. Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. *J Clin Invest* 103:253-259.
- Facchini FS, Hua N, Abbasi F, Reaven GM. 2001. Insulin resistance as a predictor of age-related diseases. *J Clin Endocrinol Metab* 86:3574-3578.
- Fernández-Real JM, Ricart W. 2003. Insulin resistance and chronic cardiovascular inflammatory syndrome. *Endocrine Reviews* 24:278-301.
- Ferrannini E. 1998. Insulin resistance versus insulin deficiency in non-insulin-dependent diabetes mellitus: Problems and prospects, *Endocrine Reviews* 19:477-490.
- Fielding BA, Frayn KN. 1998. Lipoprotein lipase and the disposition of dietary fatty acids. *Br J Nutr* 80:495-502.
- Fisher EA, Ginsberg HN. 2002. Complexity in the secretory pathway: the assembly and secretion of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *J Biol Chem* 277:17377-17380.
- Foley JE. 1992. Rationale and application of fatty acid oxidation inhibitors in treatment of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 15:773-784.
- Folli F, Kahn CR, Hansen H, Bouchie JL, Feener EP. 1997. Angiotensin II inhibits insulin signaling in aortic smooth muscle cells at multiple levels. *J Clin Invest* 100:2158-2169.
- Fröhlich M, Imhof A, Berg G, Hutchinson WL, Pepys MB, Boeing H, Mücke R, Brenner H, Koenig W. 2000. Association between C-reactive protein and features of the metabolic syndrome: a population-based study. *Diabetes Care* 23:1835-1839.
- Gervois P, Kleemann R, Pilon A, Koenig W, Staels B, Kooistra T. 2004. Global suppression of IL-6-induced acute phase response gene expression after in vivo chronic treatment with the peroxisome proliferator-activated receptor- α activator fenofibrate. *J Biol Chem* 279:16154-16160.
- Ginsberg HN. 2000. Insulin resistance and cardiovascular disease. *J Clin Invest* 106:453-458.
- Ginsberg HN. 2006. Review: efficacy and mechanisms of action of statins in the treatment of diabetic dyslipidemia. *J Clin Endocrinol Metab* 91:383-392.
- Goetze S, Bungenstock A, Chupalla C, Eilers F, Stawowy P, Kintscher U, Spencer-Hänsch Ch, Graf K, Nürnberg B, Law RE, Flecko E, Gräfe M. 2002. Leptin

- induces endothelial cell migration through Akt, which is inhibited by PPAR γ -Ligands. *Hypertension* 40:748-754.
- Goff DC, D'Agostino RB, Haffner SM, Saad ME, Wagenkneche LE. 2000. Lipoprotein Concentrations and Carotid Atherosclerosis by Diabetes Status. Results from the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care* 23:1006-1011.
- Grindlay D, Reynolds T. 1986. The *Aloe vera* phenomenon: a review of the properties and modern uses of the leaf parenchyma gel. *J Ethnopharmacol* 16:117-151.
- Grover JK, Yadav S, Vats V. 2002. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J Ethnopharmacol* 81:81-100.
- Gustafsson T, Andersson P, Chen Y, Magnusson JO, Arnqvist HJ. 1999. Interaction of angiotensin II and the insulin-like growth factor system in vascular smooth muscle cells. *Am J Physiol* 277:H499-H507.
- Hales CN, Barker DJ. 1992. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus: the thrifty phenotype hypothesis. *Diabetologia* 35:595-601.
- Hales CN. 1997. Non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Br Med Bull* 53:109-122.
- Helderman JF. 1981. Role of insulin in the intermediary metabolism of the activated thymic-derived lymphocyte. *J Clin Invest* 67:1636-1642.
- Helderman JH, Strom TB. 1979. Role of protein and RNA synthesis in the development of insulin binding sites on activated thymus-derived lymphocytes. *J Biol Chem* 254:7203-7207.
- Hernandez-Valencia M, Jimenez-Chillaron JC, Reamer C, Fisher S, Joszi A, Hirshman M, Oge A, Walrond S, Przybyla R, Boozer C, Goodyear LJ, Patti ME. 2005. Beta-cell secretory dysfunction in the pathogenesis of low birth weight-associated diabetes: a murine model. *Diabetes* 54:702-711.
- Hernández-Valencia M. 2006. Repercusión de las alteraciones en los mecanismos de señalización del receptor de insulina. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 44:383-388.
- Hoffstedt J, Arvidsson E, Sjolin E, Wahlen K, Arner P. 2004. Adipose tissue adiponectin production and adiponectin serum concentration in human obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 89:1391-1396.
- Horiuchi M, Mogi M, Iwai M. 2006. Signaling crosstalk angiotensin II receptor subtypes and insulin. *Endocrine J* 53:1-5.

- Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. 1995. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 95:2409-2415.
- Ichiki T, Usui M, Kato M, Funakoshi Y, Ito K, Egashira K, Takeshita A. 1998. Downregulation of angiotensin II type 1 receptor gene transcription by nitric oxide. *Hypertension* 31:342–348.
- Jandeleit-Dahm KA, Tikellis C, Reid CM, Johnston CI, Cooper ME. 2005. Why blockade of the renin-angiotensin system reduces the incidence of new-onset diabetes. *J Hypertens* 23:463-473.
- Julius S, Kjeldsen SE, Weber M, Brunner HR, Ekman S, Hansson L, Hua T, Laragh J, McInnes GT, Mitchell L, Plat F, Schork A, Smith B, Zanchetti A, VALUE trial group. 2004. Outcomes in hypertensive patients at high cardiovascular risk treated with regimens based on valsartan or amlodipine: the VALUE randomized trial. *Lancet* 363:2022-2031.
- Kahn BB, Flier JS. 2000. Obesity and insulin resistance. *J Clin Invest* 106:473-481.
- Kamide K, Rakugi H, Nagai M, Takiuchi S, Matsukawa N, Higaki J, Kawano Y, Ogihara T, Tuck ML. 2004. Insulin-mediated regulation of the endothelial renin-angiotensin system and vascular cell growth. *J Hypertens* 22:121-127.
- Karter AJ, Mayer-Davis EJ, Selby JV, D'Agostino RB, Haffner SM, Sholinsky P, Bergman R, Saad MF, Hamman RF. 1996. Insulin sensitivity and abdominal obesity in African-American, Hispanic, and non-Hispanic white men and women. The Insulin Resistance and Atherosclerosis Study. *Diabetes* 45:1547-1755.
- Kern PA, Ranganathan S, Li C, Wood L, Ranganathan G. 2001. Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 280:E745-E751.
- Kern PA. 1997. Potential role of TNF- α and lipoprotein lipase as candidate genes for obesity. *J Nutr* 127:1917S-1922S.
- Kuboki K, Jiang ZY, Takahara N, Ha SW, Igarashi M, Yamauchi T, Feener EP, Herbert TP, Rhodes CJ, King GL. 2000. Regulation of endothelial constitutive nitric oxide synthase gene expression in endothelial cells and in vivo: a specific vascular action of insulin. *Circulation* 101:676—681.
- Kubota T, Kubota N, Moroi M, Terauchi Y, Kobayashi T, Kamata K, Suzuki R, Tobe K, Namiki A, Aizawa S, Nagai R, Kadowaki T, Yamaguchi T. 2003. Lack of insulin receptor substrate-2 causes progressive neointima formation in response to vessel injury. *Circulation* 107:3073-3080.

- Lee JM, Ojumura MJ, Davis MM, Herman WH, Gurney JG. 2006. Prevalence and determinants of insulin resistance among U.S. adolescents. A population-based study. *Diab Care* 29:2427-2432.
- Liang ChP, Han S, Senokuchi T, Tall A. 2007. The macrophage at the crossroads of insulin resistance and atherosclerosis. *Cir Res* 100:1546-1555.
- Lindsay RS, Lindsay RM, Waddell BJ, Secki JR. 1996. Prenatal glucocorticoid exposure leads to offspring hyperglycaemia in the rat: studies with the 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase inhibitor carbenoxolone. *Diabetologia* 39:1299-1305.
- Liu W, Liu Y, Lowe WL. 2001. The role of phosphatidylinositol 3-kinase and the mitogen-activated protein kinases in insulin-like growth factor-1-mediated effects in vascular endothelial cells. *Endocrinology* 142:1710-1719.
- Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Haring HU. 2000. Pathophysiology and pharmacological treatment of insulin resistance. *Endocr Rev* 21:585-618.
- Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 28:412-419.
- Meneilly GS, Ryan EA, Radziuk J, Lau DC, Yale JF, Morais J, Chiasson JL, Rabasa-Lhoret R, Maheux P, Tessier D, Wolever T, Josse RG, Elahi D. 2000. Effect of acarbose on insulin sensitivity in elderly patients with diabetes. *Diabetes Care* 23:1162-1167.
- Missouri Botanical Garden. Disponible en: http://mobot.mobot.org/cgi-bin/search_vast, revisado el: 30 octubre 2007
- Montagnani M, Golovchenko I, Kim I, Koh GY, Goalstone ML, Mundhekar AN, Johansen M, Kuciok DF, Quon MJ, Draznin B. 2002. Inhibition of phosphatidylinositol 3-kinase enhances mitogenic actions of insulin in endothelial cells. *J Biol Chem* 277:1794-1799.
- Muoio DM, Dohm GL, Fiedorek FT, Tapscott EB, Coleman RA Dohn GL. 1997. Leptin directly alters lipid partitioning in skeletal muscle. *Diabetes* 46:1360-1363.
- Nagashima K, Lopez C, Donovan D, Ngai C, Fontanez N, Bensadoun A, Fruchart-Najib J, Oyeran S, Cohn JS, Ramakrishnan R, Henry N, Ginsberg HN. 2005. Effects of the PPAR γ agonist pioglitazone on lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 115:1323-1332.
- Nigro J, Osman N, Dart AM, Little PJ. 2006. Insulin resistance and atherosclerosis. *End Rev* 27:242-259.

- NOM-062-ZOO-1999 (revisada en 2001), 2001. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación, México, 1999.
- Nurjhan N, Consoli A, Gerich J. 1992. Increased lipolysis and its consequences on gluconeogenesis in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 89:169-175.
- Okyar A, Can A, Akev N, Baktir G, Sütlüpinar N. 2001. Effect of *Aloe vera* leaves on blood glucose level in type I and Type 2 diabetic Rat Models. *Phytotherapy Res* 15:157-61.
- Olaiz-Fernández G, Rivera-Dommarco J, Shamah-Levy T, Rojas R, Villalpando-Hernández S, Hernández-Avila M, Sepúlveda-Amor J. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2006. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública, 2006.
- Olsen MH, Fossum E, Hoiegggen A, Wachtell K, Hjerkin E, Nesbitt SD, Andersen UB, Philips RA, Gaboury CL, Ibsen H, Kjeldsen SE, Julius S. 2005. Long-term treatment with losartan versus atenolol improves insulin sensitivity in hypertension: ICARUS, a LIFE substudy. *J Hypertens* 23:891-898.
- Ozanne SE, Hales CN. 1999. The long term consequences of intrauterine protein malnutrition for glucose metabolism. *Proc Nutr Soc* 58:615-619.
- Pecere T, Gazzola VM, Mucignat C, Parolin C, Vecchia FD, Cavaggioni A, Basso G, Diaspro A, Salvato B, Carli M, Palu G. 2000. Aloe-emodin is a new type of anticancer agent with selective activity against neuroectodermal tumors. *Cancer Res* 60:2800-2804.
- Pessin JE, Saltiel AR. 2000. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. *J Clin Invest* 106:165-169.
- Pickavance LC, Brand CL Wassermann K, Wilding JP. 2005. The dual PPAR α / γ agonist, ragaglitazar, improves insulin sensitivity and metabolic profile equally with pioglitazone in diabetic and dietary obese ZDF rats. *Br J Pharm* 144:308-316.
- Pittas AG, Joseph NA, Greenber AS. 2004. Adipocytokines and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab* 89:447-452.
- Poggi P. 2001. Sfogliando l'*Aloe vera*. *Erbosteria Domani Giugno* 2001:50-59.
- Pradhan AD, Manson JE, Rifai N, Buring JE, Ridker PM. 2001. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. *JAMA* 286:327-334.
- Qiu Z, Jones K, Wylie M, Jia Q, Omdorff S. 2000. Modified *Aloe barbadensis* polysaccharide with immunoregulatory activity. *Planta Med* 66:152-156.

- Quiñones MJ, Hernandez-Pampaloni M, Schelbert H, Bulnes-Enriquez I, Jimenez X, Hernández G, De la Rosa R, Chon Y, Yang H, Nicholas SB, Modilevsky T, Yu K, Van Herle K, Castellani LW, Elashoff R, Hsueh WA. 2004. Coronary vasomotor abnormalities in insulin-resistant individuals. *Ann Intern Med* 140:700-708.
- Reaven GM. 1988. Banting lecture. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37:1595-1607.
- Resnick LM. 1992. Cellular ions in hypertension, insulin resistance, obesity, and diabetes: A unifying theme. *J Am Soc Nephrol* 3:S78-S85.
- Reynolds T, Dweck AC. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. *J Ethnopharmacol* 68:3-37
- Riddle JM. 2004. Kidney and urinary therapeutics in early medieval monastic medicine. *J Nephrol* 17:324-328.
- Roith DL, Zick Y. 2001. Recent advances in our understanding of insulin action and insulin resistance. *Diabetes Care* 24:588-597.
- Ruan H, Hacoheh N, Golub TR, Van Parijs L, Lodish HF. 2002. Tumor necrosis factor- α suppresses adipocyte-specific genes and activates expression of preadipocyte genes in 3T3-L1 adipocytes: nuclear factor- κ B activation and TNF- α is obligatory. *Diabetes* 51:1319-1336.
- Saleem R, Faizi S, Siddiqui BS, Ahmed M, Hussain SA, Qazi A, Dar A, Ahmad SI, Qazi MH, Akhtar S, Hasnain SN. 2001. Hypotensive effect of chemical constituents from *Aloe barbadensis*. *Planta Med* 67:757-60.
- Saltiel AR, Kahn CR. 2001. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 414:799-806.
- Saltiel AR. 2000. The molecular and physiological basis of insulin resistance: emerging implications for metabolic and cardiovascular diseases. *J Clin Invest* 106:163-164.
- Samuel VT, Liu ZX, Qu X, Elder BD, Bilz S, Befroy D, Romanelli AJ, Shulman GI. 2004. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Biol Chem* 279:32345-32353.
- Schoonjans K, Auwerx J. 2000. Thiazolidinediones: an update. *Lancet* 355:1008-10.
- Semenkovich CF. 2006. Insulin resistance and atherosclerosis. *J Clin Invest* 116:1813-1822.
- Sheu WH, Shieh SM, Fuh MM, Shen DD, Jeng CY, Chen YD, Reaven GM. 1993. Insulin resistance, glucose intolerance, and hyperinsulinemia.

- Hypertriglyceridemia versus hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 13:367-370.
- Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, Tzameli I, Yin H, Flier J. 2006. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. *J Clin Invest* 116:3015-3025.
- Shintani M, Nishimura H, Yonemitsu S, Ogawa Y, Hayashi T, Hosoda K, Inoue G, Nakao K. 2001. Troglitazone not only increases GLUT4 but also induces its translocation in rat adipocytes *Diabetes* 50:2296-2300.
- Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. 2006. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest* 116:1793-1801.
- Shulman GI. 2004. Unraveling the cellular mechanism of insulin resistance in humans: new insights from magnetic resonance spectroscopy. *Physiology (Bethesda)* 19:183-190.
- Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. 2001. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 409:307-312.
- Sung RY, Tong PC, Yu CW, Lau PW, Mok GT, Yam MC, Lam PK, Chan JC. 2003. High prevalence of insulin resistance and metabolic syndrome in overweight/obese preadolescent Hong Kong Chinese children aged 9-12 years. *Diabetes care* 26:250.
- Sykiotis GP, Papavassiliou AG. 2001. Serine phosphorylation of insulin receptor substrate-1: a novel target for the reversal of insulin resistance. *Mol Endocrinol* 15:1864-1869.
- Szanto I, Kahn CR. 2000. Selective interaction between leptin and insulin signaling pathways in a hepatic cell line. *Proc Natl Acad Sci* 97:2355-2360.
- Takemoto M, Egashira K, Usui M, Numaguchi K, Tomita H, Tsutsui H, Shimokawa H, Sueishi K, Takeshita A. 1997. Important role of tissue angiotensin-converting enzyme activity in the pathogenesis of coronary vascular and myocardial structural changes induced by long-term blockade of nitric oxide synthesis in rats. *J Clin Invest* 99:278-28.
- Tan BK, Vanitha J. 2004 Immunomodulatory and antimicrobial effects of some traditional chinese medicinal herbs: a review. *Curr Med Chem* 11:1423-1430.
- Teno S, Uto Y, Nagashima H, Endoh Y, Iwamoto Y, Omori Y, Takizawa T. 2000. Association of postprandial hypertriglyceridemia and carotid intima-media thickness in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 23:1401-1406.

- Tsigos C, Papanicolaou DA, Kyrou I, Defensor R, Mitsiadis CS, Chrousos GP. 1997. Dose-dependent effects of recombinant human interleukin-6 on glucose regulation. *J Clin Endocrinol Metab* 82:4167-4170.
- Tsuchida A, Yamauchi T, Takekawa S, Hada Y, Ito Y, Maki T, Kadowaki T. 2005. Peroxisome proliferator activated receptor (PPAR) alpha activation increases adiponectin receptors and reduces obesity-related inflammation in adipose tissue: comparison of activation of PPARalpha, PPARgamma, and their combination. *Diabetes* 54:3358-3370.
- Viner RM, Segal TY, Lichtarowicz-Krynska E, Hindmarsh P. 2005. Prevalence of the insulin resistance syndrome in obesity. *Arch Dis Child* 90:10-14.
- Vogler BK, Ernst E. 1999. *Aloe vera*: a systematic review of its clinical effectiveness. *British J Gen Pract* 49:823-828.
- Walcher D, Aleksic M, Jerg V, Hombach V, Zieske A, Homma S, Strong J, Marx N. 2004. C-peptide induces chemotaxis of human CD4-positive cells: involvement of pertussis toxin-sensitive G-proteins and phosphoinositide 3-kinase. *Diabetes* 53:1664-1670.
- Warram JH, Martín BC, Krolewski AS, Soeldner JS, Kahn CR. 1990. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type 2 diabetes in the offspring of diabetic patients. *Ann Intern Med* 113:909-915.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. 2005. Inflammation, stress, and diabetes. *J Clin Invest* 115:1111-1119.
- Weyer C, Bogardus C, Mott MD, Pratley ERF. 1999. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Invest* 104:787-794.
- Weyer C, Hanson RL, Tataranni PA, Bogardus C, Pratley RE. 2000. A high fasting plasma insulin concentration predicts type 2 diabetes independent of insulin resistance: evidence for a pathogenic role of relative hyperinsulinemia. *Diabetes* 49:2094-2101.
- WHO/FAO Expert Consultation. En: WHO Technical Report Series 916 (eds.). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Report of a Joint WHO/FAO Expert Consultation. Ginebra:2003, p. 65
- Wight TN, Merrilees MJ. 2004. Proteoglycans in atherosclerosis and restenosis: key roles for versican. *Circ Res* 94:1158-1167.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. 2004. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 27:1047-1053.

- Winters WD, Bouthet C. 1995. Polypeptides of *Aloe barbadensis* Miller. *Phytotherapy Res* 9:395-400
- Wolever TM, Campbell JE, Geleva D, Anderson GH. 2004. High-fiber cereal reduces postprandial insulin responses in hyperinsulinemic but not normoinsulinemic subjects. *Diabetes Care* 27:1281-1285.
- World Health Organization. Aloe. En: WHO (eds.) WHO Monographs on Selected Medicinal Plants. Malta:1999, pp.33-49.
- Xu A, Wang Y, Keshaw H, Xu LY, Lam KS, Cooper GJ. 2003. The fat derived hormone adiponectin alleviates alcoholic and nonalcoholic fatty liver diseases in mice. *J Clin Invest* 112:91-100.
- Yamauchi T, Kamon J, Ito Y, et al. 2003. Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. *Nature* 423:762-769.
- Yamauchi T, Kamon J, Waki H et al. 2001. The fat-derived hormone, adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 7:941-946.
- Yaron A. 1993. Characterization of *Aloe vera* gel before and after autodegradation, and stabilization of the natural fresh gel. *Phytotherapy Res* 7:S11-13.
- Yi-Hao Y, Ginsberg HN. 2005. Adipocyte signaling and lipid homeostasis. Seguelae of insulin-resistant adipose tissue. *Cir Res* 96:1042-1052.
- Yongchaiyudha S, Rungpitarangsi V, Bunyapraphatsara N, Chokeyaijaroenporn O. 1996. Antidiabetic activity of *Aloe vera* L. juice. I. Clinical trial in new cases of diabetes mellitus. *Phytomedicine* 3:241-243.
- Yost TJ, Froyd KK, Jensen DR, Eckel RH. 1995. Change in skeletal muscle lipoprotein lipase activity in response to insulin/glucose in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 44:786-790.
- Yu Y, Ginsberg HN. 2005. Adipocyte signaling and lipid homeostasis. *Circ Res* 96:1042-1052.

The American Journal of Chinese Medicine, Vol. 35, No. 6, 1037–1046
© 2007 World Scientific Publishing Company
Institute for Advanced Research in Asian Science and Medicine

Effect of a Polyphenol-Rich Extract from *Aloe vera* Gel on Experimentally Induced Insulin Resistance in Mice

Yolanda Y. Pérez,^{*†} Enrique Jiménez-Ferrer,^{*} Alejandro Zamilpa,^{*}
Marcelino Hernández-Valencia,[†] Francisco J. Alarcón-Aguilar,[‡] Jaime Tortoriello^{*}
and Rubén Román-Ramos[‡]

^{*}*Centro de Investigación Biomédica del Sur, Instituto Mexicano del Seguro Social
Xochitepec, Morelos, México*

[†]*Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma Metropolitana (UAM)
Mexico City, Mexico*

[‡]*Laboratorio de Investigación en Enfermedades Endocrinológicas
Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN-SXXI), IMSS, Mexico City, Mexico*

[§]*División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I), Mexico City, Mexico*

Abstract: Insulin resistance, which precedes type 2 diabetes mellitus (T2DM), is a widespread pathology associated with the metabolic syndrome, myocardial ischemia, and hypertension. Finding an adequate treatment for this pathology is an important goal in medicine. The purpose of the present research was to investigate the effect of an extract from *Aloe vera* gel containing a high concentration of polyphenols on experimentally induced insulin resistance in mice. A polyphenol-rich *Aloe vera* extract (350 mg/kg) with known concentrations of aloin (181.7 mg/g) and aloe-emodin (3.6 mg/g) was administered orally for a period of 4 weeks to insulin resistant ICR mice. Pioglitazone (50 mg/kg) and bi-distilled water were used as positive and negative controls respectively. Body weight, food intake, and plasma concentrations of insulin and glucose were measured and insulin tolerance tests were performed. The insulin resistance value was calculated using the homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA-IR) formula. Results showed that the polyphenol-rich extract from *Aloe vera* was able to decrease significantly both body weight ($p < 0.008$) and blood glucose levels ($p < 0.005$) and to protect animals against unfavorable results on HOMA-IR, which was observed in the negative control group. The highest glucose levels during the insulin tolerance curve test were in the negative control group when compared to the *Aloe vera* extract and

Correspondence to: Dr. Yolanda Y. Pérez, Centro de Investigación Biomédica del Sur (CIBIS-IMSS), Argentina No. 1, Colonia Centro, Xochitepec, Morelos, México, CP 62790. Tel/Fax: (+777) 3-612-155, E-mail: perezzy@yahoo.com

pioglitazone treated mice ($p < 0.05$). In conclusion, *Aloe vera* gel could be effective for the control of insulin resistance.

Keywords: *Aloe vera* Gel; Aloin; Aloe-Emodin; Insulin Resistance; Medicinal Plants.

Introduction

Insulin resistance (IR), defined as an impaired biological response to the action of insulin (ADA, 1998), is a precursor of type 2 diabetes mellitus (T2DM) with pleiotrophic effects, including several metabolic syndrome features such as dyslipidaemia and the direct promotion of atheroma formation (Jadhav *et al.*, 2004). High IR prevalence increases with age (Marques-Vidal *et al.*, 2002) and is present in approximately 50% of persons with hypercholesterolemia and/or hypertension (Bonora *et al.*, 1998).

IR predicts and proceeds by 10 years T2DM (Warram *et al.*, 1990; Hanley *et al.*, 2005). Reaven (1988) proposed that this pathological condition is the foundation of the metabolic syndrome, the most wide-spread pathology of new millennium (Reaven, 1988; IDF, 2005). In addition, IR is associated with myocardial ischemia (Serné *et al.*, 1999) and polycystic ovary syndrome (PCOS) (Dunaif, 1997) and is a major risk factor for cancer development (Reaven, 2005).

The pharmacological treatment of T2DM manages IR using peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) gamma and alpha agonists. Since it is difficult to quantify insulin resistance in daily practice (IDF, 2005), there are several methods to estimate it, such as the homeostasis model assessment for insulin resistance formula (HOMA-IR) (Matthews *et al.*, 1985). The HOMA model yields an estimate of insulin sensitivity and beta cell function (HOMA- β) from fasting plasma insulin and glucose concentrations (Matthews *et al.*, 1985). Recently, this model has also been used in laboratory animals (Tomie-Furuya *et al.*, 2005).

Aloe vera (L.) Burm. is a perennial plant of the Liliaceae family. The internal part of the leaf, called gel, is colorless, mucilaginous, and has a slightly bitter flavor (WHO, 1999a). It is composed mainly of large polysaccharide chains (Yaron, 1993). It also contains proteins (Winters and Bouthet, 1995) and anthraquinones in low quantities (Vázquez *et al.*, 1996; Reynolds and Dweck, 1999). The yellow-brown, bitter-flavored exudate obtained after cutting the leaves is known as juice, and has a high content of polyphenolic compounds, mainly aloin (15–40%) and aloe-emodin (WHO, 1999b).

Reports suggest that *Aloe vera* has been used for T2DM control since the Middle Ages (Riddle, 2004). At present, there are many reports of its use by Mexican-Americans in the United States of America (Brown *et al.*, 2002), as well as in Middle Eastern and Asian countries such as Saudi Arabia (Riddle, 2004), India (Grover *et al.*, 2002), and Thailand (Yongchaiyudha *et al.*, 1996). There are some investigations confirming the beneficial properties of *Aloe vera* gel and its polyphenolic compounds in the control of T2DM and its complications (Beppu *et al.*, 1993; 2003; 2006; Chintra *et al.*, 1998; Can *et al.*, 2004). Clinical trials in humans have also been conducted (Bunyaphatsara *et al.*, 1996; Yongchaiyudha *et al.*, 1996), showing promising results with little side-effects.

The objective of this study was to investigate the effect of a polyphenol-enriched *Aloe vera* gel on IR, which is the pathophysiological basis on which T2DM and the metabolic syndrome have their origin (Reaven, 1998). The effect of *Aloe vera* gel was tested on insulin resistant ICR male mice by measurements of body weight, food intake, insulin resistance, fasting glucose, and insulin levels in plasma as well as the insulin tolerance test

Materials and Methods

Plant Material

Whole fresh leaves of *Aloe vera* were collected from a controlled crop in Xochitepec, Morelos State, Mexico. Plant material was identified and authenticated at the Medicinal Plant Herbarium, Instituto Nacional de Antropología e Historia (INAH-Herbarium), where a voucher specimen was stored for reference under the code number 2029.

Preparation of the Polyphenol-Rich Extract from Aloe vera (PEAv)

Aloe vera leaves were washed and cut from the base, and the gelatinous pulp was extracted with a metallic spoon. The juice containing the polyphenolic compounds was collected after cutting and was added to the pulp and then homogenized, filtered, and evaporated to dryness at 30°C by rotary evaporation. The powder obtained (soluble solids) was kept in 3 ml containers at -20°C until use.

Anthraquinones Quantification

Samples were analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). The HPLC equipment consisted of a Waters 2695 Separations Module System equipped with a Waters 996 PDA UV detector and Empower Chromatography Manager version 1 software (Waters). Analysis was performed with a Merck Chromolith RP-18 column. The mobile phase consisted of linear water/acetonitrile gradient with an initial concentration of 20% acetonitrile that increased to 30% in 3 min; this concentration was maintained for 5 min and then continued to increase to 50% acetonitrile in 2 min, which was followed by a re-equilibration step (to 20% acetonitrile) during 2 min prior to the next injection. The flow rate was maintained at 1 mL/min, the column temperature was maintained at 30°C, and the injection volume was 20 µL. Identification of chromatographic peaks was estimated using a PDA 230–600 nm with a 356 nm detection wavelength. All solvents were HPLC grade (Merck). AloinA of 97% purity by HPLC and aloe-emodin of 95% purity by HPLC were supplied by Sigma Chemical Co. AloinA and aloe emodin showed retention times of 3.91 min and of 6.33 min, respectively.

For the quantitative determination of aloinA and aloe-emodin, commercial anthraquinones aloinA and aloe-emodin were employed as standards. Calibration curves based on the

peak areas of the HPLC chromatograms were constructed using 4-point dilutions of each compound: 125, 250, 500, and 1000 µg/mL in methanol ($R^2 = 0.99$ and 0.98 for aloinA and aloe-emodin, respectively). All compounds were detected at 356 nm, using injection volumes of 70 µL. Experiments were performed by triplicate, and values were expressed in terms of dry weight in grams. *Aloe vera* sample injections (70 µL, 4 mg/ml) displayed the concentrations of aloinA and aloe-emodin present in the sample. The total anthraquinone amount was obtained by addition of aloinA and aloe-emodin quantities.

Animals

Male ICR mice with low birth body weights induced experimentally by intrauterine malnutrition (pregnant females received a 50% restriction in food intake) were used (Hernandez-Valencia *et al.*, 2005). These mice were provided by the CIBIS animal house. Animals were kept in an air-conditioned room with a 12-hour light–12-hour dark cycle, with free access to water and food. To select insulin resistant animals, an insulin tolerance test was performed on fed animals at the age of 6 months. Mice with less than 30% diminished glycemia were considered insulin resistant and were included in the experiment. Handling of the studied mice was conducted in agreement with the statutes of the Institutional Committee for the Care and Use of the Animals (CICUAL) and by the Official Mexican Rule (NOM-062-ZOO-1999, revised in 2001).

Treatments

Twenty five animals were included and randomly assigned to three different treatment groups. Group 1 ($n = 9$), the control, received 5 µl/g of drinking water. Group 2 ($n = 8$), the positive control, received 50 mg/kg of pioglitazone (Zactos, 15 mg tablets, Takeda Chemical Industries, Ltd., Japan, and Eli Lilly and Company, Lilly Corporate Center, USA). Group 3 ($n = 8$), the experimental group, received 350 mg/kg of polyphenol-rich *Aloe vera* gel extract (PEAv). All treatments were administered daily by gastric tube at 9 am for 4 weeks. The extract and pioglitazone were dissolved in drinking water to reach a volume of administration equal to 5 µl/g of body weight.

Physical and Biochemical Analyses

The body weight of animals was measured three times per week, on alternate days, while food intake was measured during 3 continuous days each week. To obtain biochemical analyses, blood samples (200 µL) were obtained from the tail vein, in 12-hour fasted mice, prior to and at the end of treatment. Glucose was determined immediately, and the remaining blood was centrifuged at 3,500 rpm for 7 min; the serum was separated and stored at -20°C until the insulin level determination.

Insulin was measured with the ELISA method specific for mice using Linco Research Lab (USA) reagents. Glucose was quantified by means of the enzymatic glucose-oxidase-

peroxidase method using reactive strips and an Ascencia Elit glucometer (Bayer, Germany). The index of insulin resistance and β -cell function were calculated with the homeostasis model assessment formulas (Matthews *et al.*, 1985); for insulin resistance, HOMA-IR = fasting insulin ($\mu\text{U ml}^{-1}$) \times fasting glucose (mM)/22.5, and for β -cell function, HOMA- β = (fasting insulin ($\mu\text{U ml}^{-1}$) \times 20)/(fasting glucose (mM)-3.5).

After 4 weeks of treatment, an insulin tolerance test (regular insulin 0.75 UI/kg, Regular Humulin, Lilly France, S.A., France) was performed on fed animals. Glucose levels were measured on tail vein blood (20 μl) at 0 min (basal) and at 15, 30, and 60 min after intraperitoneal (i.p.) insulin injection.

Statistical Analysis

All results were expressed as mean \pm standard error of mean (SEM). Differences among the groups were calculated using one-way ANOVA. The Tukey *post-hoc* test was applied to determine the magnitude of these differences. Statistical significance was obtained when p values were < 0.05 . All statistical tests were carried out utilizing the SPSS program for Windows version 11.0.

Results

The content of aloinA and aloe-emodin in PEAv were 181.5 and 3.6 mg/g, respectively. The total content of anthraquinones was 185.1 mg/g.

As illustrated in Table 1, from the beginning of the treatment, PEAv was able to reduce body weight. This effect was statistically different ($p = 0.008$) from that produced by pioglitazone alone in the first week. The control group displayed inconsistent changes in body weight. As illustrated in Table 2, food intake was reduced in the PEAv group, mainly at the fourth treatment week.

Fasting blood glucose before treatment was 5.4 ± 0.1 mM/dL; after 4 weeks of treatment, this value was significantly ($p < 0.005$) increased, reaching 7.3 ± 0.45 mM/dL in the control group. Treatment with pioglitazone did not result in a significant change in this parameter (6.2 ± 0.1 mM/dL), while treatment with the PEAv extract produced a significant ($p < 0.005$) reduction in glycemia (4.7 ± 0.1 mM/dL) (Table 3). Final insulin levels demonstrated no statistically significant differences.

While insulin resistance increased in the control group from 5.7 ± 0.70 to 7.7 ± 0.78 ($p < 0.05$), the pioglitazone and PEAv groups did not exhibit changes in this parameter (5.7 ± 0.52 [$p > 0.05$]) and 5.5 ± 0.50 [$p > 0.05$], respectively). These results demonstrate the ability of PEAv to protect mice from the impairment observed in the control group (Table 3). β -cell function calculated with the HOMA- β formula increased significantly ($p = 0.001$) in the PEAv-treated group when compared with the beginning and final data of both the pioglitazone-treated and the control groups (Table 3).

The insulin tolerance test showed that the glucose levels, at times 0, 15, and 30 min, were similar in the PEAv (127 ± 5.3 , 96 ± 6 , and 87 ± 7.7 mg/dL) and pioglitazone

Table 1. Effect of PEAv (350 mg/kg) and Pioglitazone (50 mg/kg) Treatment on Body Weight (g) of Insulin Resistant Mice

Treatment\Body Weight Differences	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Control	-1.53 ± 0.58	1.04 ± 0.23	-2.65 ± 0.31	-0.65 ± 0.56
Pioglitazone	-0.09 ± 0.74	-1.62 ± 0.55	-0.78 ± 0.32	-0.92 ± 0.17
PEAv	-3.09 ± 0.6*	-1 ± 0.34	-1.02 ± 0.25	-0.93 ± 0.28

PEAv: Polyphenol-rich extract from *Aloe vera* gel. Data are means ± SEM of differences on body weight. *p = 0.008 vs. control.

Table 2. Effect of PEAv (350 mg/kg) and Pioglitazone (50 mg/kg) Treatment on Food Intake (g) in Insulin Resistant Mice

Treatment\Food Intake	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
Control	4.31 ± 0.26	4.59 ± 0.22	4.3 ± 0.2	5.07 ± 0.25
Pioglitazone	4.12 ± 0.4	4.13 ± 0.22	3.98 ± 0.17	4.21 ± 0.15*
PEAv	3.63 ± 0.36	4.05 ± 0.26	3.98 ± 0.24	3.96 ± 0.2*

PEAv: Polyphenol-rich extract from *Aloe vera* gel. Data represents median ± SEM. *p = 0.001 vs. control.

Table 3. Effect of PEAv (350 mg/kg) and Pioglitazone (50 mg/kg) Treatment on Blood Glucose, Insulin, HOMA-IR and HOMA-β of ICR Insulin Resistant Mice

Treatment	Glucose ^a Media ± SEM	Insulin ^a Media ± SEM	HOMA-IR Media ± SEM	HOMA-β Media ± SEM
Control	7.3 ± 0.10	23.6 ± 2.2	7.7 ± 0.78	125 ± 10
Pioglitazone	6.2 ± 0.45	21.7 ± 2.9	5.7 ± 0.52	212 ± 63
PEAv	4.7 ± 0.10*	26.7 ± 2.6	5.5 ± 0.50**	481 ± 70*

PEAv: Polyphenol-rich extract from *Aloe vera* gel. ^aIn 12-hour fasted mice. *p ≤ 0.005 vs. pioglitazone and control groups; **p < 0.05 vs. control.

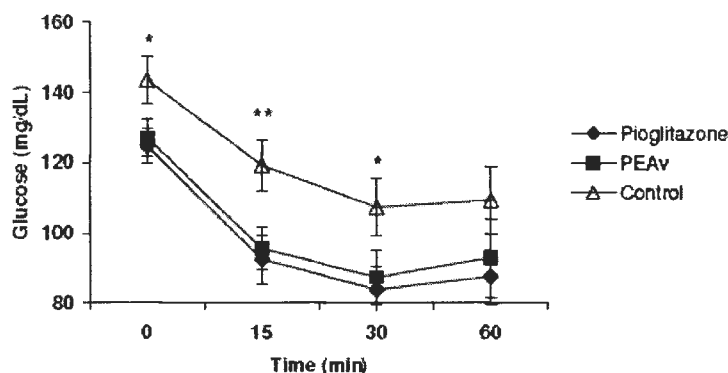


Figure 1. Effect produced by 4 weeks of daily administration of PEAv (350 mg/kg), pioglitazone (50 mg/kg), or drinking water (control) on the insulin tolerance curve (0.75 U/kg, i.p.) in insulin resistant mice. *p < 0.05; **p < 0.01. Data are means ± SEM.

(125 ± 5 , 93 ± 7 , and 84 ± 6.6 mg/dL). However, the control group had higher measurements of glucose (144 ± 6.9 , 119 ± 7.2 , and 107 ± 8.2 mg/dL), with a $p < 0.05$; < 0.01 , and < 0.05 , respectively (Fig. 1).

Discussion

The objective of this research was to investigate the effect of a polyphenol-enriched *Aloe vera* gel extract (PEAv) on insulin resistance. Insulin resistance was produced by the intrauterine malnutrition of ICR mice, which is in agreement with results obtained by Hernández-Valencia *et al.* (2005), where ICR mice with low birth body weight had, among other alterations, insulin resistance.

In the present investigation, the ability of PEAv to decrease fasting glucose levels was confirmed and was compared to that of pioglitazone. A similarity was found between these two compounds; for example, both pioglitazone and PEAv protected mice from the metabolic imbalances observed in the control group. However, PEAv alone was able to raise the HOMA- β value. The evident improvements produced by PEAv could be explained by a reduction in blood glucose, a slight increment in plasma insulin levels, and a protective effect on pancreatic β -cells. These results are in agreement with other reports regarding polyphenolic compounds from *Aloe vera* (Beppu *et al.*, 1993; 2006).

Aloe gel could be aiding mice with IR by acting as a dietary fiber. The beneficial effect of dietary fiber on body weight and blood glucose levels has been proven previously and was observed in this study. Fiber acts as a delaying agent in food digestion and intestinal absorption (Wolever *et al.*, 2004). Aloin, the glycosylated phenol compound found both in *Aloe arborescens* gel and in high concentrations in PEAv, reduces glucose absorption in the small intestine (Beppu *et al.*, 2006). In addition, the high molecular weight polysaccharides present in the gel could also produce a fiber-like effect.

The beneficial effect of *Aloe vera* gel on the different manifestations of IR could be related to its anti-inflammatory capacity. It has been established that there is a relationship between a pro-inflammatory state and IR. There is growing evidence that IR in liver, muscle, and adipose tissue is not only associated with pro-inflammatory cytokines, but also is a direct result of this condition. Thus, it is reasonable to suggest that reducing the pro-inflammatory state has beneficial effects on IR.

The antioxidants present in *Aloe vera* gel could also be of benefit in decreasing IR. The beneficial effect on antioxidants on diabetic rats has been demonstrated (Beppu *et al.*, 2003; Can *et al.*, 2004). It has also been suggested that the action of antioxidants is important in medicinal plants used in the control of T2DM (Rajasekaran *et al.*, 2005).

The present investigation is the first to treat experimental IR with *Aloe vera* gel. Nevertheless, because a complete extract was used, it is not possible to define which components of the *Aloe vera* gel are responsible for the effect, since all polysaccharides and polyphenols administered orally can be absorbed. Because an immunomodulatory effect has been verified in nearly all *Aloe vera* gel components, it is possible that several compounds act synergistically through several different mechanisms. However, reports

regarding fractionated *Aloe vera* gel point towards polyphenols, such as aloin and aloemodin, as the most powerful agents for diminishing glucose absorption and modifying glucose and insulin levels in diabetic mice (Beppu *et al.*, 2006); in addition, they are also free-radical scavengers (Beppu *et al.*, 2003). Further pharmacological and phytochemical studies are required to uncover the bioactive compounds that protect mice from insulin sensitivity impairment.

In conclusion, the treatment of insulin resistant mice with a polyphenol-enriched *Aloe vera* gel extract (PEAv) diminished their insulin resistance, as is shown by the decrease in blood glucose levels without a significant increment in plasma insulin levels. This herbal extract may be beneficial in combination with dietary measures and medications for the control of T2DM patients with IR.

Acknowledgments

The authors would like to thank Margarita Aviles, M.Sc., and Macrina Fuentes, MSc, for assistance in identification of plant specimens. We also wish to acknowledge the help of Katharine M. Román, MD, and Mr. Yuriy Román from the University of Wisconsin-Madison for their collaboration in the revision of the English writing of this paper.

References

- ADA. Consensus Development Conference on Insulin Resistance: American Diabetes Association. *Diabetes Care* 21: 310–314, 1998.
- Beppu, H., Y. Nagamura and K. Fujita. Hypoglycaemic and antidiabetic effects in mice of *Aloe arborescens* Miller var. *natalensis* Berger. *Phytotherapy Res.* 7: S37–S42, 1993.
- Beppu, H., T. Koike, K. Shimpo, T. Chihara, M. Hoshino, Ch. Ida and H. Kuzuya. Radical-scavenging effects of *Aloe arborescens* Miller on prevention of pancreatic islet B-cell destruction in rats. *J. Ethnopharmacol.* 89: 37–45, 2003.
- Beppu, H., K. Shimpo, T. Chihara, T. Kaneko, I. Tamai, S. Yamaji, S. Ozaki, H. Kuzuya and S. Sonoda. Antidiabetic effects of dietary administration of *Aloe arborescens* Miller components on multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: Investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components. *J. Ethnopharmacol.* 103: 468–477, 2006.
- Bonora, E., S. Kiechl, J. Willeit, F. Oberhollenzer, G. Egger, G. Targher, M. Alberiche, R.C. Bonadonna and M. Muggeo. Prevalence of insulin resistance in metabolic disorders: the Bruneck Study. *Diabetes* 47: 1643–1649, 1998.
- Brown, S.A., A.A. Garcia, K. Kouzekanani and C.L. Hanis. Culturally competent diabetes self-management education for mexican americans. The Starr County Border Health Initiative. *Diabetes Care* 25: 259–268, 2002.
- Bunyaphatsara, N., S. Yongchaiyudha, V. Rungpitarangsi and O. Choekchaijaroenporn. Antidiabetic activity of *Aloe vera* L. juice II. Clinical trial in diabetes mellitus patients in combination with glibenclamide. *Phytomedicine* 3: 245–248, 1996.
- Can, A., N. Akev, N. Ozsoy, S. Bolkent, B.P. Arda, R. Yanardag and A. Okyar. Effect of *Aloe vera* leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biol. Pharm. Bull.* 27: 694–698, 2004.

- Chintra, P., G.B. Sajithlal and G. Chandrakasan. Influence of Aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.* 59: 195–201, 1998.
- Dunaif, A. Insulin Resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocrine Rev.* 18: 774–800, 1997.
- Grover, J.K., S. Yadav and V. Vats. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J. Ethnopharmacol.* 81: 81–100, 2002.
- Hanley, A.J., A.J. Karter, K. Williams, A. Festa, R. D'Agostino, L.E. Wagenknecht and S.M. Haffner. Prediction of type 2 diabetes mellitus with alternative definitions of the metabolic syndrome. *Circulation* 112: 3713–3721, 2005.
- Hernandez-Valencia, M., J.C. Jimenez-Chillaron, C. Reamer, S. Fisher, A. Joszi, M. Hirshman, A. Oge, Sh. Walrond, R. Przybyla, C. Boozer, L.J. Goodyear and M. Patti. B-cell secretory dysfunction in the pathogenesis of low birth weight-associated diabetes. A murine model. *Diabetes* 54: 702–710, 2005.
- International Diabetes Federation. Worldwide definition of the metabolic syndrome. Available at: http://www.idf.org/webdata/docs/IDF_Metasyndrome_definitin.pdf. Accessed 8 February 2006.
- Jadhav, S., J. Petrie, W. Ferrell, S. Cobbe and N. Sattar. Insulin resistance as a contributor to myocardial ischaemia independent of obstructive coronary atheroma: a role for insulin sensitisation? *Heart* 90: 1379–1383, 2004.
- Matthews, D.R., J.P. Hosker, A.S. Rudenski, B.A. Naylor, D.F. Treacher and R.C. Turner. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 28: 412–419, 1985.
- Marques-Vidal, P., E. Mazoyer, V. Bongard, P. Gourdy, J. Ruidavets, L. Drouet, V. Bongard, J. Ferrieres and P. Gourdy. Prevalence of insulin resistance syndrome in southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers. *Diabetes Care* 25: 1371–1377, 2002.
- NOM-062-ZOO-1999 (revised in 2001), 2001. Norma Oficial Mexicana. Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Diario Oficial de la Federación, México, 1999.
- Rajasekaran, S., K. Sivagnanam and S. Subramanian. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol. Rep.* 57: 90–96, 2005.
- Reaven, G.M. Banting Lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595–1607, 1988.
- Reaven, G.M. The metabolic syndrome: requiescat in pace. *Clin. Chem.* 51: 931–938, 2005.
- Reynolds, T. and A.C. Dweck. Aloe vera leaf gel: a review update. *J. Ethnopharmacol.* 68: 3–37, 1999.
- Riddle, J.M. Kidney and urinary therapeutics in early medieval monastic medicine. *J. Nephrol.* 17: 324–328, 2004.
- Serné, E.H., C.D.A. Stehouwer, J.C. ter Maaten, P.M. ter Wee, J.A. Rauwerda, A.J.M. Donker and R.O.B. Gans. Microvascular function relates to insulin sensitivity and blood pressure in normal subjects. *Circulation* 99: 896–902, 1999.
- Tomie-Furuya, D., R. Binsack, M.E. Onishi, P.M. Monteiro-Seraphim and U. Fabres-Machado. Low ethanol consumption induces enhancement of insulin sensitivity in liver of normal rats. *Life Sci.* 77: 1813–1824, 2005.
- Vázquez, B., G. Ávila, D. Segura and B. Escalante. Antiinflammatory activity of extracts from Aloe vera gel. *J. Ethnopharmacol.* 55: 69–75, 1996.

- Warram, J.H., B.C. Martín, A.S. Krolewski, J.S. Soeldner and C.R. Kahn. Slow glucose removal rate and hyperinsulinemia precede the development of type 2 diabetes in the offspring of diabetic patients. *Ann. Intern. Med.* 113: 909–915, 1990.
- Winters, W.D. and C. Bouthet. Polypeptides of *Aloe barbadensis* Miller. *Phytotherapy Res.* 9: 395–400, 1995.
- Wolever, T.M., J.E. Campbell, D. Geleva and G.H. Anderson. High-fiber cereal reduces postprandial insulin responses in hyperinsulinemic but not normoinsulinemic subjects. *Diabetes Care* 27: 1281–1285, 2004.
- World Health Organization. Aloe. In: WHO (eds.) *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Malta, 1999a, pp. 33–42.
- World Health Organization. Aloe vera gel. In: WHO (eds.) *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants*. Malta, 1999b, pp. 43–49.
- Yaron, A. Characterization of *Aloe vera* gel before and after autodegradation, and stabilization of the natural fresh gel. *Phytotherapy Res.* 7: S11–S13, 1993.
- Yongchaiyudha, S., V. Rungpitarangsi, N. Bunyaphatsara and O. Chokechaijaroenporn. Antidiabetic activity of *Aloe vera* L. juice. I. Clinical trial in new cases of diabetes mellitus. *Phytomedicine* 3: 241–243, 1996.