



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
UNIDAD XOCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

**SOLICITUD DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL**

Mtra. María Elena Contreras Garfias  
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
**PRESENTE**

Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año
--------------------	-----	-----	-----	---------------------	-----	-----	-----

**Datos del Alumno**

Nombre : <b>Aleny Corona Pérez</b>	
Matrícula : <b>2153027539</b>	Licenciatura : <b>Química Farmacéutica Biológica</b>
Domicilio : <b>Sobrecargo No. 209 Col. Carlos Rovirosa. CP 42082, Pachuca de Soto, Hidalgo</b>	
Teléfono : <b>7712212145</b>	Celular : <b>7715698179</b>
Correo Electrónico : <b>aleny852@hotmail.es</b>	CURP : <b>COPA970926MHGRR07</b>

**Datos del Proyecto**

Nombre del Proyecto : <b>NIVEL PROTEICO DE RAB5 EN MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATAS CON INTOLERANCIA A LA GLUCOSA TRATADAS CON SILIMARINA</b>							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : <b>Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco</b>							
Dependencia : <b>Educativo</b>							
Entidad Federativa : <b>Distrito Federal</b>							
Municipio : <b>Coyoacán</b>	Localidad :						
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	<b>15</b>	<b>5</b>	<b>2019</b>		<b>15</b>	<b>11</b>	<b>2019</b>

**PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES**

Sector: <b>1.- Educativo</b>	Tipo: <b>2.- Interno</b>
Orientación: <b>8.- Salud, Alimentación Y Nutrición</b>	

**FIRMAS**

**Dra. Tomasa Verónica Barón Flores**

Asesor Interno  
Nombre, firma y No. Económico

**Aleny Corona Pérez**  
Alumno  
Nombre, firma

Asesor Externo  
Nombre, firma y No. Económico

**Felipe Mendoza Pérez**  
Vo. Bo. de la Comisión  
Nombre y firma de la persona que autoriza



Casa abierta al tiempo

---

Ciudad de México, a 08 de febrero del 2022

**Mtra. María Elena Contreras Garfias**

**Directora de la División de CBS UAM-X.**

**P R E S E N T E .**

Por medio de la presente, me permito comunicar que la alumna Aleny Corona Pérez, con matrícula 2153027539, concluyó el proyecto de Servicio Social de nombre “Nivel proteico de RAB5 en músculo esquelético de ratas con intolerancia a la glucosa tratadas con Silimarina”, realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, ubicada en Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México; con periodo del 15 de Mayo al 15 de Noviembre del 2019, bajo mi asesoría, cubriendo un total de 480 horas.

Atentamente

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores



Casa abierta al tiempo

---

Ciudad de México, a 08 de febrero del 2022

**Mtra. María Elena Contreras Garfias**

**Directora de la División de CBS UAM-X.**

**P R E S E N T E .**

Por medio de la presente me permito informar la conclusión de mi Servicio Social, a través del proyecto "Nivel proteico de RAB5 en músculo esquelético de ratas con intolerancia a la glucosa tratadas con Silimarina realizado en la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco, ubicada en Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04960, Ciudad de México;"; bajo la asesoría de la Dra. Tomasa Verónica Barón Flores, con periodo del 15 de Mayo al 15 de Noviembre del 2019, cubriendo un total de 480 horas.

Atentamente

Aleny Corona Pérez

Matrícula 2153027539

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

Licenciatura:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Proyecto genérico:

**Evaluación de Productos Relacionados con la Salud**

Informe de Actividades del Servicio Social

**“NIVEL PROTEICO DE RAB5 EN MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATAS CON  
INTOLERANCIA A LA GLUCOSA TRATADAS CON SILIMARINA”**

Alumna

**ALENY CORONA PÉREZ**

Matrícula:

**2153027539**

Asesora interna

**DRA. TOMASA VERÓNICA BARÓN FLORES**

Fecha de inicio:

**15 de mayo del 2019**

Fecha de término:

**15 de noviembre del 2019**

**Octubre 2021**

# Índice

Introducción .....	3
• Intolerancia a la glucosa.....	3
• Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) .....	3
• Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) .....	4
• Diabetes Mellitus gestacional (DMG) .....	4
• Hormona insulina.....	4
• Rab5 en músculo esquelético. ....	5
• Silimarina .....	5
Objetivos generales y específicos .....	5
• Objetivo general.....	5
• Objetivos específicos .....	6
Metodología.....	6
• Descripción de grupos y manejo de animales .....	6
• Curva de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina. ....	6
• Obtención de la muestra .....	6
• Extracción de proteínas.....	7
• Conservación en paraformaldehído .....	7
• Cuantificación de proteínas por el método de Lowry.....	7
• Western blot .....	7
Actividades realizadas .....	8
Resultados y análisis .....	8
Conclusiones.....	12
Bibliografía.....	13
Calendario de actividades.....	14
Resumen:.....	16

## Introducción

La Diabetes Mellitus es uno de los desafíos más grandes en el campo de las enfermedades crónicas, en donde intervienen causas multifactoriales fisiológicas, genéticas y ambientales. Es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por la hiperglucemia causada por la alteración en el funcionamiento de células  $\beta$  pancreáticas, responsables de la síntesis y segregación de la insulina, o por una escasa respuesta de los tejidos (hígado, grasa, músculo) a la insulina circulante, dando como resultado concentraciones de glucosa anormales en la sangre. Los humanos con DM experimentan poliuria, polidipsia y pérdida de peso con deshidratación (Jiménez, 2000).

De acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (IDF) en el año 2015, México ocupó el sexto lugar internacional de personas con diabetes y, un año más tarde, fue declarada la segunda causa de muerte en el país (15.4%). A nivel mundial, se estiman 135 millones de diabéticos y se prevé un aumento a casi 300 millones en el año 2025 debido a: alimentación malsana, obesidad, estilo de vida sedentario y envejecimiento de la población; por lo tanto, el aumento en países desarrollados será superior al 40% y en países en desarrollo en 170% (Jiménez, 2000).

- **Intolerancia a la glucosa**

La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la existencia de intolerancia a la glucosa en el momento en que la concentración de glucosa en la sangre (o el plasma) a las 2 horas de haber administrado una carga de 75 g de glucosa oral, es mayor de lo normal (tolerancia anormal a la glucosa: glucosa plasmática en ayunas  $\geq 6,1$  mmol/L), pero no llega a alcanzar los límites para considerarla diabetes. Se considera que el deterioro de la tolerancia a la glucosa aunado a la alteración de la glicemia en ayunas (glucosa plasmática en ayunas  $< 7,0$  mmol/l) son estados de transición hacia el desarrollo de la Diabetes Mellitus.

- **Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)**

La OMS define a DM1 como insulino dependiente o juvenil, es identificada por la autodestrucción células  $\beta$  pancreáticas por anticuerpos, conllevando a una anomalía en la producción de insulina en el organismo. Por consiguiente, se requiere su administración exógena; esta condición no puede ser tratada con hipoglucemiantes orales. Su causa es multifactorial, sin embargo, una predisposición genética hace más propenso al individuo a desarrollar esta enfermedad crónico-degenerativa a una edad más temprana (Skyler J.S., 2017).

- **Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2)**

La Diabetes Mellitus tipo 2 es una enfermedad metabólica compleja caracterizada por la secreción alterada de insulina, resistencia a la insulina, aumento del estrés oxidativo, producción hepática excesiva de glucosa y metabolismo anormal de la grasa (Powers, 2016), por lo cual, es común que personas con obesidad padezcan de esta enfermedad.

Las personas con DM-2 no pueden incrementar la secreción de insulina para compensar su resistencia existente en el cuerpo. A medida que la enfermedad progresa, la glucosa sanguínea circulante aumenta y las células beta del páncreas secretan más insulina, conduciendo el desarrollo de hiperglucemia e hiperinsulinemia. Al verse involucrados varios órganos, las complicaciones metabólicas a largo plazo causan neuropatía, retinopatía, nefropatía, complicaciones micro y macrovasculares, entre otras (Skyler J.S., 2017).

La Asociación Americana de Diabetes (*American Diabetes Association* en inglés) señala la posibilidad de prevenir y el tratar la DM tipo 2, mediante el control de un peso corporal normal y una dieta saludable, evitando el consumo de tabaco y realizando ejercicio físico regular.

- **Diabetes Mellitus gestacional (DMG)**

La hiperglucemia que se detecta por primera vez durante el embarazo se clasifica como Diabetes Mellitus gestacional (DMG). Según la Asociación Americana de Diabetes, una de las causas de DMG es que, durante el embarazo hacia el final del segundo o comienzo del tercer trimestre, las hormonas placentarias causan un aumento en la resistencia a la insulina. En México, del 1 al 14% de mujeres embarazadas presentan DMG, siendo el desorden metabólico más común durante el embarazo. Los cambios en la dieta, el monitoreo de glucosa en sangre, inclusive de la administración de insulina en caso necesario, son formas de tratamiento. Si no es tratada, puede dañar la salud de la madre y del feto, incrementando el riesgo de desarrollar diabetes y obesidad (Federación Mexicana de Diabetes, 2016).

- **Hormona insulina**

La insulina es la encargada de regular y controlar la glucosa. Tiene como tejidos efectores principales al músculo estriado, hígado y tejido graso, ejerciendo acciones anabolizantes de almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno o la utilización de ésta en la fosforilación oxidativa (Fortich Revollo, 2015).

Al interaccionar la insulina con el receptor de insulina (IR) y tras su activación, da inicio a la vía de transducción PIK3-cinasa que permite la inducción del metabolismo de glucosa y de lípidos. La autofosforilación de IR y la activación de IRS-1, desencadena la señalización que

consecuentemente fosforila a los sustratos fosfatidilinositol 4-fosfato (PI4-P) y PI4,5-P<sub>2</sub>, y los convierten en PIP<sub>2</sub> y PIP<sub>3</sub>; éste último va a fungir como sitio de unión y activación de AKT para regular los procesos metabólicos, como el transporte de glucosa (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008) (Gutierrez Rodelo, Roura Guiberna , & Olivares Reyes, 2017).

En este mecanismo, la insulina promueve la translocación de la proteína. Su transporte a la membrana plasmática es dependiente de la proteína AS160, la cual en su estado no fosforilado y activo, regula negativamente las proteínas Rab; mientras que en su estado fosforilado habrá un incremento del tráfico de GLUT4 a la membrana (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

- Rab5 en músculo esquelético.

Las proteínas Rab son pertenecientes a la superfamilia Ras-GTPasas, las cuales regulan el transporte vesicular-membranal de forma endócrina y exocrina (Huang, 2001). Estudios demuestran que Rab5 es abundante en el citoesqueleto en las membranas microsomales en el músculo esquelético de ratas. Las Rab-GTPasas cambian entre un estado citosólico inactivo a un estado membranal activo. Se unen a guanosina difosfato (GDP) al estar inactivadas, mientras que se liga a guanosina trifosfato al estar activada. Cuando se encuentran activadas, pueden realizar las funciones de inmovilización y transportación de vesículas (Kaddai, 2008), unas de ellas es el transporte de GLUT4.

- Silimarina

*Silybum marianum*, también conocida como cardo mariano, es una planta perteneciente a la familia Asteraceae; sus semillas contienen Silimarina, un metabolito secundario compuesta de siete *flavonolignan- principalmente* la silibina (50%) (Petrie M., 2015).

Se puede usar como vegetal, tónico y galactogogo en madres que amamantan, pero también ayuda en complicaciones hepáticas, depresión, dispepsia, congestión esplénica, venas varicosas, amenorrea, hemorragia uterina y problemas menstruales (Petrie M., 2015). Se ha investigado su acción farmacológica para el tratamiento de diabetes (H. Fallah Huseini, 2006).

## Objetivos generales y específicos

- Objetivo general

Valorar el efecto de la Silimarina sobre la Rab5 a nivel proteico en el músculo esquelético en ratas con intolerancia a la glucosa.



- **Objetivos específicos**
- Obtener un modelo de ratas con intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.
- Realizar la extracción de proteínas del músculo esquelético.
- Contrastar la expresión proteica de Rab5 mediante la técnica analítica Western blot, en ratas con intolerancia a la glucosa y ratas control.

## Metodología

La experimentación y el manejo de animales serán llevados a cabo de acuerdo a la “Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio”.

- **Descripción de grupos y manejo de animales**

Se utilizaron ratas Wistar (200-250 g) y se distribuyeron en 5 grupos:

<b>Grupo</b>	<b>n</b>	<b>Tratamiento</b>	<b>Semanas</b>
Control inicial (Ci)	2	Agua potable	0
Control (C)	6	Agua potable	25
Sacarosa 30% (S)	6	Agua potable con 30% de azúcar refinada	25
Sacarosa + Silimarina (S+S)	6	Agua potable con 30% de azúcar refinada Administración vía oral de silimarina (200mg/kg) a partir de semana 16 hasta finalizar.	25
Sacarosa + Metformina (S+M)	6	Agua potable con 30% de azúcar refinada Administración vía oral de metformina (200mg/kg) a partir de semana 16 hasta finalizar.	25

**Tabla 1. Distribución de grupos**, con el respectivo número de ratas, tratamiento y semanas de vida.

- **Curva de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.**

Se realizaron curvas de tolerancia a la glucosa en la semana 0, 16 y 25, administrando por una dosis de glucosa de 3 g/kg vía intraperitoneal, posterior a cinco horas de ayuno, tomando muestra de sangre de las colas de las ratas al minuto 0, 15, 30, 60 y 120. De la misma forma, se realizaron curva de resistencia en el mismo periodo, administrando por vía intraperitoneal una dosis de insulina de 1U/kg, sin previo ayuno.

- **Obtención de la muestra**

Dosis de 1mL/kg (i.p.) de pentobarbital para la anestesia de la rata.

Se obtuvo sangre por punción cardiaca, se centrifugó a 3500 rpm por 10 min y se recuperó el suero. Se extrajeron 3 porciones de músculo epitroclear y se procesaron de la siguiente manera:

- Extracción de proteínas

Con un ultra-turrax (IKA®) se lisó el órgano con 500 µl de buffer de lisis libre de proteasas y fosfatasa. Se centrifugó a 12000 rpm / 30 min / 4 °C y se recuperó el sobrenadante en microtubos.

- Conservación en paraformaldehído

El órgano se conservó en 5 ml de paraformaldehído al 8% y se refrigeró a 4 °C. Las proteínas se almacenaron a -80±10 °C para su posterior análisis.

- Cuantificación de proteínas por el método de Lowry

Se realizó una curva patrón con 5, 10, 30 y 50 µg/µl con albumina sérica bovina y para las muestras se utilizarán 5 µl de proteínas y 45 µl de agua. Posteriormente se pipeteó el reactivo desoxicolato de sodio (100 µl) y el reactivo de Lowry (1 ml). Se dejó reposar por 10 minutos para finalmente agregar el reactivo Folin (100 µl). Se mezcló con un vortex y se dejó reposar por 10 minutos. Se leyó a 280 nm en el espectrofotómetro (DU 530 BECKMAN®). La concentración de las muestras problema se calcula por interpolación con la curva patrón.

- Western blot

Preparación de los geles: Se prepararon los geles stacking (de aplilameinto) y resolving (de corrida) con las cantidades

>> Gel resolving al 10%.		>> Gel stacking 4%	
Reactivos	Cantidades	Reactivos	Cantidades
Agua mQ	1.7 mL	Agua mQ	2.1 mL
Acrilamida 30%	2.0 mL	Acrilamida 30%	0.5 mL
Buffer pH 8.8	1.25 mL	Buffer pH 6.8	0.38 mL
SDS 10%	50 µL	SDS 10%	30 µL
PAS 10%	25 µL	PAS 10%	30 µL
TEMED	2.5 µL	TEMED	3.0 µL

**Tabla 2. Preparación de los geles para electroforesis.** Reactivos y cantidades utilizadas para el gel resolving y stacking.

Preparación de muestras: Se preparó un volumen de muestra que contenga una concentración de 59 µL de proteína mezclada con amortiguador de carga 2x a una cantidad equivalente a los µL necesarios de muestra para tener el amortiguador de carga final 1x y se dejó por cinco minutos a 95°C en baño maría.

Electroforesis y transferencia: Se dejó correr durante 140 min a 120V constantes y topar el amperaje a 300mA, con refrigeración a  $4\pm 3^{\circ}\text{C}$ . Posteriormente se realizó la transferencia semihúmeda a 300 mA (0.3 A) constantes programados en la fuente de poder a voltaje dependiente del amperaje, por 45 minutos.

Incubación: Se realizó la incubación de los anticuerpos primarios y secundarios de la siguiente manera:

Anticuerpo primario		Anticuerpo secundario	
Proteína	Rab5	Suero	Anti-conejo
Montaje	Ratón	Montaje	Cabra
Dilución	1:500	Dilución	1:3000
Proveedor	Sta Cruz Biotechnology	Proveedor	Sta Cruz Biotechnology

**Tabla 3. Anticuerpos.** Información de los anticuerpos usados para Western Blot.

### Actividades realizadas

- Manejo de animales por 25 semanas. Administración del tratamiento, vía oral.
- Realización de 2 curvas de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina a la semana, respectivamente, vía intraperitoneal.
- Obtención de muestras: tejido y punción cardiaca.
- Cuantificación por método de Lowry
- Western Blot

### Resultados y análisis

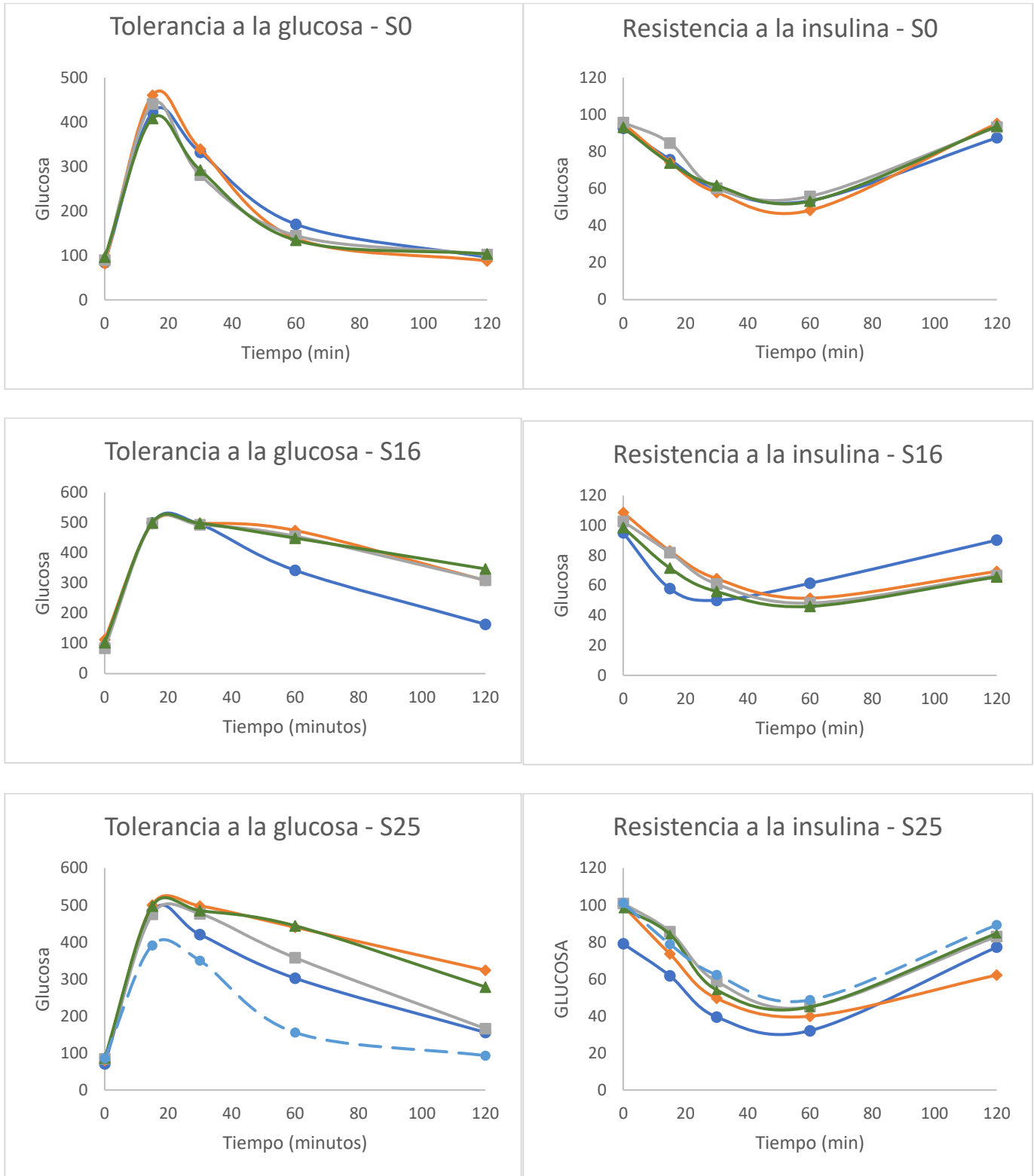
A continuación, se muestran las curvas de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina del promedio de los cinco grupos, en las semanas 0, 16 y 25 respectivamente. Se puede observar el diferente comportamiento entre los grupos.

En las curvas iniciales (S0), se puede ver un comportamiento similar para todos los grupos, alcanzando en el  $t_{120}$  un valor similar al indicado en  $t_0$ , en ambos casos. En las curvas intermedias correspondientes a la semana 16 (S16) se observa que los grupos ya habían desarrollado una intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina, alcanzando un valor en  $t_{120}$  entre 300-350 y de 66-67 respectivamente, a excepción del grupo control donde sus valores son los más cercanos a los iniciales, con 163 y 90.

Por último, en la semana 25 (S25) se observa los diferentes comportamientos de los niveles de glucosa después de estar 9 semanas en tratamiento; el grupo Sacarosa es el que

presenta mayor intolerancia a glucosa y resistencia a la insulina, con valores de 324 y 62 en  $t_{120}$ , un comportamiento similar al grupo con Metformina, cuyos valores finales alcanzaron 278 y 85; el grupo C y SS también presentan valores cercanos, reportando una intolerancia-resistencia de 156-77 y 166-83; comparando estos grupos con Ci, referente a ratas jóvenes que fueron sacrificadas en la semana 0, se puede observar que ninguno llega a los valores obtenidos en el Ci, siendo más cercanos a éstos los valores de SS y C para el caso de intolerancia, y SS, SM y C para resistencia, tal como se muestra en la Figura 1.

● CONTROL   
 ◆ SACAROSA   
 ■ SILIMARINA   
 ▲ METFORMINA   
 ● -CONTROL INICIAL



**Figura 1. Gráficas de Tolerancia a la glucosa y Resistencia a la insulina en las diferentes semanas de tratamiento:**  
 G1-Tolerancia a la glucosa en Semana 0, G2- Resistencia a la insulina Semana 0, G3-Tolerancia a la glucosa en Semana 16,  
 G4- Resistencia a la insulina Semana 16, G5-Tolerancia a la glucosa en Semana 25, G6- Resistencia a la insulina Semana 25.

En la semana 16 se observa un incremento en la glucosa en sangre y una mayor resistencia a la insulina para los grupos de SM, SS y S30, indicando un estado hiperglucémico (diabético) en los tres grupos; en la semana 25 tras el periodo de tratamiento correspondiente para los grupos SM y SS, se puede observar una disminución significativa en los niveles de glucosa sanguínea en el grupo tratado con Silimarina, siendo estos niveles muy similares a los del grupo C, así mismo, disminuyó la resistencia a la glucosa.

<b>Tiempo 120</b>						
<b>Gpo.</b>	<b>Semana 0</b>		<b>Semana 16</b>		<b>Semana 25</b>	
	Toler. gluc.	Resist. ins.	Toler. gluc.	Resist. ins.	Toler. gluc.	Resist. ins.
<i>Ci</i>	93	89	-	-	-	-
<i>C</i>	96	88	163	90	156	77
<i>SS</i>	88	93	310	67	166	83
<i>SM</i>	103	94	347	66	278	85
<i>S30</i>	102	95	310	69	324	62

**Tabla 4. Valores de tiempos finales.** Valores finales de cada grupo en el *t*120 de las curvas de tolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.

Después de obtener los resultados de ambas curvas, se obtuvieron las muestras de músculo esquelético de cada rata y se realizó una comparación del nivel proteico expresado en cada grupo mediante Western blot.

Se realizaron los WB de los diferentes grupos como se muestran en la Tabla 5 y Tabla 6.

En la Tabla 1 se observa una sobreexpresión de Rab5 en el grupo S30 con relación al grupo C, lo cual concuerda con un estudio realizado por Huang et al., en donde demuestran que la inactivación de Rab5 está regulada por la presencia de insulina. Por lo tanto, la sobreexpresión de esta proteína está dada por la resistencia a la insulina que presentan las ratas hiperglucémicas.

Por otra parte, las Tabla 2 y 3 muestran un comportamiento similar entre los grupos SS y SM que presentan un nivel de expresión proteica semejante al de las ratas jóvenes (*Ci*), lo cual puede deberse a que la metformina y la silimarina disminuyen la resistencia a la insulina, inactivando la Rab5, en contraste con las ratas hiperglicémicas (*S30*) e incluso las ratas adultas sanas (*C*).

Grupo C							Grupo S30					
2	3	7	8	9	10	11	28	29	30	31	32	33

*Tabla 5. WB de Sacarosa 30% (S30) y Control (C).*

M	Grupo SS						Ci
	16	17	18	19	20	21	45

**Tabla 6.** WB de Sacarosa + Silimarina (SS) y Control inicial (Ci). La primera banda pertenece al marcador (M), las siguientes seis bandas pertenecen al grupo SS y la última banda al grupo Ci.

M	Grupo SM						Ci
	38	39	40	41	42	43	46

**Tabla 7.** WB de Sacarosa + Metformina (SM) y Control inicial (Ci). Las primeras seis bandas pertenecen al grupo SM y la última banda al grupo Ci. Se comparó con M de la Tabla 1.

## Conclusiones

La Rab5 está regulada por la presencia de insulina, por lo tanto, en las ratas con resistencia a la insulina se encuentra sobreexpresada, lo cual puede regularse con tratamientos que disminuyan el estado hipoglucémico en ratas diabéticas. Sin embargo, la escasez de información y falta de estudios sobre esta proteína dificulta la interpretación y discusión de los resultados de esta investigación.

## Bibliografía.

- Federación Mexicana de Diabetes*. (5 de Enero de 2016). Obtenido de Diabetes Gestacional y su prevención: <http://fmdiabetes.org/diabetes-gestacional-y-su-prevencion/>
- Fortich Revollo, Á. J. (2015). *Fisiología de la secreción de insulina y glucagón*. Obtenido de Asociación Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo: [https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiologia\\_de\\_la\\_Secrecion\\_de\\_Insulina\\_AJ\\_Fortich.pdf](https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiologia_de_la_Secrecion_de_Insulina_AJ_Fortich.pdf)
- Gutierrez Rodelo, C., Roura Guiberna, A., & Olivares Reyes, J. A. (2017). Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: una actualización. *Gaceta Médica de México*, 214-228.
- H. Fallah Huseini, B. L. (2006). The Efficacy of *Silybum marianum* (L.) Gaertn. (Silymarin) in the Treatment of Type II Diabetes: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Clinical Trial. *Phytother. Res.*, 1036–1039.
- J. Huang, T. Imamura, J. M. Olefsky (2001) Insulin can regulate GLUT4 internalization by signaling to Rab5 and the motor protein dynein. *Proc Natl Acad Sci USA*. Nov 6;98(23):13084-9.
- Jiménez, M. (26 de Enero de 2000). *Acta Médica Costarricense*. Obtenido de Scielo: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-60022000000200005&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022000000200005&lng=en&tlng=es).
- Kaddai, V. L.-B. (Enero de 2008). Rab proteins in endocytosis and Glut4 trafficking. *Acta Physiologica*.
- Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina. *REB*, 9.
- Petrie M., M. G. (2015). Silymarin. *Practical Diabetes*. Vol 32, N° 4.
- Powers, A. C. (2016). Diabetes mellitus: diagnóstico, clasificación y fisiopatología. En D. Kasper, *Harrison: Principios de Medicina Interna*. McGraw-Hill.
- Skyler J.S., B. G. (2017). Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. *Diabetes*, Vol. 66: 241-255.



## Calendario de actividades

ACTIVIDAD	Mayo	Junio	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre
Manejo de animales	X	X	X	X	X	X	
Tolerancia a la glucosa		X		X		X	
Resistencia a la insulina	X		X		X		
Obtención de muestras						X	
Western blot	X					X	X



Vo. Bo. de asesora

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores

Nombre y firma del asesor interno

Cargo: Jefa del área de Farmacocinética y Farmacodinamia

Número económico: 26848

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
UNIDAD XOCHIMILCO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS**

Licenciatura:

**QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA**

Proyecto genérico:

**Evaluación de Productos Relacionados con la Salud**

Informe de Actividades del Servicio Social

**“NIVEL PROTEICO DE RAB5 EN MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATAS CON  
INTOLERANCIA A LA GLUCOSA TRATADAS CON SILIMARINA”**

Alumna

**ALENY CORONA PÉREZ**

Matrícula:

**2153027539**

Dirección particular: Sobrecargo #209 Col. Carlos Rovirosa, C.P. 42082, Pachuca de Soto, Hgo.

Teléfono: 7715698179

Email: aleny852@hotmail.es

Asesora interna

**DRA. TOMASA VERÓNICA BARÓN FLORES**

Fecha de inicio:

**15 de mayo del 2019**

Fecha de término:

**15 de noviembre del 2019**

**Octubre 2021**

## Resumen:

De acuerdo a la Federación Internacional de Diabetes (IDF) en el año 2015, México ocupó el sexto lugar internacional de personas con diabetes y, un año más tarde, fue declarada la segunda causa de muerte en el país (15.4%). A nivel mundial, se estiman 135 millones de diabéticos y se prevé un aumento a casi 300 millones en el año 2025 debido a: alimentación malsana, obesidad, estilo de vida sedentario y envejecimiento de la población (Jiménez, 2000).

La Diabetes Mellitus es uno de los desafíos más grandes en el campo de las enfermedades crónicas. Es una enfermedad metabólica caracterizada por la hiperglucemia causada por la alteración en el funcionamiento de células  $\beta$  pancreáticas, responsables de la síntesis y segregación de la insulina, o por una escasa respuesta de los tejidos (hígado, grasa, músculo) a la insulina circulante, dando como resultado concentraciones de glucosa anormales en la sangre. Los humanos con DM experimentan poliuria, polidipsia y pérdida de peso con deshidratación (Jiménez, 2000).

La hiperglicemia es una consecuencia del desarrollo de la Diabetes Mellitus, el cual es controlado mediante el uso de la Metformina, sin embargo, debido a sus efectos secundarios es necesario buscar tratamientos alternativos. La acción farmacológica de la Silimarina para el tratamiento de diabetes ha sido investigada anteriormente (H. Fallah Huseini, 2006), lo cual la hace una opción viable para el control de la glucosa.

La insulina es la encargada de regular y controlar la glucosa. Al interaccionar la insulina con el receptor de insulina (IR) y tras su activación, da inicio a la vía de transducción PIK3-cinasa que permite la inducción del metabolismo de glucosa y de lípidos (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008) (Gutierrez Rodelo, Roura Guiberna, & Olivares Reyes, 2017). En este mecanismo, la insulina promueve la translocación de la proteína. Su transporte a la membrana plasmática es dependiente de la proteína AS160, la cual en su estado no fosforilado y activo, regula negativamente las proteínas Rab; mientras que en su estado fosforilado habrá un incremento del tráfico de GLUT4 a la membrana (Olivares Reyes & Arellano Plancarte, 2008).

Las proteínas Rab, pertenecientes a la superfamilia Ras-GTPasas, regulan el transporte vesicular-membranal (Huang, 2001). Rab5 es abundante en el citoesqueleto en las membranas microsomales en el músculo esquelético de ratas. Cuando se encuentran activadas, pueden realizar las funciones de inmovilización y transportación de vesículas (Kaddai, 2008), unas de ellas, el GLUT4.

## Planteamiento del problema

La Rab5, al ser una proteína cuya activación influye en el transporte de GLUT4, desempeña un papel importante para la captación de la glucosa. Por lo tanto, cualquier tratamiento para la diabetes como lo es el uso de la Metformina y Silimarina debe reflejar una diferencia en la expresión de esta proteína.

Con base a lo anterior, este trabajo tiene como objetivo comprobar el nivel proteico de la Rab5 en ratas con intolerancia a la glucosa, con tratamiento y sanas.

## Objetivos

### Objetivo general

Valorar el efecto de la Silimarina sobre la Rab5 a nivel proteico en el músculo esquelético en ratas con intolerancia a la glucosa.

### Objetivos específicos

- Obtener un modelo de ratas con intolerancia a la glucosa y resistencia a la insulina.
- Realizar la extracción de proteínas del músculo esquelético.
- Contrastar la expresión proteica de Rab5 mediante la técnica analítica Western blot, en ratas con intolerancia a la glucosa y ratas control.

## Conclusiones

La Rab5 está regulada por la presencia de insulina, por lo tanto, en las ratas con resistencia a la insulina se encuentra sobreexpresada, lo cual puede regularse con tratamientos que disminuyan el estado hipoglucémico en ratas diabéticas.

Los resultados mostraron que RAB5 está regulada por la presencia de insulina. En el grupo de ratas hiperglucémicas se ve una sobreexpresión de la proteína debido a la resistencia a la insulina, en comparación con el grupo control; además que los grupos con tratamiento de Silimarina y Metformina respectivamente tuvieron un nivel proteico similar al del grupo de ratas jóvenes y sanas.

## Bibliografía.

- Federación Mexicana de Diabetes*. (5 de Enero de 2016). Obtenido de Diabetes Gestacional y su prevención: <http://fmdiabetes.org/diabetes-gestacional-y-su-prevencion/>
- Gutierrez Rodelo, C., Roura Guiberna , A., & Olivares Reyes, J. A. (2017). Mecanismos moleculares de la resistencia a la insulina: una actualización. *Gaceta Médica de México* , 214-228.
- H. Fallah Huseini, B. L. (2006). The Efficacy of Silybum marianum (L.) Gaertn. (Silymarin) in the Treatment of Type II Diabetes: A Randomized, Double-blind, Placebo-controlled, Clinical Trial. *Phytother. Res.*, 1036–1039.
- J. Huang, T. Imamura, J. M. Olefsky (2001) Insulin can regulate GLUT4 internalization by signaling to Rab5 and the motor protein dynein. *Proc Natl Acad Sci USA*. Nov 6;98(23):13084-9.
- Jiménez, M. (26 de Enero de 2000). *Acta Médica Costarricense*. Obtenido de Scielo: [http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0001-60022000000200005&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022000000200005&lng=en&tlng=es).
- Kaddai, V. L.-B. (Enero de 2008). Rab proteins in endocytosis and Glut4 trafficking. *Acta Physiologica*.
- Olivares Reyes, J. A., & Arellano Plancarte, A. (2008). Bases moleculares de las acciones de la insulina . *REB*, 9.

Vo. Bo. de asesora

Dra. Tomasa Verónica Barón Flores



Nombre y firma del asesor interno

Cargo: Jefa del área de Farmacocinética y Farmacodinamia

Número económico: 26848

**No. de páginas:** 13


**Lugar de realización:** Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

**Prácticas realizadas en:**

**Proyecto genérico:** Evaluación de Productos Relacionados con la Salud

**Contiene:**

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> Fotografías         | <input type="checkbox"/> Ilustraciones |
| <input checked="" type="checkbox"/> Gráficas | <input type="checkbox"/> Mapas         |
| <input checked="" type="checkbox"/> Tablas   | <input type="checkbox"/> Diagramas     |
| <input type="checkbox"/> Trípticos           |  |

**Vo.Bo. Asesor:** \_\_\_\_\_ 

**Fecha liberación texto completo:** 20211005

**NOTA:** La versión digital de este reporte, solo podrá ser consultada en cualquier Unidad académica de la Universidad, incluyendo a Rectoría General



**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud

**Departamento de Sistemas Biológicos**

**Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica**

Nivel proteico de RAB5 en músculo esquelético de ratas con intolerancia a la glucosa tratadas con Silimarina.

Corona Pérez, Aleny

2153027539

**Asesores**

Interno: Barón Flores, Tomasa Verónica



**03 de Febrero de 2022**

Sistemas Biológicos  
Química Farmacéutica Biológica

Nivel proteico de RAB5 en músculo esquelético de ratas con intolerancia a la glucosa tratadas con Silimarina.

Corona Pérez, Aleny 2153027539

Interno: Barón Flores, Tomasa Verónica

03 de Febrero de 2022

13

Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

Evaluación de Productos Relacionados con la Salud

X

X

20211005