

CAPACIDAD ANTITERATOGENICA DEL RESVERATROL EN DIABETES INDUCIDA POR ESTREPTOZOTOCINA EN RATAS

Ninna Leslie Trejo-González^{1,a}, Gladys Chirino-Galindo^{1,a}, Martín Palomar-Morales^{1,a,b}

RESUMEN

Objetivos. Evaluar la capacidad antihiper glucémica y antiteratogénica del resveratrol en ratas inducidas a diabetes por estreptozotocina. **Materiales y métodos.** Estudio de tipo experimental. Se tuvieron tres grupos, de cinco ratas Wistar preñadas cada uno, dos de los cuales fueron tratados el cuarto día de gestación con una dosis de estreptozotocina de 50 mg/kg, disuelta en tampón de citratos, y el otro fue considerado como control, y solo se le administró el tampón de citratos. A uno de los grupos inducidos con estreptozotocina se le administró resveratrol a dosis de 100 mg/kg durante los días 8 al 12 de gestación, cuando sucede la neurulación. Los fetos se obtuvieron el día 19 de gestación y se les realizó un análisis morfológico, y en el hígado fetal se determinó la actividad de las enzimas depuradoras de especies reactivas catalasa, superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa. **Resultados.** La administración de resveratrol (DM+R) revierte los parámetros a valores similares a los del grupo control. Las actividades de catalasa y de glutatión peroxidasa, se vieron incrementadas en el grupo tratado con resveratrol con respecto al grupo diabético, en cuanto a la frecuencia de malformaciones en el grupo control y en el grupo tratado con resveratrol no presentaron malformaciones, mientras que en las ratas con diabetes inducida, se encontró una elevada frecuencia de malformaciones. **Conclusiones.** El resveratrol muestra propiedades antiteratogénicas a través de la disminución del estrés oxidativo que se presenta a causa de la hiperglucemia materna.

Palabras clave: Teratogénesis; Anomalías congénitas; Antioxidantes (fuente: DeCS BIREME).

ANTITERATOGENIC CAPACITY OF RESVERATROL IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN RATS

ABSTRACT

Objectives. To evaluate the anti-hyperglycemic and anti-teratogenic capacity of resveratrol in streptozotocin-induced diabetic rats. **Material and methods.** Experimental study. There were three groups, of five rats each; two groups were treated with a single dose of 50 mg/Kg of streptozotocin (STZ), in citrate buffer, at the 4th day of gestation, and the third group was considered the control, and were administered with citrate buffer only. One of the two STZ induced groups was administered with 100 mg/Kg resveratrol the days 8th to 12th, when neurulation occurs. Fetuses were obtained the 19th gestational day, and were subjected to morphologic analysis; and in fetal liver the activities of scavenging enzymes catalase, superoxide dismutase and glutathione peroxidase were measured. **Results.** Resveratrol can decrease the teratogenic effect of STZ-induced diabetes, and scavenging activities were benefited by the administration of this antioxidant. **Conclusion.** Resveratrol shown embryoprotective properties mediated by amelioration of oxidative stress produced by maternal hyperglycemia.

Key words: Teratogenesis; Congenital abnormalities; Antioxidants (source: MeSH NLM).

INTRODUCCIÓN

La diabetes *mellitus* (DM) es una causa importante de defectos del desarrollo, cuya severidad depende del grado de descontrol metabólico. La hiperglucemia

característica del estado diabético se ha descrito como el principal teratógeno, mediante un mecanismo que involucra aumento del estrés oxidativo ⁽¹⁾, el cual se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas de

¹ Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México. Estado de México, México.

^a Biólogo; ^b doctor en ciencias biológicas

* El artículo es parte de la tesis de Licenciatura en Biología de Ninna Leslie Trejo-González.

Recibido: 17-12-14 Aprobado: 13-05-15

oxígeno (ERO) y/o por disminución de la actividad de enzimas antioxidantes.

Los principales efectos bioquímicos de la hiperglucemia que caracteriza a la DM son la glucosilación no enzimática de proteínas y la reacción de Maillard o glicación. En este sentido, inicialmente se produce una reacción entre el azúcar con la proteína formando un compuesto que se denomina base de Schiff, cuya estructura se reordena hacia una forma más estable llamada producto de Amadori, este sufre una serie de complejas transformaciones que llevan a la formación de los productos finales de glucosilación avanzada, los cuales favorecen el estrés oxidativo ⁽²⁾.

En apoyo a la idea de que el mecanismo mediante el cual la hiperglucemia es el principal teratógeno y los ERO son sus mediadores, se ha logrado prevenir o reducir la frecuencia y severidad de las malformaciones producidas por diabetes experimental mediante la administración *in vivo* de diferentes antioxidantes, tales como vitamina C y/o E, alfa-tocoferol, ácido lipoico, butil-hidroxitolueno, resveratrol, N-acetil cisteína, entre otros ⁽³⁻⁷⁾. También se ha demostrado que las poliaminas putrescina, espermina y espermidina administradas a partir del día cinco de gestación, pueden prevenir las reabsorciones y los efectos embriotóxicos causados por diabetes *mellitus* inducida por aloxana ⁽⁸⁾.

El resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno), es un compuesto fenólico producido por algunas plantas espermatofitas, es particularmente abundante en las uvas, donde se produce en respuesta a condiciones de estrés ambiental ⁽⁹⁾. Este compuesto tiene la característica de contener en su estructura dos grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas, lo que le confiere una alta capacidad antioxidante de origen vegetal ⁽¹⁰⁾. Recientemente, se demostró que la administración de resveratrol a ratas preñadas puede revertir los efectos teratógenos causados por etanol ⁽¹¹⁾, o por 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina ⁽⁵⁾.

El objetivo del presente estudio es demostrar que el resveratrol, por su capacidad antioxidante, pueda revertir los efectos teratógenos de la DM en un modelo animal.

MATERIALES Y MÉTODOS

ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Se utilizaron 15 ratas sanas, hembras, de la cepa Wistar, de 250-270 g de peso, de 10-12 semanas de edad, que fueron apareadas con machos sanos de la misma

cepa por el método de trío, y se consideró como tiempo cero la media noche anterior al día en que se detectó presencia de espermatozoides en el lavado vaginal. Las ratas gestantes fueron asignadas al azar a tres grupos de cinco individuos cada uno. A dos grupos se les indujo diabetes por medio de una inyección intraperitoneal de 50 mg/kg de estreptozotocina (STZ) en 100-200 µL de tampón de citratos 100 mM pH 4,5. Posteriormente, a uno de estos se le administró resveratrol (DM+R) emulsificado en agua potable, en dosis de 100 mg/kg de peso corporal ⁽⁵⁾; por vía oral, los días 8 a 12 de gestación. El tercer grupo fue considerado el control y el día 4 recibió un volumen similar del tampón de citratos; tanto este grupo como el grupo diabético sin resveratrol recibieron los días 8 a 12, agua potable mediante canulación.

DETERMINACIONES BIOQUÍMICO CLÍNICAS

El día 19 de gestación, las ratas fueron sacrificadas por sobredosis de anestesia, y se recuperó la mayor cantidad posible de sangre para obtener el suero y así determinar la glucosa por el método de Trinder, los triglicéridos por el método de Soloni, el colesterol por el método de Liebermann-Burchard, y los lípidos totales con el reactivo de vainillina; se emplearon kits comerciales obtenidos de proveedores locales. Adicionalmente, se realizó una laparotomía, y se obtuvieron los úteros sobre hielo.

DETERMINACIONES FETALES Y BIOQUÍMICAS

Los úteros se abrieron sobre hielo con ayuda de tijeras de oftalmología, y se registró el número de fetos viables y reabsorbidos de cada camada; dos terceras partes de los fetos se fijaron por dos días en fluido de Bouin para someterlos, posteriormente, a la técnica de Wilson modificada ⁽¹²⁾, y el resto se fijó en formalina al 10% para análisis de hueso y cartílago ⁽¹³⁾. A partir de los datos crudos, se calculó el porcentaje de reabsorción y de malformaciones por camada.

Antes de fijar los fetos, se les extrajo el hígado para homogeneizarlo sobre hielo en solución salina, y en los extractos crudos se evaluaron las actividades de catalasa ⁽¹⁴⁾ (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) ⁽¹⁵⁾ y superóxido dismutasa (SOD) ⁽¹⁶⁾. Las actividades enzimáticas fueron referidas por la cantidad de proteínas evaluadas por el método de Lowry en el homogenado hepático.

REACTIVOS

El resveratrol fue donado por la Dra. Ana María García Bores, del Laboratorio de Fitoquímica de la Unidad de Biología, Tecnología y Prototipos de la FES Iztacala.

Todos los demás reactivos se consiguieron de marcas comerciales, grado reactivo, con proveedores locales.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de las pruebas bioquímicas y los parámetros fetales (peso, talla) se analizaron mediante ANOVA simple seguida de prueba de Tukey, cuando fue necesario. Para los datos de tamaño de camada y frecuencia de malformaciones, se utilizó ANOVA en rangos de Kruskal Wallis. Las pruebas se realizaron en el paquete estadístico SAS 10,0 para Windows.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El mantenimiento y cuidado de los animales se llevó a cabo de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. Los animales fueron sacrificados de acuerdo con los lineamientos y principios básicos de respeto a la vida animal, con sobredosis de anestesia de manera indolora

(pentobarbital sódico 100 mg/kg). Los cadáveres fueron almacenados en un contenedor específico destinado para este fin, localizado en el bioterio de la Facultad, previo a su incineración por una compañía dedicada a este fin. El proyecto fue revisado y aceptado por el Comité de Bioterio y la Comisión de Ética de la Facultad.

RESULTADOS

PESO CORPORAL Y BIOQUÍMICA CLÍNICA

Se evaluó el peso corporal de las ratas durante todo el estadio gestacional. Este registro no presentó diferencias significativas, aunque sí se observa una leve ganancia de peso en las ratas del grupo tratado con resveratrol con respecto a los grupos testigo y al tratado con STZ, sin diferencia estadística. Con respecto a los parámetros clínicos bioquímicos, la administración de STZ 50 mg/kg provocó hiperglucemia de manera significativamente diferente del control, y una hiperlipidemia leve (no diferente estadísticamente), mientras que la administración de

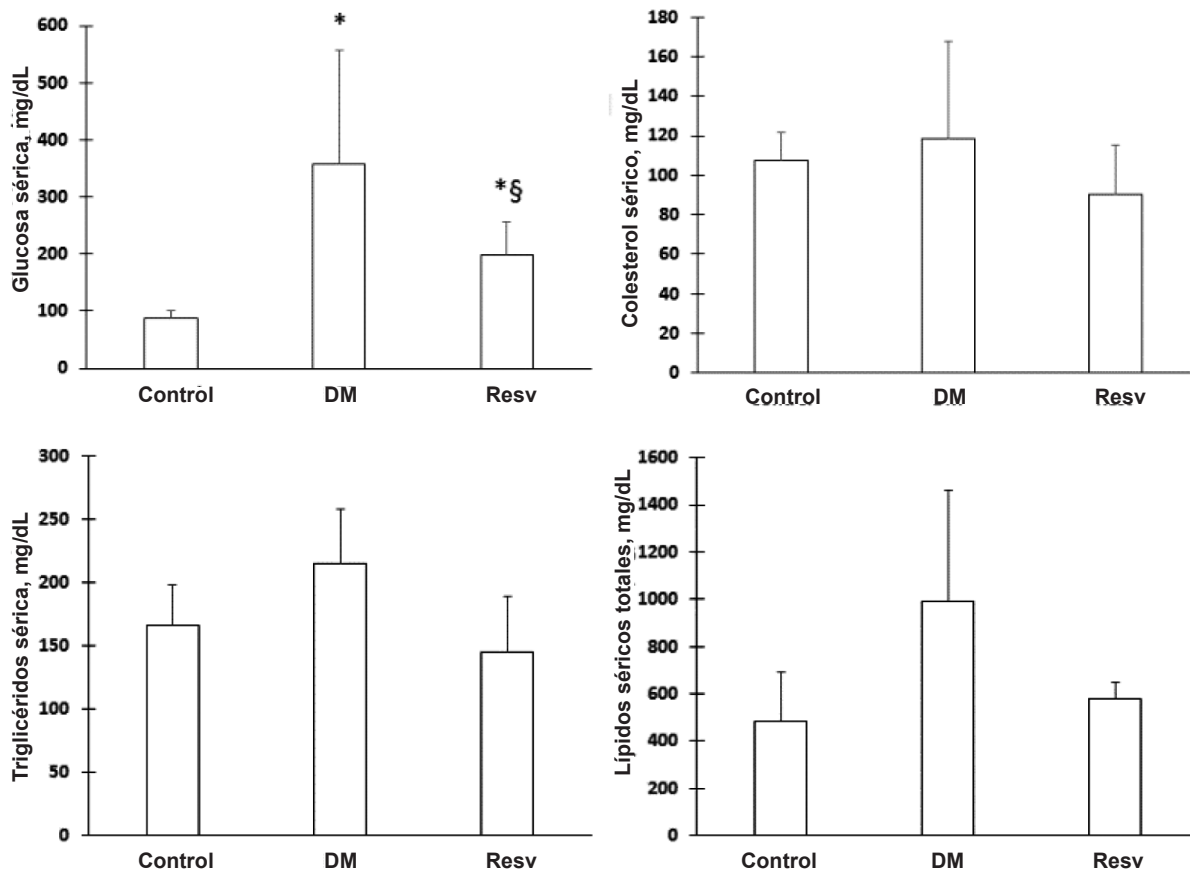


Figura 1. Efecto de la administración de resveratrol sobre los parámetros séricos bioquímicos en ratas diabéticas gestantes. Promedio ± D.E. de cinco experimentos. *p<0,05 con respecto al grupo control; §p<0,05 con respecto al grupo diabético (ANOVA simple).

Tabla 1. Tamaño de camada y frecuencia de reabsorciones y malformaciones en ratas diabéticas gestantes en respuesta a la administración de resveratrol

Tratamiento	Tamaño de camada (fetos)	Frecuencia de reabsorciones	Frecuencia de malformaciones
Control	13,0 ± 2,54	12,5 ± 1,5	0
DM	13,0 ± 5,40	15,3 ± 2,8	14,42 ± 11,16*
DM+resveratrol	12,3 ± 3,05	13,0 ± 2,2	0

*p<0,05 con respecto al grupo control, DM: diabetes mellitus

Tabla 2. Actividades de enzimas depuradoras de radicales libres en hígado de fetos de ratas diabéticas en respuesta a la administración de resveratrol

Tratamiento	Actividad de CAT (UI/mg proteína)	Actividad de GPx (UI/mg proteína)	Actividad de SOD (Unidades McCord-Fridovich/mg proteína)
Control	12,4 ± 8,5	81,2 ± 33,5	16,4 ± 10,3
DM	5,6 ± 5,2*	42,5 ± 21,2*	29,3 ± 15,9
DM+resveratrol	12,5 ± 8,3	115,7 ± 42,4	22,6 ± 18,5

*p<0,05 con respecto al grupo control, DM: diabetes mellitus, CAT: catalasa, GPx: glutatión peroxidasa, SOD: superóxido dismutasa

resveratrol (DM+R) revierte los parámetros a valores similares a los del grupo control (Figura 1). En cuanto a los parámetros reproductivos, no hubo diferencia en el tamaño de camada o el porcentaje de reabsorciones espontáneas (Tabla 1).

PARÁMETROS MORFOMÉTRICOS

El tamaño (longitud céfalocaudal), al igual que el peso de los fetos, son menores para el grupo de ratas inducido a diabetes con respecto al control, aunque no hay diferencia significativa (Figura 2).

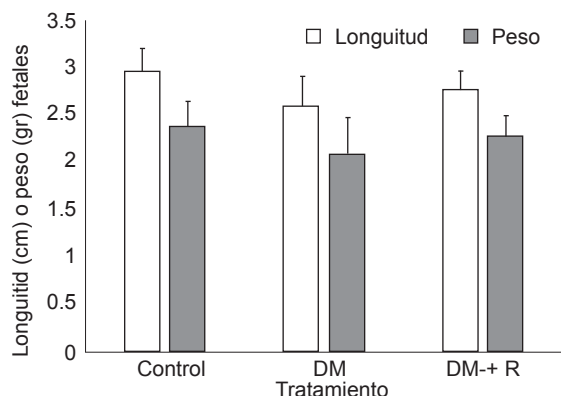


Figura 2. Peso y tamaño de los fetos de 19 días de gestación de hembras diabéticas tratadas con resveratrol. Promedio ± D.E. de 40-50 fetos; no se observan diferencias significativas (ANOVA simple).

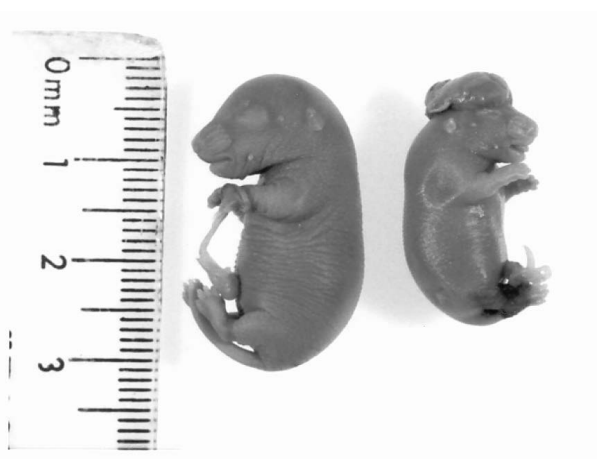


Figura 3. Feto de día 19 de gestación con exencefalia, de una rata hembra gestante diabética (derecha), comparado con un feto normal de una rata no inducida a diabetes mellitus

Por otro lado, la frecuencia de malformaciones en el grupo control y en el grupo tratado con resveratrol no presentaron malformaciones, mientras que en las ratas con diabetes inducida, se encontró una elevada frecuencia de malformaciones (Tabla 1), la mayoría de ellas relacionadas con el desarrollo del sistema nervioso central y particularmente con el desarrollo del cerebro (Figura 3), como son anencefalia, exencefalia, y la presencia de una cavidad en el mesencéfalo.

Los resultados en el estudio morfológico de hueso no mostraron cambios significativos en el grupo de ratas diabéticas o en el grupo tratado con resveratrol, con respecto al grupo control.

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Con respecto a la actividad enzimática hepática fetal, se observaron cambios en las tres enzimas antioxidantes (Tabla 2). Las actividades de CAT y de GPx se vieron incrementadas en el grupo tratado con resveratrol con respecto al grupo diabético, mientras que en SOD se produjo un resultado contrario, pero no significativo; la administración de resveratrol reduce el aumento de actividad causado por la STZ (Tabla 2).

DISCUSIÓN

El resveratrol, un antioxidante de origen vegetal, ha sido propuesto como capaz de evitar los efectos teratogénicos de algunos compuestos^(5,11). En el modelo de diabetes inducida por STZ, se sabe que el rasgo notorio es la hiperglucemia elevada y sostenida; que fue corroborado en este trabajo. Otro de los hallazgos clínico-bioquímicos de este modelo es la dislipidemia.

Aunque no significativa, encontramos en este modelo una alteración de distintos parámetros séricos (colesterol, triglicéridos, lípidos totales), que, al igual que la glucosa, tienden a normalizarse por administración de resveratrol a las ratas preñadas. Aunque escapa a los objetivos del estudio, otros autores han propuesto que los antioxidantes puedan proteger, al menos parcialmente, al páncreas de los efectos prooxidantes de la STZ u otros diabéticos (17).

Al igual que en humanos, la diabetes materna afecta el desarrollo de los fetos de rata, lo cual produce aumento del número de reabsorciones, disminución del número de crías por camada, disminución del peso de las crías, retraso en el crecimiento y aumento de la frecuencia de malformaciones congénitas (18). Esto se confirma en este trabajo, ya que el grupo tratado con STZ mostró una elevada frecuencia de malformaciones, mientras que el grupo testigo no manifestó aparición de malformaciones congénitas (el valor fue exactamente 0,0%); se sabe que para esta especie el valor normal de malformaciones espontáneas es inferior al 1,0% (19).

Se ha reportado que la hiperglucemia materna es uno de los principales factores en la producción de las malformaciones. El estudio de la patogénesis de los defectos congénitos, realizado en animales de experimentación, ha revelado un complejo proceso en el cual el estado diabético induce alteraciones en una serie de vías metabólicas interrelacionadas que conducen a la teratogenicidad al interferir la expresión de importantes genes del desarrollo embrionario (20), dicho lo anterior, podemos explicar por qué la presencia del mayor porcentaje de malformaciones encontradas fue en el grupo tratado con STZ. El aporte incrementado de glucosa a los tejidos embrionarios, causa aumento del metabolismo oxidativo con incremento del consumo de O₂. La hipoxia generada excede los límites fisiológicos que caracterizan al desarrollo normal. En estas condiciones puede estimular la producción mitocondrial de radical superóxido, lo que lleva a un estado de estrés oxidativo como consecuencia de la oxidación de la glucosa en exceso (21).

Sin embargo, con respecto a la nomenclatura de las malformaciones, no siempre se pudo asignar un nombre específico a cada una de ellas; como es el caso de los fetos en los que se observó una cavidad en el mesencéfalo; se buscó un nombre en el glosario publicado recientemente (22), que trata de homogeneizar criterios, para lo cual contó con la participación de investigadores de la mayoría de las asociaciones, federaciones y comités de teratología, así como la FDA, pero ninguno de los nombres que el glosario maneja es adecuado para este hallazgo.

Con respecto al número de reabsorciones por camada, es notoria una disminución de estas en el grupo tratado con resveratrol, en contraste con el grupo diabético; esto pone en evidencia que la diabetes es capaz de alterar la naturaleza de ovocitos inmaduros, ovulados y fecundados; procesos periimplantatorios; embrión en desarrollo; placentación; mortalidad uterina y parto (23).

Por otro lado, en la diabetes *mellitus* se ha encontrado una relación directa entre el descontrol metabólico y la presencia de hiperglucemia con respecto al incremento de estrés oxidativo del organismo, con elevados niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) en todos los sistemas estudiados (24). Un desbalance REDOX provoca el envenenamiento y alteración de todos los compuestos y procesos enzimáticos expuestos (22). Esto se comprobó en este trabajo, ya que los tres sistemas enzimáticos analizados, se vieron alterados por la presencia de la DM pregestacional.

Los efectos teratogénicos de la diabetes están relacionados, entre otros aspectos, con el aumento del estrés oxidativo que la acompaña, lo cual afecta directamente a la unidad feto-placentaria (25). Esta teoría es confirmada en este trabajo, ya que se observaron alteraciones en la actividad de dos de las tres enzimas evaluadas.

La SOD es una enzima que cataliza la disminución del radical superóxido a peróxido de hidrógeno y oxígeno. La SOD puede ser inhibida por altas concentraciones de peróxido de hidrógeno (26). En este estudio se observó un incremento de SOD en el grupo diabético, con respecto a los otros dos; esto puede explicarse ya que la producción de peróxido de hidrógeno conduce a la inhibición de SOD, lo cual está asociado a altas concentraciones de CAT; aunado a lo anterior, la célula utiliza para la reducción de peróxido de hidrógeno las enzimas CAT y GPx (26). Estos son los comportamientos que se observaron en el grupo testigo. Basándonos en lo anterior, es lógico esperar en el grupo diabético una reducción en la actividad de CAT y GPx, y un aumento significativo en la actividad de SOD.

Al inicio de la patología ocasionada por la DM se ha observado que se produce un incremento en la actividad de SOD, como respuesta a la elevada generación de ERO en la célula y su eliminación por la enzima. No obstante, la intensa producción de este radical por un tiempo prolongado, agota la estimulación de la actividad enzimática ya que, como se mencionó anteriormente, el producto de la reacción puede inhibirla (27).

La actividad de SOD en ratas diabéticas por STZ tiene un incremento significativo en relación con ratas no diabéticas (28). Esta diferencia en la actividad enzimática

puede asociarse también, a que el estrés oxidativo induce la producción de enzimas, como mecanismos compensatorios, incrementando su actividad en los animales diabéticos con el fin de mantener la homeostasis. De igual manera, en este trabajo, el tratamiento con resveratrol revierte de manera parcial los efectos que el estrés oxidativo causado por la diabetes causa en las actividades de CAT y GPx.

Por pertenecer al grupo de los flavonoides, el resveratrol ha sido considerado como un potente antioxidante ⁽¹¹⁾, ya que tiene la característica de contener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas ⁽¹⁰⁾. Se observó un aumento en la actividad de la CAT con respecto al grupo diabético y testigo, como un efecto potenciador del resveratrol sobre la enzima ⁽²⁹⁾. Además, también existen un decremento en los niveles de malondialdehído, principal producto de la peroxidación lipídica, la cual ocurre cuando el radical hidroxilo ataca los lípidos de membrana dando lugar a la formación de radicales libres, los cuales, junto con la entrada de oxígeno, producen la propagación del proceso con la formación de gran cantidad de radicales lipoperóxidos, lo que perpetúa el daño oxidativo en las membranas ⁽³⁰⁾. También ha sido reportado como supresor de la peroxidación lipídica ⁽³¹⁾.

Aunque por los resultados obtenidos, se puede deducir que el resveratrol es un antioxidante que puede postularse a ser utilizado para combatir la teratogénesis inducida por la DM materna, aún hacen falta más estudios para tratar de dilucidar la acción exacta de este compuesto a nivel bioquímico, además de determinar las dosis correctas a las que se debe someter a la madre, y para no producir un efecto prooxidante del mismo.

Agradecimientos: a la Dra. Ana María García Bores ayudó en la purificación del resveratrol. A Fernando Moreno Barrón, del bioterio de la Facultad, que proporcionó y mantuvo los sujetos experimentales en buenas condiciones para los experimentos.

Contribuciones de autoría: NLTG realizó los experimentos, recolectó los resultados, analizó e interpretó los datos, y aprobó la versión final; GCG revisó el artículo, aprobó la versión final y asesoró técnicamente en los experimentos; MPM concibió y diseñó el artículo, redactó el artículo y obtuvo el financiamiento.

Fuentes de financiamiento: para la realización de este proyecto se tuvo ayuda económica de la Unidad de Morfología y Función, División de Investigación y Posgrado de la Facultad de Estudios Superiores de la UNAM.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ornoy A. *Embryonic oxidative stress as a mechanism of teratogenesis with special emphasis on diabetic embryopathy*. *Reprod Toxicol*. 2007;24(1):31-41.
- Valdez-Penagos AG, Mendoza-Núñez VM. *Estrés oxidativo, diabetes mellitus y enfermedad periodontal. Una revisión sistemática*. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 2004;7(2):103-8.
- Cederberg J, Simán CM, Eriksson UH. *Combined treatment with vitamin E and vitamin C decreases oxidative stress and improves fetal outcome in experimental diabetic pregnancy*. *Pediatr Res*. 2001;49(6):755-62.
- Cederberg J, Eriksson UH. *Antioxidative treatment of pregnant diabetic rats diminishes embryonic dysmorphogenesis*. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2005;73(7):498-505.
- Singh NP, Singh US, Nagarkatti M, Nagarkatti PS. *Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene) protects pregnant mother and fetus from the immunotoxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin*. *Mol Nutr Food Res*. 2011;55(2):209-19. doi: 10.1002/mnfr.201000206..
- Wentzel P, Eriksson UH. *A diabetes-like environment increases malformation rate and diminishes prostaglandin E(2) in rat embryos: reversal by administration of vitamin E and folic acid*. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*. 2005;73(7):506-11.
- Zabihi S, Eriksson UJ, Wentzel P. *Folic acid supplementation affects ROS scavenging enzymes, enhances Vegf-A, and diminishes apoptotic state in yolk sacs of embryos of diabetic rats*. *Reprod Toxicol*. 2007;23(4):486-98.
- Méndez JD, Palomar-Morales M. *Prevention by L-arginine and polyamines of delayed development and embryotoxicity caused by chemically-induced diabetes in rats*. *Reprod Toxicol*. 1999;13(6):501-9.
- Montero C, Cristescu SM, Jiménez JB, Orea JM, te Lintel Hekkert S, Harren FJ, et al. *trans-Resveratrol and grape disease resistance. A dynamical study by high-resolution laser-based techniques*. *Plant Physiol*. 2003;131(1):129-38.
- Gutiérrez-Pérez A, Cortés-Rojo C, Calderón-Cortés E, Manzo-Avalos S, Clemente-Guerrero M, Godínez-Hernández D, et al. *Efectos del resveratrol sobre el estrés oxidativo inducido por calcio en mitocondrias de corazón de rata*. *Revista Científica Nicolaita*. 2009;51:105-22.
- Huang LH, Shiao NH, Hsuw YD, Chan WH. *Protective effects of resveratrol on ethanol-induced apoptosis in embryonic stem cells and disruption of embryonic development in mouse blastocysts*. *Toxicology*. 2007;242(1-3):109-22.
- Barrow MV, Taylor WJ. *A rapid method for detecting malformations in rat fetuses*. *J Morphol*. 1969;127(3):291-305.
- Kimmel CA, Trammell C. *A rapid procedure for routine double staining of cartilage and bone in fetal and adult animals*. *Stain Technol*. 1981;56(5):271-3.
- Aebi HE. *Oxidoreductases acting on groups other than CHOH. 3.9 Catalase: hydrogen-peroxidase: hydrogen-peroxidase oxidoreductase*

- E. C. 1. 11. 1. 6. En: Bergmeyer HU, editor. *Methods of Enzymatic Analysis*. 3er vol. New York, NY: Academic Press; 1983. p. 273-86.
15. Paglia DE, Valentine WN. *Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase*. J Lab Clin Med. 1967;70(1):158-69.
 16. Beauchamp C, Fridovich I. *Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrylamide gels*. Analytical Biochemistry. 1971;44:276-87.
 17. Anuradha R, Saraswati M, Kumar KG, Rani SH. *Apoptosis of beta cells in diabetes mellitus*. DNA Cell Biol. 2014 Nov;33(11):743-8. doi: 10.1089/dna.2014.2352.
 18. Palomino MA, Revilla MC, Cárdenas A, Polanco AC, Islas SA. *Efecto de la diabetes inducida sobre la reproducción y el desarrollo*. Ginecol Obstet Méx. 1998;66(10):403-6.
 19. Beaudoin AR. *Teratogenicity of polybrominated biphenyls in rats*. Environ Res. 1977;14(1):81-6.
 20. Goldman AS, Baker L, Piddington R, Marx B, Herold R, Egler J. *Hyperglycemia induced teratogenesis is mediated by a functional deficiency of arachidonic acid*. Proc Natl Acad Sci U S A. 1985;82(23):8227-31.
 21. Wentzel P, Ejdesjö A, Eriksson UJ. *Maternal diabetes in vivo and high glucose in vitro diminish GAPDH activity in rat embryos*. Diabetes. 2003;52(5):1222-8.
 22. Wise LD, Beck SL, Beltrame D, Beyer BK, Chahoud I, Clark RL, et al. *Terminology of developmental abnormalities in common laboratory mammals (version 1)*. Teratology. 1997;55(4):249-92.
 23. González E. *Diabetes mellitus experimental: etiología de las malformaciones congénitas en descendientes de ratas diabéticas*. Revista Cubana de Endocrinología. 2002;13(1):53-63.
 24. González E, Roselló-Catafau J, Jawerbaum A, Sinner D, Pustovrh C, Vela J, et al. *Pancreatic nitric oxide and oxygen free radicals in early stages of streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat*. Braz J Med Biol Res. 2000;33(11):1335-42.
 25. Djordjevic A, Spasic S, Jovanovic-Galovic A, Djordjevic R, Grubor-Lajsic G. *Oxidative stress in diabetic pregnancy: SOD, CAT and GSH-Px activity and lipid peroxidation products*. J Matern Fetal Neonatal Med. 2004;16(6):367-72.
 26. Marklund SL. *Properties of extracellular superoxide dismutase from human lung*. Biochem J. 1984;220(1):269-72.
 27. Bravo A, Araujo S, Vargas ME, Mesa J, Souki A, Bermúdez V, et al. *Actividad de la enzima antioxidante superóxido dismutasa y niveles de cobre y zinc en pacientes con diabetes mellitus tipo 2*. Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica 2007;26(1):37-41.
 28. Mora AC, Aragón DM, Ospina LF. *Caracterización del estrés oxidativo en ratas Wistar diabéticas por estreptozotocina*. Vitae. 2009;16(3):311-9.
 29. Aribal-Kocatürk P, Kavas GO, Büyükkâğnici DI. *Pretreatment effect of resveratrol on streptozotocin-induced diabetes in rats*. Biol Trace Elem Res. 2007;118(3):244-9.
 30. Licea ME. *Concentraciones de malondialdehído en un grupo de diabéticos tipo 1 con retinopatía diabética*. Av Diabetol. 2003;19(2):95-9.
 31. Chander V, Tirkey N, Chopra K. *Resveratrol, a polyphenolic phytoalexin protects against cyclosporine-induced nephrotoxicity through nitric oxide dependent mechanism*. Toxicology. 2005;210(1):55-64.

Correspondencia: Martín Palomar Morales. Dirección: Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM. Avenida de los Barrios N.º 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México. Apartado postal 314, Tlalnepantla, México 54090, México. Correo electrónico: martin_palomar2004@yahoo.com.mx



Investigar para proteger la salud

REVISTA PERUANA DE MEDICINA
EXPERIMENTAL Y SALUD PÚBLICA
CUMPLIENDO SUS METAS Y
PROYECTÁNDOSE AL FUTURO

Visite los contenidos de la revista en:
www.ins.gob.pe/rpmesp