

## **Efecto hipoglucemiante de componentes no polares del extracto de kombucha en un modelo de diabetes en ratas**

Guillermo Nolasco Rodríguez<sup>1\*</sup>, Karen Guadalupe Rodríguez Nava<sup>1</sup>, Lucía García Delgado<sup>1</sup>, Francisco Javier Barrera Cobos<sup>1</sup>, Esther Albarrán Rodríguez<sup>1</sup>, Jorge Peregrina Sandoval<sup>2</sup> Manuel Rosales Cortés<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinaria Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100 La Venta del Astillero, Zapopan, 45110, Jalisco, México

<sup>2</sup> Departamento de Biología Celular y Molecular Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Camino Ing. Ramón Padilla Sánchez No. 2100 La Venta del Astillero, Zapopan, 45110, Jalisco, México

\*Correspondencia: Guillermo Nolasco Rodríguez [gnolasco@cucba.udg.mx](mailto:gnolasco@cucba.udg.mx)

Recibido: 31-julio-2020, Revisado: 08-septiembre-2020, Aceptado 22-septiembre-2020

### **Resumen**

#### **Efecto hipoglucemiante de componentes no polares del extracto de kombucha en un modelo de diabetes en ratas**

**Introducción:** la diabetes es una enfermedad que se caracteriza por un incremento en la glucemia debido a trastornos en la producción de insulina, es necesario buscar tratamientos alternativos y naturales.

**Objetivo:** Evaluar el efecto hipoglucemiante de los componentes no polares de la kombucha en un modelo de diabetes con estreptozotocina.

**Material y métodos:** se utilizaron 96 ratas Wistar machos de 120 a 170 g PC: se dividieron en cuatro grupos: control (GC), 1 ml de solución salina estéril VO; control tratamiento (GCTx), estreptozotocina 65 mg/kg IP, 1ml de solución salina estéril VO; tratamiento kombucha (GTxK), estreptozotocina, 324 mg/kg de kombucha VO; tratamiento componentes no polares de kombucha (GTxCNP), estreptozotocina, 0.006 mg/kg de los componentes no polares VO. Se obtuvieron muestras de sangre a los días 1, 7, 14, y 21 para determinar glucosa e insulina. Se realizó un histopatológico de páncreas y un análisis estadístico ANOVA y Tukey.

**Resultados:** Los niveles de insulina presentaron valores de 2.67 y 3 mU/mL. Los niveles de glucosa del GC presentó valores de 129.58 y 130.17 mg/dL, durante los cuatro muestreos, el

grupo CTx al día 7 presentó 132.75 mg/dL y en los días 7, 14 y 21 aumentaron a 481.58 mg/dL, en tanto que los grupos GTxK y el GTxCNP, presentaron una disminución durante el mismo periodo ( $p < 0.001$ ).

**Conclusión:** los componentes no polares de la kombucha disminuyen la concentración de glucosa y mantienen la concentración de insulina sanguíneas debido a la capacidad de regeneración de las células pancreáticas.

**Palabras clave:** diabetes, estreptozotocina, kombucha, ratas, componentes no polares

### **Summary**

#### **Hypoglycemic effect of nonpolar components of kombucha extract in a model of diabetes in rats**

**Introduction:** diabetes is a disease characterized by an increase in blood glucose due to disorders in insulin production, it is necessary to seek alternative and natural treatments.

**Objective:** To evaluate the hypoglycemic effect of the nonpolar components of kombucha in a model of diabetes with streptozotocin.

**Material and methods:** 96 male Wistar rats from 120 to 170 g PC were used: they were divided into four groups: control (GC), 1 ml of sterile saline VO; treatment control (GCTx), streptozotocin 65 mg / kg IP, 1 ml of sterile saline PO; kombucha treatment (GTxK), streptozotocin, 324 mg / kg

kombucha PO; Treatment of non-polar components of kombucha (GTxCNP), streptozotocin, 0.006 mg / kg of the non-polar components PO. Blood samples were obtained at days 1, 7, 14, and 21 to determine glucose and insulin. Pancreatic histopathology and statistical analysis ANOVA and Tukey were performed.

Results: Insulin levels presented values of 2.67 and 3 mU / mL. The glucose levels of the GC presented values of 129.58 and 130.17 mg / dL, during the four samplings, the CTx group on day 7 presented 132.75 mg / dL and on days 7, 14 and 21 they increased to 481.58 mg / dL, while that the GTxK and GTxCNP groups showed a decrease during the same period ( $p < 0.001$ ).

Conclusion: the nonpolar components of kombucha decrease glucose concentration and maintain blood insulin concentration due to the regenerative capacity of pancreatic cells.

**Key words:** diabetes, streptozotocin, kombucha, rats, nonpolar components.

### Introducción

La diabetes es un padecimiento metabólico, caracterizado por hiperglucemia seguida de un defecto absoluto o relativo en la secreción de insulina por las células  $\beta$  del páncreas, que se acompaña, de cambios en el metabolismo de lípidos y proteínas, lo que trae como consecuencia, alteraciones vasculares en diferentes órganos como los ojos, riñón, nervios y corazón [6, 14, 17, 24].

La diabetes es una enfermedad que afecta a un gran número de personas alrededor del mundo, y aumenta año con año, según estudios realizados por la OMS hay 482 millones de enfermos en el mundo de los que 62.8 millones de personas se encuentran en América Latina y en México existen 8.7 millones de enfermos, es la mayor causa de muerte con 1.5 millones de personas al año [3].

La enfermedad se presenta de dos maneras: la diabetes mellitus de tipo 1, también llamada insulino dependiente o juvenil y la de tipo 2, la primera se caracteriza por una destrucción de las células  $\beta$  del páncreas mediada por los linfocitos T, a causa de una respuesta autoinmune como la insulina glutamato descaboxilasa, y tirosina fosfatasa, esta a su vez se divide en diabetes Mellitus 1A (DM1A) y Diabetes Mellitus 1B (DM1B) la diabetes mellitus tipo 2 también llamada idiopática y en la cual no hay una relación directa con los linfocitos T, si no que se debe a factores genéticos o ambientales o bien al papel que juegan algunas glándulas como el páncreas [1, 9, 21, 10].

Para el control de esta enfermedad existe una diversidad de tratamientos tanto alopáticos como medicinas alternativas, entre las que se encuentra

el uso del Té de kombucha que en contraste con los diferentes fármacos no provocan efectos secundarios desagradables, las sustancias activas del kombucha se dirigen a todo el sistema corporal a través de sus propiedades metabólicas para restablecer las condiciones en las membranas celulares sin efecto secundario y por lo tanto promueven el bienestar [2, 15].

La kombucha es un cultivo orgánico y simbiótico de levaduras y bacterias benéficas obtenida de la infusión de té negro o verde, endulzada con azúcar que forman una zooglea (membrana gelatinosa), formada por microorganismos *Acetobacter aceti*, *Acetobacter pasteurianus*, *Acetobacter xylinum* *Saccharomyces* spp, *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Brettanomyces* spp, *Torulaspora delbrueckii* y *Candida stellata*, y compuestos nutritivos y terapéuticos: como vitaminas del complejo B, aminoácidos, polifenoles, flavononoides, taninos, además de ácidos orgánicos que se obtienen mediante un proceso de fermentación de 12 días a temperatura de 22-25° C, varios de sus componentes tienen características antibióticas, desintoxicantes, antiinflamatorios, antihipertensivos, ayuda en problemas digestivos, activa la función del páncreas y regula la glucosa en sangre, además juega un papel decisivo en los procesos bioquímicos del cuerpo. Por lo que en base a sus principios activos polares y no polares, la kombucha puede ser usada como regenerador de células pancreáticas productoras de insulina y disminuir los efectos negativos provocados por la diabetes mellitus tipo I [11, 20, 19, 15, 22, 30].

### Materiales y Métodos

Este proyecto se llevó a cabo en el animalario del Departamento de Medicina Veterinaria del centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara. Se utilizaron 96 ratas de la cepa Wistar machos, de 120-170 g colocadas en jaulas individuales cada uno, y alimentadas a libre acceso con alimento comercial para roedores, con un contenido proteico de 23 %. Bajo condiciones de humedad, luz y temperatura controladas (temperatura  $22 \pm 1$  °C, y periodos de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad). Los animales se dividieron en cuatro grupos a los cuales se les determinó el nivel de glucosa sanguínea de una muestra de sangre obtenida de la cola de la rata, posteriormente se les aplicó una dosis de 65 mg de estreptozotocina (SZT) (sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) diluida en un buffer citrato a pH 4.5 a volumen de 0.5 ml para inducir diabetes tipo II., vía de administración intraperitoneal, por último se determinaron los niveles de glucosa sanguínea a las 24 horas postinyección, posteriormente uno de los grupos recibió una

dosis de 324 mg/kg vía oral del extracto de Kombucha, a un segundo grupo se le aplicó 0.006 mg/kg de las fracciones no polares del extracto de kombucha por la misma vía, durante 21 días y el tercer grupo se consideró como grupo control [25, 28].

#### *Diseño del modelo experimental para la inducción de diabetes tipo 2*

Se emplearon 96 ratas Wistar macho con peso de 120 a 170 g, alimentadas *ad libitum*, distribuidas en cuatro grupos de 24 ratas cada uno de acuerdo a la asignación de tratamientos (Tabla I).

#### *Elaboración del té de kombucha*

El té kombucha se preparó a partir de una zooglea la cual es una especie de madre o nata de vinagre al que se le agregó un litro de té verde ya preparado y enfriado a temperatura ambiente y mezclado con 150 g de azúcar refinada, después se tapó con una tela semipermeable al paso del aire pero no de partículas y se dejó reposar durante 14 días en un frasco de vidrio alejado de la luz directa para que se fermente, posteriormente se extrajo el líquido o la fermenta y se guardó en refrigeración para evitar que se convierta en vinagre el extracto resultante o te de kombucha como comúnmente se le llama y del cual se separaron los componentes no polares [19].

#### *Obtención de los componentes no polares*

Para la obtención de los componentes no polares se utilizó 1/3 (100 mL) de la solución de Té de kombucha y 2/3 de hexano (200 mL), que se colocaron en una perilla de decantación, se agitaron y se dejaron reposar durante tres minutos, de esto se obtiene la primera fracción, posteriormente a 1/2 (100 mL) de la primera fracción se agregó 1/2 de hexano (100 mL) se colocan en la perilla de decantación y se obtiene finalmente 100 mL, por último se colocan las fracciones por separado en matraces Erlenmeyer de 500 mL en refrigeración. Para las fracciones no polares se pesó el volumen total junto con el matraz bola en una balanza, posteriormente se colocó en un rotavapor para separar el hexano, por último, se pesó el matraz bola sin el hexano y se agregaron 400 µL de dimetil sulfoxido (DMSO) y aforó con solución estéril a un volumen total de 210 mL de solución para proporcionar a los animales [25].

#### **Determinación de los niveles de insulina y glucosa**

Se obtuvieron los sueros de las muestras sanguíneas de todos los animales para la determinación de insulina y glucosa a los días 1, 7, 14 y 21 días utilizando técnica de espectrofotometría que se basa en medir cuanta luz absorbe una sustancia química y esta luz tiene una intensidad que puede ser medida porque se forma un haz luminoso que logra atravesar la solución en esta técnica se aprovecha la absorción

de radiación electromagnética en la zona del ultravioleta y visible del espectro en der-lamber [12].

#### *Estudio histopatológico del páncreas*

El análisis se realizó en el área de Patología del Departamento de Medicina Veterinaria del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara, se seleccionó un individuo al azar de cada uno de los lotes para extraer el páncreas el cual se perfundió con solución salina, fijado 12 horas con solución de formol al 10 % y deshidratado con alcohol etílico a concentraciones crecientes (70 a 96 %) de 6 a 24 horas, posteriormente el tejido se aclaró con xilol, alcohol durante un periodo de 1 a 6 horas. Se efectuó la impregnación con parafina de 30 minutos a 6 horas, se realizaron cortes de 5 micras con un micrótopo y se tiñeron mediante la técnica de hematoxilina-eosina, para analizar los principales cambios morfológicos en los islotes de Langerhans del páncreas en cada uno de los cortes revisados [13].

#### *Análisis estadístico*

Los resultados fueron analizados mediante un ANOVA de una vía y la comparación entre medias con la prueba de Tukey a un nivel de significancia del 0.05, en el software Sigma Stat v3.1.

GRUPO	n	Estreptozotocina IP dosis única	Solución salina estéril (SSE) 21 días	Kombucha Vía Oral 21 días	Componentes No Polares Vía Oral 21 días
Control	24		1 mL		
Control Tratamiento	24	65mg/kg	1 mL		
Tratamiento kombucha	24	65mg/kg		324 mg/kg	
Tratamiento componentes no polares	24	65mg/kg			0.006 mg/kg

Tabla 1. Distribución de grupos y tratamientos

## **Resultados**

### *Niveles de insulina*

El los resultados obtenidos de la concentración de insulina expresados en mU/ml en sangre de ratas, se identifica que para el día 1 los cuatro grupos se comportan de manera similar, el grupo control (GC) presenta una concentración de 2.98, el grupo control tratamiento (GCTx) 3.0, el grupo tratamiento kombucha (GTxK) 2.97 mientras que el grupo tratamiento de componentes no polares (GTxCNP) 3.01 mU/ml respectivamente, por lo que no presenta una diferencia estadísticamente significativa, para el 7 de tratamiento la concentración del (GC) no cambia, 2.98 mientras que para el (GCTx) disminuye a 2.87, el (GTxK) 3.30 y el (GTxCNP) 3.44 mU/ml, mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento

( $p < 0.001$ ) para el día 14 de tratamiento los animales del (GC) mantienen la misma concentración de insulina 2.98 mU/ml. los animales del (GCTx) 2.85 los del (GTxK) 3.30 y el (GTxCNP) 3.48 mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento ( $p < 0.001$ ) por ultimo para el día 21 de tratamiento el (GC) presenta una concentración de insulina de 2.99

mU/ml. mientras que los animales del (GCTx) 2.67, los del (GTxK) 3.27 y los del (GTxCNP) de 3.50 mU/ml presentando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento ( $p < 0.001$ ) (figura 1).

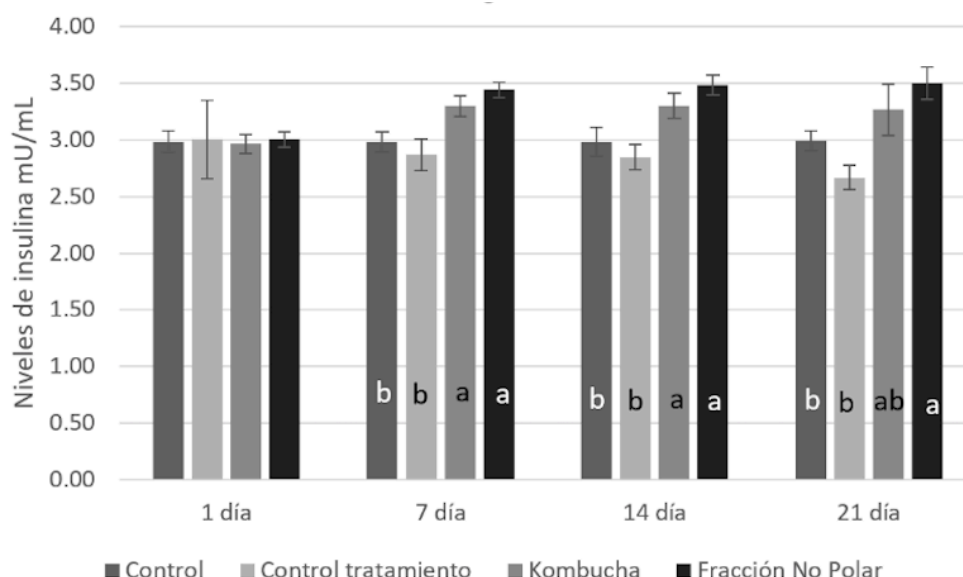


Figura 1. Se muestran los niveles de insulina expresado en mU/mL (promedio y desviación estándar) a,b indican diferencia estadística entre grupos

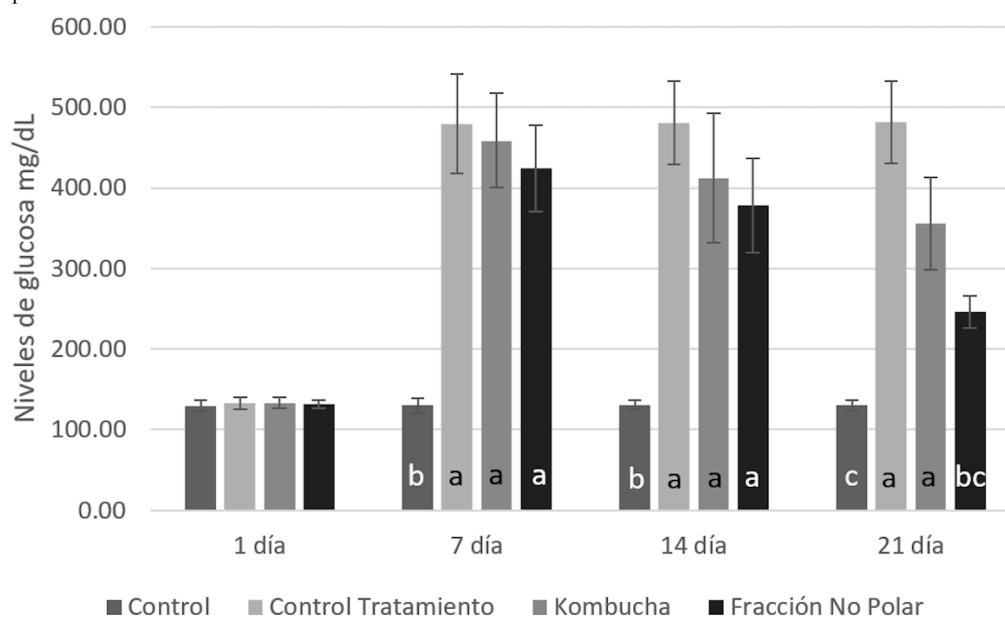


Figura 2. Se muestran los niveles de glucosa expresado en mg/dL (promedio y desviación estándar) a,b,c indican diferencia estadística entre grupos

#### Niveles de glucosa

En los resultados sobre la concentración de glucosa expresada en mg/dL en sangre de ratas de los cuatro grupos para el día 1, se identifica que en el grupo control (GC) 129.58, el (GCTx)

132.75, el (GTxK) 133.25 y el (GTxCNP) 131.83 mg/dL. por lo que no presenta una diferencia estadísticamente significativa, para el día 7 de tratamiento la concentración de glucosa del (GC) no cambia, 129.92 mientras que para el (GCTx)

presenta un incremento muy marcado de 479.33, el (GTxK) 458.58 y el (GTxCNP) 424.58 mg/dL, mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento ( $p < 0.001$ ) para el día 14 de tratamiento los animales del (GC) mantienen una concentración de glucosa de 130.67 mg/dL. Los animales del (GCTx) 479.33 los del (GTxK) 412.25 y el (GTxCNP) 378.08 mg/dL, mostrando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento ( $p < 0.001$ ) para el día 21 de tratamiento el (GC) presenta una concentración de glucosa de 130.17 mg/dL. mientras que los animales del (GCTx) 481.58, los del (GTxK) 355.92 y los del (GTxCNP) de 245.83 mg/dL presentando una diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control y los grupos en tratamiento ( $p < 0.001$ ) (figura 2).

#### *Análisis Histopatológico*

En los cortes histológicos del páncreas de ratas teñidos con H-E muestran que en el grupo control para el día 7 del experimento se observan sin cambios, las glándulas pancreáticas exocrinas y los tubos exocrinos, de igual forma, se observan más de un islote de Langerhans por campo (objetivo de 10 X), así como una población regular de células alfa y beta. Mientras que en el páncreas de ratas del grupo control tratamiento (C/Tx) se observa hipoplasia severa de Islotes de Langerhans con presencia discreta de células Alfa y células Beta; Glándulas exocrinas, evidente disminución de actividad de células cimógenas, para los animales que fueron tratados con el extracto completo de kombucha en el páncreas se observan escasos islotes de Langerhans por campo además de primordialmente células Alfa, escasas células Beta, degeneración del islote, mientras que para el páncreas de animales tratados con las fracciones no polares durante el mismo periodo de tratamiento el páncreas: presenta en los Islotes de Langerhans células alfa y discreta población de células beta. glándula exocrina, mayor actividad de células cimógenas.

#### **Discusión**

Los resultados muestran que los niveles de tanto de glucosa como de insulina el primer día del experimento presentaron valores normales que coinciden con los mencionados por investigaciones recientes, para la insulina 3.00 mU/ mL y los de glucosa (60.0 –161.7 mg/dL) [18].

La estreptozotocina como agente inductor de diabetes ha sido utilizada desde el siglo pasado por varios investigadores utilizando diferentes modelos animales a dosis que van desde los 25 hasta 100 mg/kg de peso corporal, así como diferentes vías de administración, en este caso al

aplicar este fármaco los niveles de insulina y de glucosa se modificaron, ya que el efecto hiperglucemiante se obtuvo en las dos primeras horas pos aplicación debido posiblemente a un efecto glicolítico en el hígado, decayendo más tarde a las diez horas, incrementándose después a las 24 horas originando hiperglicemia permanente, provocando como consecuencia que disminuyeran los niveles de insulina, la duración del estado diabético depende de la dosis de estreptozotocina, ya que dosis de más de 100 mg. Provocan una destrucción inmediata de las células  $\beta$  del páncreas e inclusive la muerte por coma diabético y teniendo un efecto hasta por 30 días [16, 8, 4, 27, 29].

El té de kombucha se ha convertido en una bebida de uso muy popular a nivel mundial por sus efectos benéficos en un sinnúmero de padecimientos que van de leves como trastornos digestivos hasta enfermedades cronicodegenerativas como hipercolesterolemia, hipertensión y diabetes, en el presente estudio se desea revelar los efectos del té de kombucha y sus componentes no polares en un modelo de rata con diabetes mellitus, problema que año con año sigue afectando a millones de personas alrededor del mundo [19].

Esta enfermedad fue inducida con estreptozotocina administrada de forma intraperitoneal a una dosis de 65 mg/kg, al analizar los resultados se observa que el primer día del experimento la insulina se encuentra entre los 2.98 y 3.0 mU/mL. y 2 o 3 unidades marcan la diferencia en la presencia de diabetes estos resultados se presentaron en los cuatro grupos en experimentación: control, control tratamiento, tratamiento kombucha y tratamiento componentes no polares, para el día 7 los resultados encontrados muestran que el grupo control mantiene los niveles basales de 2.98, mientras que con la aplicación de la estreptozotocina, medicamento utilizado para inducir la diabetes en los otros tres grupos el nivel de insulina se vio disminuido el grupo control tratamiento disminuyó, debido a la destrucción leve de las células  $\beta$ , lo que repercute en un bajo control de glucemia, el grupo tratado con kombucha incremento su nivel en tanto que el grupo tratado con los componentes no polares mantiene una insulinemia debido a la capacidad de recuperación que tienen estos sobre las células  $\beta$  del páncreas [26, 7, 5].

Para el día 14 de tratamiento los niveles de insulina del grupo control no se modificaron, mientras que en los otros tres grupos si hubo modificaciones significativas, en el caso del grupo control tratamiento los niveles de insulina bajaron discretamente, mientras que en el grupo tratamiento kombucha y componentes no polares



se incrementó debido a que la insulina disminuye los niveles de glucosa al ayudar a ingresar esta molécula al interior de las células, que tiene como tejido blanco al músculo estriado, el hígado y el tejido graso, ejerciendo acciones anabolizantes de almacenamiento de glucosa en forma de glucógeno o utilización de la misma en la fosforilación oxidativa.

Las células  $\beta$  funcionan como un sensor de la glucemia, lo que les permite integrar señales de nutrientes y moduladores como la llegada del alimento al tubo digestivo y su posterior absorción se acompaña de numerosas señales que son: aumento de los niveles de glucosa y de otros metabolitos en plasma, secreción de algunas hormonas gastrointestinales, activación de nervios parasimpáticos, etc. Todas estas señales controlan la secreción de insulina que tiene receptores en la membrana de células como el hígado. Incrementa la actividad y estimula la síntesis de la glucocinasa, favoreciendo la utilización de la glucosa, en músculo estimula la entrada de glucosa (por translocación de los GLUT 4 hacia la membrana). y tejido adiposo estimula la captación (GLUT 4) y utilización de glucosa por el adipocito [9].

En relación con las concentraciones de glucosa de la misma manera los niveles de los cuatro grupos el primer día de toma de muestra se mantuvieron de los rangos mencionados en otras investigaciones (60.0–161.7 mg/dL) y para el día 7, 14 y 21 del experimento los resultados en el grupo control se mantuvieron en las mismas concentraciones mientras que los niveles de glucosa en el grupo control tratamiento se incrementó en 263 %, en tanto el grupo tratamiento kombucha en 247% y el tratamiento componentes no polares 222 %, para el día 14 el grupo control [18].

El efecto logrado sobre los niveles tanto de insulina como de glucosa tiene su origen en presencia de los componentes primarios y secundarios que derivan del proceso de fermentación de la kombucha como la presencia del ácido acético que puede reducir el azúcar en la sangre al prevenir la completa digestión de carbohidratos complejos, que se lleva a cabo ya sea mediante la aceleración del vaciado gástrico o por el aumento de la captación de glucosa por los tejidos corporales. El vinagre puede inactivar algunas de las enzimas digestivas que descomponen los carbohidratos en el azúcar, lo cual ralentiza la conversión de carbohidratos complejos en azúcares de un alimento en su torrente sanguíneo. Esto le da a su cuerpo más tiempo para sacar el azúcar de su sangre, evitando que sus niveles de azúcar se eleven, además de la presencia de otros metabolitos secundarios como los polifenoles, (la epicatequina (CE) y la

epigallocatequina (EGC)) sustancias antioxidantes responsables de los efectos sobre las enfermedades cardiovasculares y cronicodegenerativas, así como sus componentes no polares como una alternativa eficiente para el tratamiento de la diabetes mellitus [22].

Los principales hallazgos en los cortes histológicos del páncreas muestran la relación que existe entre la concentración de glucosa y los islotes de Langerhans y la producción de insulina por las células  $\beta$ , hormona encargada de disminuir la concentración de glucosa.

Los resultados encontrados el primer día se encuentran sin cambios en la morfología de los islotes de Langerhans, así como número por lo que tanto el nivel de insulina como el de glucosa se encuentran dentro de los rangos normales.

Al aplicar la estreptozotocina a tres de los cuatro grupos los tejidos empiezan a mostrar cambios tanto en número como en la forma de las células pancreáticas, ya que en el GC permanece sin cambios aparentes, mientras que en el GCTx se mantiene disminuido el número de células  $\beta$ , por el efecto del fármaco estreptozotocina pero mostrando una ligera recuperación celular tanto en el GTxK como el GTxCP debido quizás a la capacidad regenerativa del páncreas aunado esto a las propiedades protectoras tanto de la kombucha como sus componentes no polares [23].

## Conclusión

Con base en los resultados encontrados se deduce que tanto la kombucha como sus componentes no polares tienen un efecto positivo en la diabetes mellitus tipo II disminuyendo la concentración de glucosa y manteniendo la concentración de insulina sanguíneas debido a la capacidad de regeneración de las células pancreáticas.

## Bibliografía

1. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1. Provisional report of a WHO. Diabet Med. 1998; 15(7):539-53
2. Aloulou, A, Hamden K, Elloumi D, Ali M, Hargafi K, Jaouadi B, Ayadi F, Elfeki A, Ammar E. Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. BMC Complementary and Alternative Medicine, 2012;12 (1). doi: 10.1186/1472-6882-12-63
3. American Diabetes Association (ADA). Summary of Revisions: Standards of Medical Care in Diabetes—2019. Diabetes Care. 2019; 42(Suppl 1): S4-S6.

4. Arias DJ y Balibrea J. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutr Hosp*. 2007; 22(2):160-68
5. Bequer L, Gómez T, Molina JL, López F, Gómez CL, Clapés S. (2014) Moderate hyperglycemia induction in Wistar rats by neonatal streptozotocin inoculation. subcutaneous or intraperitoneal injection? *Revista Argentina de Endocrinología y Metabolismo*. 2014; 51(4): 178-184
6. Bequer, L, Gómez T, Molina JL, Artiles D, Bermúdez R, Clapés S. Acción de la estreptozotocina en un modelo experimental de inducción neonatal de la diabetes. *Biomédica*. 2016;36(2): 230-238.
7. Crofts C, Schofield G, Zinn C, Wheldon M, Kraft J. Identifying hyperinsulinaemia in the absence of impaired glucose tolerance: An examination of the Kraft database. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2016; 118:50-57.
8. Figueroa GMC, Pérez HI, Mejía ZR. (2013). Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. *Revista MVZ Córdoba*. 2013; 18, 3699-3707. <https://doi.org/10.21897/rmvz.137>
9. Fortich RAJ. Fisiología de la secreción de insulina y glucagón. Asociación Colombiana de Endocrinología. 2015. [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)
10. Gobierno Vasco. Guía de práctica clínica sobre diabetes tipo 2. Edición: 1ª ed. Editorial: Vitoria-Gasteiz : Eusko Jaurlaritzaren Argitalpen Zerbitzu Nagusia = Gobierno Vasco, Servicio Central de Publicaciones. 2008 ISBN: 978-84-457-2754-6
11. González TSV, Vázquez ODA, Espinosa RJB, Gómez PARA. Estudio Comparativo de la microbiota aislada del hongo kombucha y su uso en la elaboración de alimentos fermentados para Síndrome metabólico. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2019; 4: 237-247
12. Gros N, Harrison T, Dolinar KA, Drusany SI. Spectrometry at school: hands-on experiment. *The European Journal for Science Teachers*. 2010; 14:42-47
13. Heffess CS, Mullick FG. Métodos Histotecnológicos. Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP). 1995. Pp.55-59.
14. International Diabetes Federation (IDF). Atlas de la diabetes de la FID. Séptima edición. 2015. [https://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones\\_ficheros/95/IDF\\_Atlas\\_2015\\_SP\\_WEB\\_oct2016.pdf](https://www.fundaciondiabetes.org/upload/publicaciones_ficheros/95/IDF_Atlas_2015_SP_WEB_oct2016.pdf)
15. Jayabalan R, Baskaran S, Marimuthu S, Swaminathan K, Yun SE. Effect of kombucha tea on aflatoxin B1 induced acute hepatotoxicity in albino rats-prophylactic and curative studies. *J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem*. 2010; 53(4), 407-416.
16. Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *The Journal of Clinical Investigation*. 1969; 48: 2129-2139
17. Kaufman FR (Ed.). *Medical Management of Type 1 Diabetes*. 6th ed. Alexandria, VA, American Diabetes Association, 2012.
18. León GAC, Blanco D, Peña A, Ronda M, González BO, Arteaga ME, Bada AM, González Y, Mancebo A. Hematological and biochemical parameters in Sprague Dawley laboratory rats breed in CENPALAB, Cenp: SPRD. *RedVet* 2011; 12(11):1-10.
19. Martínez LJ, Valenzuela SL, Jayabalan R, Huerta OJ, Escalante AA. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites, *CyTA - Journal of Food*, 2018; 16:1: 390-399, DOI: 10.1080/19476337.2017.1410499
20. Milanović S, Kanurić K, Vukić V, Hrnjez D, Ilić M, Ranogajec M, Milanović M. Physicochemical and textural properties of kombucha fermented dairy products. *African Journal of Biotechnology*. 2012; 11(9): 2320-2327, 31
21. Ministerio de Salud Pública. Guía de Práctica Clínica (GPC) de Diabetes mellitus tipo 2. Primera Edición Quito: Dirección Nacional de Normatización; 2017. Disponible en: <http://salud.gob.ec>
22. Murugesan GS, Sathishkumar M, Jayabalan R, Binupriya AR, Swaminathan K, Yun SE. Hepatoprotective and curative properties of Kombucha tea against carbon tetrachloride-induced toxicity. *J Microbiol Biotechnol*. 2009;19(4):397-402.
23. Olvera GCP, Leo AGE, Hernández MHL. Páncreas y células beta: mecanismos de diferenciación, morfogénesis y especificación celular endocrina ¿Regeneración?. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2008; 65:306-323
24. OMS, Informe Mundial sobre la Diabetes, Organización Mundial de la Salud (OMS) Ginebra. 2016. <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/254649/9789243565255-spa.pdf?sequence=1>
25. Parthasarathy R, Ilavarasan R, Karrunakaran CM. Antidiabetic activity of Thespesia Populnea bark and leaf extract against streptozotocin induced diabetic rats. *Journal*

- of PharmTech Research. 2008; 1(4):1069-1072.
26. Reynoso OR, Elizondo GOF, Bañuelos PJ, Ramos IML, Noa PM, Jiménez PC, Puebla PAM. Caracterización Fisicoquímica y Fitoquímica de la Semilla de *Swietenia humilis* Zucc (caoba) y su Efecto Sobre la Concentración de Glucosa Sanguínea en el Modelo de Diabetes Inducida con Estreptozotocina en Ratas. *Majorensis*. 2017; 13: 1-10
  27. Rosales HAL. Determinación de hemoglobina glicada (hba) en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina. Tesina profesional para obtener el título de licenciatura en Biología experimental. Unidad de Investigación Experimental. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubiran. 1994
  28. Vargas GB, García LPM, Martínez AAL, Domínguez RJA, Gurrola DCM. Administration of *Lupinus albus* gamma conglutinin (Cγ) to n5 STZ rats augmented *Ins-1* gene expression and pancreatic insulin content. *Plant Foods Hum Nutr*. 2014;69(3):241-247.
  29. Vélez S, Gómez L, Tapia D, Guerrero E, Morán J. Standardization of the diabetes type 1 experimental model induced by streptozotocin in sprague-dawley rats. *Rev Méd Cient*. 2015; 28(1):4-13.
  30. Yavari N, Assadi MM, Larijani, K, Moghadam, MB. Response surface methodology for optimization of glucuronic acid production using kombucha layer on sour cherry juice. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. 2010; 4(8):3250-3256