

Evaluación del β -Cariofileno sobre el estrés oxidativo de ratones BALB/c con hiperglicemia inducida mediante la administración de estreptozotocina

María de Jesús Romero-Hernández, estudiante

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

Oscar Gutiérrez-Coronado, PhD

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

José Luis Muñoz-Carrillo, PhD

Laboratorio de Ciencia Básica, Facultad de Odontología, Escuela de Ciencias Biomédicas, Universidad Cuauhtémoc

Juan Manuel Viveros-Paredes, PhD

Departamento de Farmacobiología, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara

Paola Trinidad Villalobos-Gutiérrez, PhD

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

[Doi:10.19044/esj.2022.v18n8p112](https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n8p112)

Submitted: 07 January 2022

Accepted: 01 February 2022

Published: 28 February 2022

Copyright 2022 Author(s)

Under Creative Commons BY-NC-ND

4.0 OPEN ACCESS

Cite As:

Romero-Hernández M., Gutiérrez-Coronado O., Muñoz-Carrillo J., Viveros-Paredes J.M., & Villalobos-Gutiérrez P.T.,(2022). *Evaluación Del β -Cariofileno Sobre El Estrés Oxidativo De Ratones BALB/C Con Hiperglicemia Inducida Mediante La Administración De Estreptozotocina* European Scientific Journal, ESJ, 18 (8), 112.

<https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n8p112>

Resumen:

Introducción. El β -cariofileno es un sesquiterpeno bicíclico que se encuentra distribuido en el aceite esencial de varas plantas como clavo de olor, pimienta, orégano, romero y *Cannabis sativa*. **Objetivo.** En este trabajo se evaluó el efecto antioxidante del β -cariofileno en un modelo de hiperglicemia inducido por estreptozotocina (STZ). **Material y métodos.** La hiperglicemia fue inducida a ratones BALB/c por la administración de una dosis única de STZ (160 mg/kg) vía intraperitoneal. Los ratones se dividieron en 4 grupos: el

grupo control; el grupo de β -cariofileno; el grupo de STZ y el grupo de STZ mas β -cariofileno, el tratamiento de β -cariofileno se administro una dosis diaria de 10 mg/kg vía oral durante 4 semanas, mientras que al grupo control y el grupo de STZ solo se les administro 150 μ l de vehículo. Posterior al tratamiento se determinaron los niveles de glucosa, la actividad de catalasa, los niveles de las sustancias reactivas del ácido tiobarbitúrico (TBARS) y oxido nítrico (NO) en plasma. **Resultados.** La administración de β -cariofileno mostró un efecto hipoglucemiante disminuyendo significativamente los niveles de glucosa durante el tratamiento acentuándose mas esta disminución en la semana 4. Así mismo, se observó una disminución significativa en los niveles de TBARS y NO en el grupo tratado con β -cariofileno, sin embargo, no se observaron cambios en la actividad de la catalasa (CAT). **Conclusión.** Estos datos demuestran que el tratamiento con β -cariofileno muestra propiedades hipoglucemiante, así como un efecto antioxidante en un modelo de hiperglicemia inducida por STZ, colocando al β -cariofileno como una alternativa en los trastornos que conlleva la hiperglicemia.

Palabras clave: β -cariofileno, estreptozotocina, hiperglicemia, estrés oxidativo

Evaluation of β -caryophyllene on Oxidative Stress in BALB/C Mice with Hyperglycemia Induced by the Administration of Streptozotocin

María de Jesús Romero-Hernández, estudiante

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

Oscar Gutiérrez-Coronado, PhD

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

José Luis Muñoz-Carrillo, PhD

Laboratorio de Ciencia Básica, Facultad de Odontología, Escuela de Ciencias Biomédicas, Universidad Cuauhtémoc

Juan Manuel Viveros-Paredes, PhD

Departamento de Farmacobiología, Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara

Paola Trinidad Villalobos-Gutiérrez, PhD

Laboratorio de Inmunología, Departamento de Ciencias de la Tierra y de la Vida, Centro Universitario de los Lagos, Universidad de Guadalajara

Abstract

Introduction. β -caryophyllene is a bicyclic sesquiterpene found in the essential oil of various plants such as cloves, pepper, oregano, rosemary, and *Cannabis sativa*. **Objective.** In this work, the antioxidant effect of β -caryophyllene was evaluated in a model of hyperglycemia-induced by streptozotocin (STZ). **Material and methods.** Hyperglycemia was induced in BALB/c mice by the administration of a single dose of STZ (160 mg/kg) intraperitoneally. The mice were divided into 4 groups: the control group; the β -caryophyllene group; In the STZ group and the STZ group plus β -caryophyllene, the β -caryophyllene treatment was administered a daily dose of 10 mg/kg orally for 4 weeks, while the control group and the STZ group were only administered 150 μ L of vehicle. After treatment, glucose levels, catalase activity, TBARS, and nitric oxide (NO) levels in plasma were determined. **Results.** The administration of β -caryophyllene showed a hypoglycemic effect, significantly decreasing glucose levels during treatment, this decrease being more accentuated in week 4. Likewise, a significant decrease in the levels of TBARS and NO were observed in the group treated with β -caryophyllene, however, no changes were observed in catalase activity. **Conclusion.** These data show that treatment with β -caryophyllene shows hypoglycemic properties, as well as an antioxidant effect in a model of hyperglycemia-induced by STZ, placing β -caryophyllene as an alternative in

the disorders associated with hyperglycemia.

Keywords: β -caryophyllene, streptozotocin, hyperglycemia, estres oxidative

Introducción

La diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) es una enfermedad caracterizada por hiperglucemia, hiperlipidemia y resistencia a la insulina orgánica. Este cambio patológico en los niveles de energía circulante y la utilización del sustrato energético por los tejidos centrales y periféricos contribuye a la disfunción mitocondrial donde se llevan a cabo vías celulares críticas como el metabolismo del sustrato energético y las especies reactivas de oxígeno (ROS). El desequilibrio de estos procesos en la DMT2 da como resultado déficits posteriores en las funciones vitales, incluido el metabolismo de los hepatocitos, el gasto cardíaco, la contracción del músculo esquelético, la producción de insulina de las células β y la salud neuronal (Pinti, M. V., et al., 2019). La estreptozotocina (STZ) es un análogo citotóxico de glucosa, se usa en el tratamiento para cáncer de páncreas y como agente antimicrobiano (Lenzen, 2008). Inhibe la secreción de insulina a través del transportador de glucosa 2 (GLUT2) de baja afinidad lo que provoca daño selectivo en las células β pancreáticas. Por lo tanto, el desarrollo de la diabetes mellitus (DM) después del daño a los islotes pancreáticos se relaciona con la inducción local y sistematizada del estrés oxidativo (Samarghandian y col., 2017). El estrés oxidativo es un factor esencial para el desarrollo y la progresión de la diabetes, se basa en la disminución de la hiperglucemia y las actividades antioxidantes endógenas del organismo (Mihailović et al., 2015). El nivel alto de ROS puede dañar la estructura de varias biomoléculas, incluidos los lípidos, proteínas y el ADN, que conduce a un aumento del estrés oxidativo en diversas enfermedades en el humano, como DM y enfermedades neurodegenerativas (Phaniendra, et al., 2015). Un signo de daño oxidativo a las células y tejidos de pacientes diabéticos es la peroxidación de lípidos (LPO) (Chatziralli. I. P., et al., 2017). Los ácidos grasos libres (AGL) están implicados en inducir la producción de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) e incrementar los niveles de NO (Bredt, D. S., & Snyder, S. H., 1994). Altas concentraciones de NO ejerce un efecto citotóxico para las células β , a través de la inhibición de la secreción de insulina, interrupción del transporte de electrones, inducción de peroxidación lipídica y apoptosis (Assmann, T. S., et al., 2016). Recientemente el uso de fitoquímicos antioxidantes como coadyuvantes en el manejo de la diabetes ha tomado importancia. El β -Cariofileno es un sesquiterpeno bicíclico natural aislado de aceite de hoja de clavo de olor, aceite de tallo de clavo, aceite de hoja de canela y fracciones de aceite de pino. Se ha utilizado como agente aromatizante y como ingrediente de fragancia desde la década de 1930 (Viveros-Paredes, J. M., et al., 2017). Es un agonista selectivo

del receptor cannabinoide tipo 2 (CB2R), que se expresa mayormente en el sistema nervioso periférico. (Klauke, A. L., et al., 2014). Este receptor inhibe la adenilil ciclasa y activa la proteína cinasa activada por mitógeno mediante señalización a través de proteínas Gi/o (Pertwee, R. G., et al., 2010). Existen varios antioxidantes en las células ya sea enzimáticos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa) o no enzimáticos (como glutatión y ácido úrico) como eliminadores de las ROS, para prevenir el daño oxidativo en las membranas biológicas (Pieme, C. A., et al., 2017; Ibrahim, A., et al., 2017). El mecanismo antioxidante del β -cariofileno está vinculado a su estructura ya que posee anillos dobles, lo que permite la inserción de radicales libres, evitando el deterioro del estado oxidante/antioxidante, teniendo efectos protectores contra las variables del estrés oxidativo hepático lo que evita un aumento en los niveles de ROS y TBARS, y mejorando el sistema de defensa antioxidante hepático primario (Baldissera, M. D., et al., 2017). El aumento de la glucemia en ayunas afecta los niveles de glutatión reducido y la CAT en pacientes diabéticos. El aumento en la actividad de la CAT puede ser una respuesta a una inducción de la enzima causada por el alto nivel de su sustrato (organoperoxidos y H_2O_2) (Pieme y col., 2017). En este sentido, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto del β -cariofileno sobre el estrés oxidativo en un modelo murino tras la administración de estreptozotocina.

Materiales Y Métodos

Animales

Para el experimento se utilizaron 40 ratones machos BALB/c, con un peso promedio de 22 a 30 gramos, de 2 a 3 meses de edad y con un ambiente controlado a una temperatura de 25 ± 3 °C y con un ciclo de luz y oscuridad de 12:12, con libre acceso a alimento. Fueron manipulados de acuerdo a las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999 publicada por SAGARPA en el Diario Oficial del Gobierno Mexicano 22 de Agosto de 2001).

Inducción de hiperglicemia

Los ratones (n=20) con ayuno de 16 horas se les administro una dosis única de 160 mg/kg de STZ vía intraperitoneal. Los niveles de glucosa y el peso se monitorearon al término de 10 días posteriores a la administración de STZ.

Administración de β -cariofileno y vehículo (Tratamiento)

Los ratones (n=40) se dividieron en 4 grupos: el grupo de β -cariofileno (n=10); el grupo de STZ mas β -cariofileno (n=10) a ambos grupos se les administro una dosis diaria de 10 mg/kg de β -cariofileno vía oral disuelto en

150 μ l de solución salina fisiológica como vehiculo durante 4 semanas, mientras que al grupo control (n=10) y el grupo de STZ (n=10) solo se les administro 150 μ l de vehículo.

Determinación de los niveles de glucosa basal

Esta prueba se realizó una vez a la semana colocando ayuno de 4 horas, durante 4 semanas de tratamiento, y se determinó la glucosa en sangre utilizando un glucómetro digital *Contour* de Bayer, haciendo una punción en el extremo de la cola, al finalizar la toma de glucosa, se administrará vía oral a cada grupo el tratamiento correspondiente.

Sacrificio y obtención de plasma

Todos los ratones se anestesiados con 50 mg/kg de pentobarbital sódico (PISABENTAL®, Reg. SAGARPA Q-7833-215), previo a la recolección del plasma. Cada ratón se inyectó vía subcutánea 200 μ l de heparina y se obtuvo la sangre por punción cardiaca (Jekl, V., et al., 2005). La sangre obtenida se centrifugó por 10 minutos a 10,000 RPM separando el plasma, las muestras se almacenaron a -80 °C para la posterior determinación de catalasa, peroxidación lipídica y óxido nítrico.

Catalasa (CAT)

La determinación de actividad de catalasa se realizó bajo el protocolo indicado por el fabricante: *Catalase Assay Kit* (ab83464) de Abcam®. La catalasa presente en la muestra reacciona con el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), para producir agua y oxígeno. El peróxido no convertido reacciona con la sonda óxido/reducción y el producto que se forma se mide colorimétricamente a 570nm.

Lípidos Oxidados (LPO)

Para la evaluación de peroxidación de lípidos se utilizó el kit TBARS bajo el protocolo indicado por el fabricante: *TBARS Assay (KGE013)*, que mide concentración de malondialdehído (MDA) formado cuando los hidroperóxidos y aldehídos lipídicos resultantes de la peroxidación de lípidos de la membrana celular reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA). El MDA es un pigmento rosa cristalino cuya absorción máxima se registra a 532 nm.

Determinación del óxido nítrico

Este ensayo se basa en la reacción de Griess, que determina el óxido nítrico total basado en la conversión enzimática de nitrato a nitrito por la nitrato reductasa. La reacción es seguida por una detección colorimétrica de nitrito como un compuesto azo coloreado de la reacción de Griess. Las placas

fueron leídas a una longitud de onda de 540 nm en un lector de microplacas (R & D Systems Minneapolis, MN, USA).

Análisis Estadístico

Los datos se expresaron como la media \pm desviación estándar de un número de muestra de 40 ratones machos. Las diferencias significativas entre las medias de los tratamientos se determinaron mediante un ANOVA con una prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). Para su análisis se utilizó el Software *GraphPad Prism 6*.

Resultados

Efecto del β -cariofileno sobre los niveles de glucosa.

En la figura 1 se muestran los niveles basales de glucosa de los diferentes grupos de trabajo 10 días posteriores a la administración de 160 mg/kg de STZ, en los grupos de STZ y STZ+ β -cariofileno, ambos grupos mostraron un incremento en los niveles de glucosa en sangre (148.85 ± 10.43 mg/dL y 150.12 ± 18.85 mg/dL respectivamente) y al ser comparados con el grupo control este incremento es significativo ($p < 0.01$).

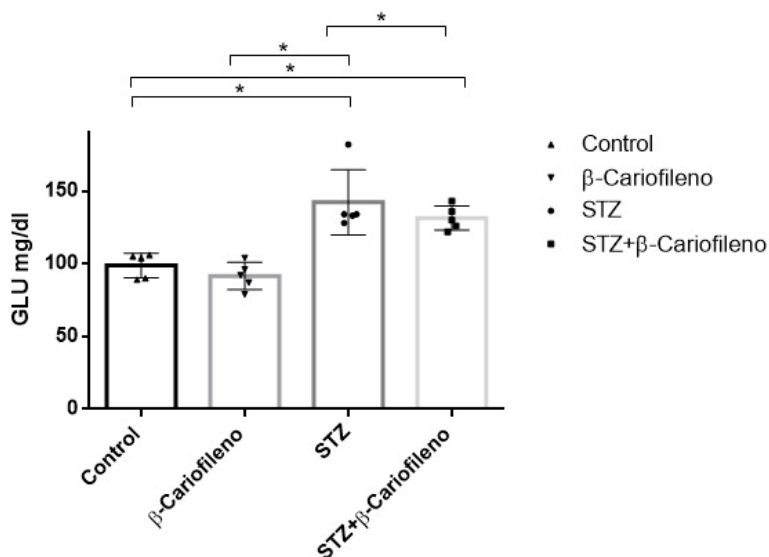


Figura 1. Niveles basales de glucosa en ratones con hiperglicemia 10 días posteriores a la administración de STZ. El grupo control y el grupo de β -cariofileno son ratones sanos, el grupo de STZ así como el grupo STZ+ β -cariofileno solo recibieron el daño por la administración de estreptozotocina. Los datos están representados como la media \pm desviación estándar obtenidos de 5 ratones por cada grupo. * $p < 0.01$

La figura 2, muestra el efecto de la administración de β -cariofileno (10 mg/kg vía oral) sobre los niveles de glucosa después de una, dos, tres y cuatro

semanas. El tratamiento con el β -cariofileno disminuye significativamente ($p < 0.01$) los niveles de glucosa de 150.12 ± 18.85 mg/dL (grupo de STZ) a 131.20 ± 6.04 mg/dL (grupo de (STZ+ β -cariofileno), durante una semana de tratamiento, este mismo efecto se observa durante la semana 2 y 3 de tratamiento (Figura 2b y 2c respectivamente) y se acentúa más cuando los ratones reciben el tratamiento durante 4 semanas (Figura 2d), disminuyendo los niveles de glucosa hasta 114 ± 5.35 mg/dL, siendo esta disminución significativa ($p < 0.01$) al ser comparada con el grupo que solo recibió la STZ.

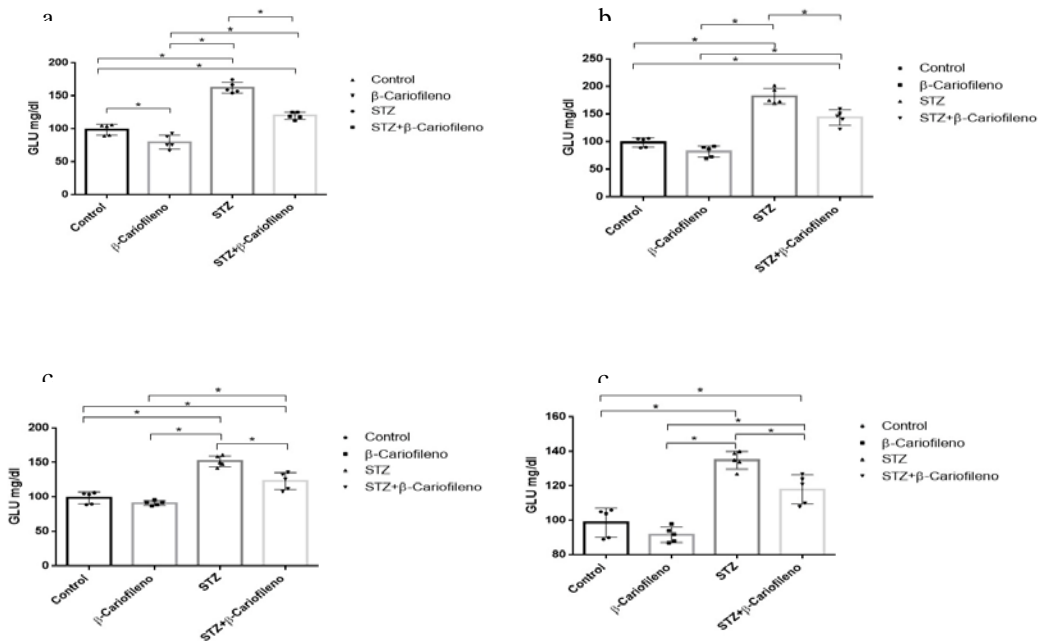


Figura 2. Efecto del β -cariofileno (10 mg/kg) sobre los niveles de glucosa en sangre de ratones con hiperglicemia inducida por STZ. a) niveles de glucosa con 1 semana de tratamiento con β -cariofileno; b) Niveles de glucosa durante 2 semanas de tratamiento con β -cariofileno; c) Niveles de glucosa durante 3 semanas de tratamiento con β -cariofileno; d) Niveles de glucosa durante 4 semanas de tratamiento con β -cariofileno. Los datos están representados como la media \pm desviación estándar obtenidos de 5 ratones por cada grupo. * $p < 0.01$.

Actividad de catalasa en suero

La actividad de catalasa en suero de ratones tratados con β -cariofileno, se muestra en la figura 3, donde la actividad de la catalasa en plasma del grupo STZ, así como del grupo de STZ+ β -cariofileno, mostraron un incremento en la actividad de esta enzima, sin embargo, este incremento no fue significativo al compararlo con el grupo control.

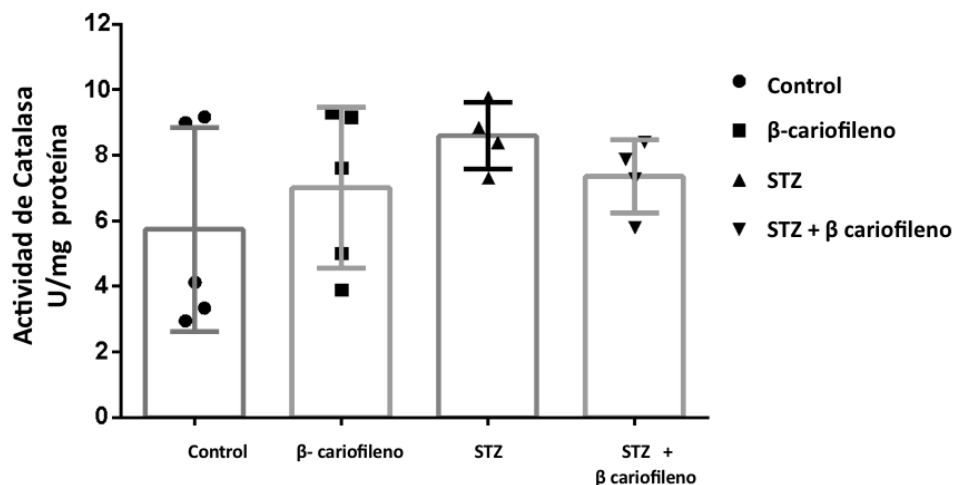


Figura 3. Efecto del β -cariofileno durante 4 semanas sobre la actividad de catalasa en suero de ratones con hiperglicemia inducida por la administración de 160 mg/kg STZ. El grupo de control corresponde a ratones sanos; el grupo de β -cariofileno solo recibió 10 mg/kg de β -cariofileno; el grupo de STZ recibió solo STZ; el grupo de STZ + β -cariofileno recibió STZ y tratado con 10 mg/kg de β -cariofileno. Los datos están representados como la media \pm desviación estándar obtenidos de 5 ratones por cada grupo.

Efecto del β -cariofileno sobre los lípidos oxidados

El efecto del β -cariofileno en los niveles de TBARS se representa en la figura 4. En el grupo que recibió STZ mostró un incremento significativo en índice de peroxidación lipídica (TBARS) (* $p < 0.001$) comparado con el grupo control, mientras que el tratamiento con β -cariofileno disminuyó la peroxidación lipídica y esta disminución fue significativa (* $p < 0.001$) al compararlo con el grupo que solo recibió STZ.

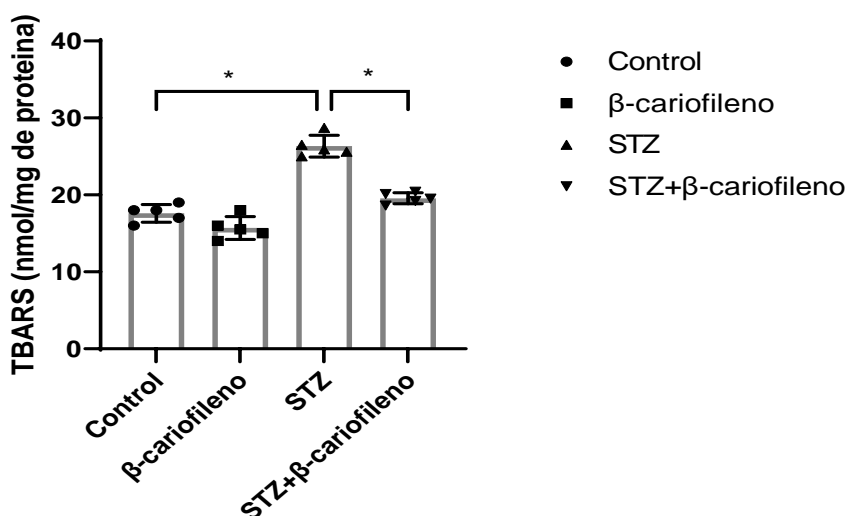


Figure 4. Efecto del β -cariofileno durante 4 semanas sobre la peroxidación de lípidos (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico; TBARS) en suero de ratones con hiperglicemia inducida por la administración de 160 mg/kg STZ. El grupo de control corresponde a ratones sanos; el grupo de β -cariofileno solo recibió 10 mg/kg de β -cariofileno; el grupo de STZ recibió solo STZ; el grupo de STZ + β -cariofileno recibió STZ y tratado con 10 mg/kg de β -cariofileno. Los datos están representados como la media \pm desviación estándar obtenidos de 5 ratones por cada grupo. * $p < 0.001$.

Efecto del β -cariofileno sobre los niveles de oxido nitrico

En la figura 5 se muestra el efecto del β -cariofileno sobre los niveles de oxido nítrico en plasma de ratones con hiperglicemia inducida con STZ. La administración de STZ induce un incremento significativo en los niveles de oxido nítrico, mientras que al grupo tratado con β -cariofileno mostró una disminución en dichos niveles de oxido nítrico, siendo esta disminución significativa al ser comparada con el grupo que solo recibió STZ.

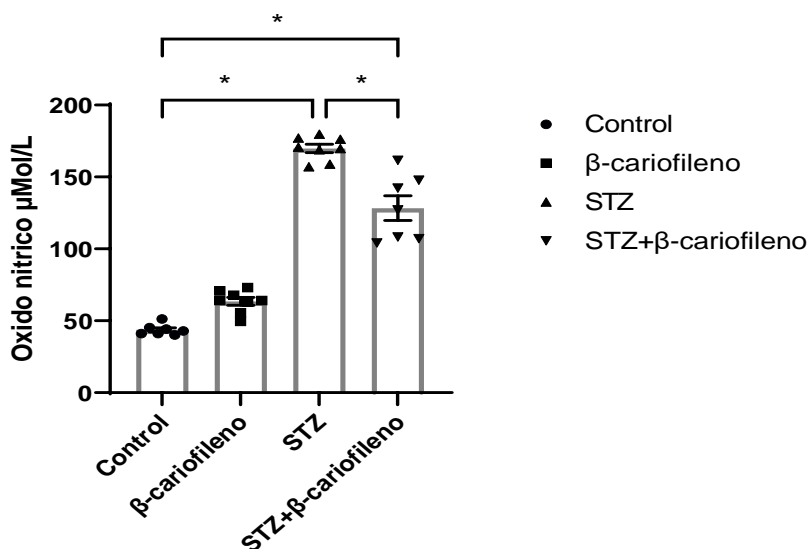


Figura 5. Efecto del β-cariofileno administrado durante 4 semanas sobre los niveles de óxido nítrico en suero de ratones con hiperglicemia inducida por la administración de 160 mg/kg STZ. El grupo de control corresponde a ratones sanos; el grupo de β-cariofileno solo recibió 10 mg/kg de β-cariofileno; el grupo de STZ recibió solo STZ; el grupo de STZ + β-cariofileno recibió STZ y fue tratado con 10 mg/kg de β-cariofileno. Los datos están representados como la media ± desviación estándar obtenidos de 5 ratones por cada grupo. * $p < 0.001$.

Discusión

El β-cariofileno es un sesquiterpeno bicíclico, es un metabolito secundario que pertenece al grupo de los terpenos y contribuye al aroma de los aceites esenciales principalmente de *Cannabis sativa*, así como de plantas como la canela (*Cinnamomum spp.*), el orégano (*Origanum vulgare L.*) y la pimienta negra (*Piper nigrum L.*) (Scandiffio, R., et al., 2020; Sharma, C., et al., 2016). A esta molécula se le han atribuido diferentes actividades farmacológicas como analgésica, antimicrobiana, antifúngica, antiinflamatoria y antioxidante (Youssef, D.A., et al., 2019).

En este trabajo se evaluó el efecto que tiene el β-cariofileno sobre el estrés oxidativo en un modelo de hiperglicemia inducido por STZ. En este estudio se demostró que el β-cariofileno tiene un efecto hipoglucemiante, así como un efecto antioxidante en el modelo de hiperglicemia inducido por STZ. La acción tóxica de la STZ implica su absorción por la célula, su toxicidad selectiva por las células β del páncreas se relaciona con la entrada a través del transportador de glucosa 2 en la membrana plasmática, lo que conduce a una la muerte de las células β por fragmentación del DNA, a través de tres diferentes mecanismos: I) Metilación del DNA a través de la formación de iones carbonio (CH^{3+}); II) Producción de óxido nítrico y III) Generando

radicales libres (Eleazu, C. O., et al., 2013). En este estudio se observó que la administración de STZ altera la homeostasis de la glucosa mostrando una elevación en los niveles de glucosa en sangre en comparación con el grupo control sano, esta alteración puede ser debido al efecto toxico de la STZ sobre las células β del páncreas, esto datos están acorde con lo reportado en otros estudios (Renitta, R. E., et al., 2020; Surbala, L., et al., 2020). El grupo que se les administro el β -cariofileno durante 10 días mostraron una disminución significativa en los niveles de glucosa en sangre (figura 2). El β -cariofileno se le ha atribuido diferentes efectos farmacológicos asociados al CB2R, como cardioprotector, hepatoprotector, neuroprotector, nefroprotector, gastroprotector, quimiopreventivo, antioxidante, antiinflamatorio, inmunomodulador, así como en el metabolismo de la glucosa (Hashiesh, H. M., et al., 2021).

Algunos reportes han mostrado que el β -cariofileno tiene efecto sobre los niveles de glucosa e insulina, tras la administración oral de β -cariofileno disminuyó los niveles de glucosa y normalizó los niveles de insulina. También se ha observado una mejora en la prueba de tolerancia a la glucosa, manteniendo el mismo efecto sobre los niveles de glucosa en insulina (Basha, R. H., & Sankaranarayanan, C. 2014).

Por otro lado, el β -cariofileno promueve la secreción de insulina estimulada por glucosa en células- β MIN6, este es efecto mediado por la activación del CB2R (Suijun, W., et al 2014). Estos resultados se suman a lo reportado previamente donde el β -cariofileno mejora la tolerancia a la glucosa así como su metabolismo en ratones con hiperglicemia inducida por STZ.

La propiedad antioxidante de β -cariofileno se evaluó sobre los niveles de catalasa, peroxidación de lípidos y óxido nítrico. El estrés oxidativo es la alteración entre el balance que existe entre los agentes pro-oxidantes y el sistema anti-oxidante del organismo. A este desbalance se le ha atribuido varios cambios celulares, entre ellos el incremento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), lo que activa la apoptosis en las células β del páncreas, produciendo niveles elevados de glucosa y estadios de hiperglicemia (Volpe, C., et al 2018).

La administración de STZ muestra un ligero incremento en la actividad de la catalasa, sin embargo este incremento no es significativo, así como el incremento que se observa cuando se da el tratamiento con el β -cariofileno, sin embargo, la peroxidación de lípidos como TBARS se incremento en el grupo de STZ, esto debido a que durante la hiperglicemia la glucosa reacciona con las proteínas para formar proteínas carboniladas lo que genera radicales que son reactivos, y generando así un incremento en la peroxidación lipídica. En el tratamiento con β -cariofileno los niveles de TBARS disminuyeron

significativamente, esto acorde con lo reportado previamente (Basha, R. H., & Sankaranarayanan, C., 2016).

También se ha demostrado que la administración de β -cariofileno disminuye los niveles de TBARS en hígado de ratas hipercolesterolémicas así como las ERO, lo que sugiere que se mejora el sistema de defensa antioxidante hepático (Baldissera, M. D., et al 2017).

Por otro lado, el NO es generado por la oxidación de la L-arginina a través de tres diferentes enzimas, siendo la iNOS la que genera cantidades elevadas de NO (Hosogi. S., et al 2008). En condiciones de hiperglicemia se eleva la producción de las ERO y se incrementa la expresión de iNOS, lo que conduce a un aumento en la producción de NO. La interacción de ERO y NO da como producto una mayor producción de especies reactivas de nitrógeno, como consecuencia se induce el estrés nitrosativo (Yang, P., et al., 2010). Nuestros resultados muestran un incremento significativo en los niveles de NO en el grupo de STZ, este incremento se debe principalmente a que la hiperglicemia induce a la iNOS en los islotes de las células de Langerhans, produciendo concentraciones elevadas de NO (Henningsson, R., et al., 2002), en este sentido, las células β son particularmente sensibles al daño que ejerce el óxido nítrico, así como, los radicales libres (Spinass G. A. 1999).

El tratamiento con de β -cariofileno en ratones a los que se les indujo hiperglicemia con STZ, los niveles de NO disminuyeron significativamente, este efecto se ha reportado *in vitro* donde células BV-2 de microglía estimuladas con LPS y tratadas con β -cariofileno mostrando una disminución en la producción de NO así como la expresión de la iNOS (Chang, H. J., et al., 2013).

Conclusión

En este trabajo se demostró que la administración de β -cariofileno durante 4 semanas a una dosis de 10 mg/kg ejerce un efecto hipoglucemiante, logrando disminuir los niveles de glucosa en sangre de ratones con hiperglicemia inducida por STZ. Además, el β -cariofileno posee un efecto antioxidante, lo que se demuestra con la disminución en los niveles de TBARS así como el NO, lo que evita el estrés oxidativo y nitrosativo. En este sentido nuestros resultados demuestran que el β -cariofileno puede coadyuvar en el tratamiento de hiperglicemia así como el estrés oxidativo generado por esta condición.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento al **PRODEP** (Apoyo a profesores con perfil deseable) que financio esta investigación con el número de proyecto **258019**. Y a todos los autores que apoyaron esta investigación.

References:

1. Akmaev, I. G., & Grinevich, V. V. (2001). From Neuroendocrinology to Neuroimmunoendocrinology. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, *REVIEWS*, *1*, 15-23. <https://doi.org/10.1023/A:1017566226140>
2. Assmann, T. S., Brondani, L. A., Bouças, A. P., Rheinheimer, J., de Souza, B. M., Canani, L. H., Bauer, A. C., & Crispim, D. (2016). Nitric oxide levels in patients with diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Nitric oxide : biology and chemistry*, *61*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.niox.2016.09.009>
3. Baldissera, M. D., Souza, C. F., Grando, T. H., Doleski, P. H., Boligon, A. A., Stefani, L. M., & Monteiro, S. G. (2017). Hypolipidemic effect of β -caryophyllene to treat hyperlipidemic rats. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*, *390*(2), 215–223.
4. Basha, R. H., & Sankaranarayanan, C. (2014). β -Caryophyllene, a natural sesquiterpene, modulates carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *Acta histochemica*, *116*(8), 1469–1479. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2014.10.001>
5. Basha, R. H., & Sankaranarayanan, C. (2016). β -Caryophyllene, a natural sesquiterpene lactone attenuates hyperglycemia mediated oxidative and inflammatory stress in experimental diabetic rats. *Chemico-biological interactions*, *245*, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2015.12.019>
6. Brecht, D. S., & Snyder, S. H. (1994). Nitric oxide: a physiologic messenger molecule. *Annual review of biochemistry*, *63*, 175–195. <https://doi.org/10.1146/annurev.bi.63.070194.001135>
7. Bryan, N. S., & Grisham, M. B. (2007). Methods to detect nitric oxide and its metabolites in biological samples. *Free radical biology & medicine*, *43*(5), 645–657. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2007.04.026>
8. Chang, H. J., Kim, J. M., Lee, J. C., Kim, W. K., & Chun, H. S. (2013). Protective effect of β -caryophyllene, a natural bicyclic sesquiterpene, against cerebral ischemic injury. *Journal of medicinal food*, *16*(6), 471–480. <https://doi.org/10.1089/jmf.2012.2283>
9. Chatziralli, I. P., Theodossiadis, G., Dimitriadis, P., Charalambidis, M., Agorastos, A., Migkos, Z., Platogiannis, N., Moschos, M. M., Theodossiadis, P., & Keryttopoulos, P. (2017). The Effect of Vitamin E on Oxidative Stress Indicated by Serum Malondialdehyde in Insulin-dependent Type 2 Diabetes Mellitus Patients with Retinopathy. *The open ophthalmology journal*, *11*, 51–58. <https://doi.org/10.2174/1874364101711010051>

10. Diario Oficial de la Federación, NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. 2001. Disponible en: <http://publico.senasica.gob.mx/?doc=743>. Accesado el 26 de Julio de 2019.
11. Eleazu, C. O., Eleazu, K. C., Chukwuma, S., & Essien, U. N. (2013). Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans. *Journal of diabetes and metabolic disorders*, 12(1), 60. <https://doi.org/10.1186/2251-6581-12-60>
12. Hashiesh, H. M., Sharma, C., Goyal, S. N., Sadek, B., Jha, N. K., Kaabi, J. A., & Ojha, S. (2021). A focused review on CB2 receptor-selective pharmacological properties and therapeutic potential of β -caryophyllene, a dietary cannabinoid. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 140, 111639.
13. Henningson, R., Salehi, A., & Lundquist, I. (2002). Role of nitric oxide synthase isoforms in glucose-stimulated insulin release. *American journal of physiology. Cell physiology*, 283(1), C296–C304. <https://doi.org/10.1152/ajpcell.00537.2001>
14. Hosogi, S., Iwasaki, Y., Yamada, T., Komatani-Tamiya, N., Hiramatsu, A., Kohno, Y., Ueda, M., Arimoto, T., & Marunaka, Y. (2008). Effect of inducible nitric oxide synthase on apoptosis in Candida-induced acute lung injury. *Biomedical research (Tokyo, Japan)*, 29(5), 257–266. <https://doi.org/10.2220/biomedres.29.257>
15. Ibrahim, A., Onyike, E., Nok, A. J., & Umar, I. A. (2017). Combined Effect on Antioxidant Properties of Gymnema Sylvestre and Combretum Micranthum Leaf Extracts and the Relationship to Hypoglycemia. *European Scientific Journal, ESJ*, 13(36), 266-281. <https://doi.org/10.19044/esj.2017.v13n36p266>
16. Jekl, V., Hauptman, K., Jeklová, E., & Knotek, Z. (2005). Blood sampling from the cranial vena cava in the Norway rat (*Rattus norvegicus*). *Laboratory animals*, 39(2), 236–239. <https://doi.org/10.1258/0023677053739774>
17. Klauke, A. L., Racz, I., Pradier, B., Markert, A., Zimmer, A. M., Gertsch, J., & Zimmer, A. (2014). The cannabinoid CB₂ receptor-selective phytocannabinoid beta-caryophyllene exerts analgesic effects in mouse models of inflammatory and neuropathic pain. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, 24(4), 608–620. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2013.10.008>

18. Lenzen S. (2008). The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 51(2), 216–226. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0886-7>
19. Mihailović, M., Arambašić Jovanović, J., Uskoković, A., Grdović, N., Dinić, S., Vidović, S., Poznanović, G., Mujić, I., & Vidaković, M. (2015). Protective Effects of the Mushroom *Lactarius deterrimus* Extract on Systemic Oxidative Stress and Pancreatic Islets in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Journal of diabetes research*, 2015, 576726. <https://doi.org/10.1155/2015/576726>
20. Pertwee, R. G., Howlett, A. C., Abood, M. E., Alexander, S. P., Di Marzo, V., Elphick, M. R., Greasley, P. J., Hansen, H. S., Kunos, G., Mackie, K., Mechoulam, R., & Ross, R. A. (2010). International Union of Basic and Clinical Pharmacology. LXXIX. Cannabinoid receptors and their ligands: beyond CB₁ and CB₂. *Pharmacological reviews*, 62(4), 588–631. <https://doi.org/10.1124/pr.110.003004>
21. Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*, 30(1), 11–26. <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>
22. Pieme, C. A., Tatangmo, J. A., Simo, G., Biapa Nya, P. C., Ama Moor, V. J., Moukette Moukette, B., Tankeu Nzufu, F., Njinkio Nono, B. L., & Sobngwi, E. (2017). Relationship between hyperglycemia, antioxidant capacity and some enzymatic and non-enzymatic antioxidants in African patients with type 2 diabetes. *BMC research notes*, 10(1), 141. <https://doi.org/10.1186/s13104-017-2463-6>
23. Pinti, M. V., Fink, G. K., Hathaway, Q. A., Durr, A. J., Kunovac, A., & Hollander, J. M. (2019). Mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes mellitus: an organ-based analysis. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism*, 316(2), E268–E285. <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00314.2018>
24. Renitta, R. E., Narayanan, R., Cypriana, P. J., V. Samrot, A. V. (2020). Antidiabetic potential of methanolic extracts of *Sargassum wightii* in streptozotocin induced diabetic mice. *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, 28, 101763. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101763>
25. Samarghandian, S., Azimi-Nezhad, M., & Farkhondeh, T. (2017). Catechin Treatment Ameliorates Diabetes and Its Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Dose-response : a publication of International Hormesis Society*, 15(1), 1559325817691158. <https://doi.org/10.1177/1559325817691158>
26. Scandiffio, R., Geddo, F., Cottone, E., Querio, G., Antoniotti, S., Gallo, M. P., Maffei, M. E., & Bovolín, P. (2020). Protective Effects

- of (*E*)- β -Caryophyllene (BCP) in Chronic Inflammation. *Nutrients*, 12(11), 3273. <https://doi.org/10.3390/nu12113273>
27. Sharma, C., Al Kaabi, J. M., Nurulain, S. M., Goyal, S. N., Kamal, M. A., & Ojha, S. (2016). Polypharmacological Properties and Therapeutic Potential of β -Caryophyllene: A Dietary Phytocannabinoid of Pharmaceutical Promise. *Current pharmaceutical design*, 22(21), 3237–3264. <https://doi.org/10.2174/1381612822666160311115226>
28. Spinas G. A. (1999). The Dual Role of Nitric Oxide in Islet beta-Cells. *News in physiological sciences : an international journal of physiology produced jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, 14, 49–54. <https://doi.org/10.1152/physiologyonline.1999.14.2.49>
29. Suijun, W., Zhen, Y., Ying, G., & Yanfang, W. (2014). A role for trans-caryophyllene in the moderation of insulin secretion. *Biochemical and biophysical research communications*, 444(4), 451–454. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2013.11.136>
30. Surbala, L., Singh, C. B., Devi, R. V., & Singh, O. J. (2020). Rutaecarpine exhibits anti-diabetic potential in high fat diet-multiple low dose streptozotocin induced type 2 diabetic mice and in vitro by modulating hepatic glucose homeostasis. *Journal of pharmacological sciences*, 143(4), 307–314. <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2020.04.008>
31. Viveros-Paredes, J. M., González-Castañeda, R. E., Gertsch, J., Chaparro-Huerta, V., López-Roa, R. I., Vázquez-Valls, E., Beas-Zarate, C., Camins-Espuny, A., & Flores-Soto, M. E. (2017). Neuroprotective Effects of β -Caryophyllene against Dopaminergic Neuron Injury in a Murine Model of Parkinson's Disease Induced by MPTP. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 10(3), 60. <https://doi.org/10.3390/ph10030060>
32. Volpe, C., Villar-Delfino, P. H., Dos Anjos, P., & Nogueira-Machado, J. A. (2018). Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications. *Cell death & disease*, 9(2), 119. <https://doi.org/10.1038/s41419-017-0135-z>
33. Yang, P., Cao, Y., & Li, H. (2010). Hyperglycemia induces inducible nitric oxide synthase gene expression and consequent nitrosative stress via c-Jun N-terminal kinase activation. *American journal of obstetrics and gynecology*, 203(2), 185.e5–185.e11.
34. Youssef, D. A., El-Fayoumi, H. M., & Mahmoud, M. F. (2019). Beta-caryophyllene alleviates diet-induced neurobehavioral changes in rats: The role of CB2 and PPAR- γ receptors. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 110, 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.11.039>