

Efectos hipoglucemiantes de extractos orgánicos de los hongos *Ganoderma* sp. y Kombucha en ratas Wistar diabéticas inducidas con estreptozotocina

Hypoglycemic effects of organic extracts from *Ganoderma* sp. and Kombucha in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats

Recepción del artículo: 24/06/2024 • Aceptación para publicación: 20/08/2024 • Publicación: 01/09/2024

● <https://doi.org/10.32870/e-cucba.vi23.355>

Pedro Hinojosa-Gómez

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-3516-6904>

Dulce Anahí Pérez-Arvizo

ORCID: <https://orcid.org/0009-0004-8016-5258>

Nancy Janette Márquez-Delgadillo

ORCID: <https://orcid.org/0009-0001-6892-4934>

José Ricardo Cuéllar-Pérez *

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7527-8627>

Guillermo Nolasco-Rodríguez

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0808-3659>

Lucía García-Delgado

ORCID: <https://orcid.org/0009-0000-0128-228X>

Esther Albarrán-Rodríguez

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0030-8630>

Manuel Rosales-Cortés

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2020-708X>

Universidad de Guadalajara. Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Departamento de Medicina Veterinaria. Zapopan, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia:

ricardo.cuellarp@academicos.udg.mx

Resumen

Evaluar el efecto hipoglucemiante de los extractos acuosos Kombucha y *Ganoderma* en un modelo de diabetes con estreptozotocina. Se utilizaron 48 ratas Wistar machos con un peso de 170 a 200 g, se formaron cuatro grupos: control (C), estreptozotocina (E) sin tratamiento, Kombucha (K) al que se administró por vía oral extracto de Kombucha 324 mg/kg y *Ganoderma* (G), tratado con extracto de *Ganoderma* utilizando la misma vía de administración a una dosis de 250 mg/kg ambos durante 45 días. Se sacrificaron cuatro animales por grupos a los 2, 15 y 45 días post tratamiento. Se registró el consumo de agua y alimento. Se determinó en sangre los niveles de glucosa e insulina y se cuantificaron los islotes de Langerhans en el páncreas. Los datos obtenidos se evaluaron con un análisis de varianza de dos vías, una prueba pos hoc de Tukey, a un nivel de significancia de 0.05%, con el Software Sigmastat 3.1. Se encontró que ambos extractos presentaron efectos hipoglucemiantes después de 15 días de tratamiento y que hay una interacción entre el número de islotes, la síntesis de insulina, el consumo de agua y alimento, siendo el grupo de estreptozotocina quien presentó el más bajo promedio de islotes en comparación con los demás grupos. Ambos extractos mostraron un efecto hipoglucemiante, protector y regenerativo en páncreas, observándose diferencias en la condición física de los animales tratados con *Ganoderma*, que presentaron caquexia.

Palabras clave: Estreptozotocina, insulina, islotes de Langerhans.

Abstract

Evaluate the hypoglycemic effects of Kombucha and *Ganoderma* aqueous extracts in a model of diabetes with streptozotocin. Eight-week-old male wistar rats weighing approximately 180 g were randomized into four groups (12 rats each group). Control group (C), streptozotocin (E) without treatment, Kombucha (K) was given Kombucha extract 324 mg/kg orally, and *Ganoderma* group (G) was given 250 mg/kg orally both for 45 days. Four animals per group were sacrificed at 2-, 15- and 45-days post treatment. Consumption of water and food were registered. Blood glucose and insulin levels were measured by spectrophotometry and the islets of Langerhans in the pancreas were quantified by ELISA assay. Data were analyzed with an ANOVA two-ways and Tukey's test as post hoc, Sigmastat 3.1 Software was used and 0.05% significance was considered. Among the main results found, both extracts presented hypoglycemic effects after 15 days of treatment. An interaction between the number of islets, insulin synthesis, water, and food consumption were also found with the streptozotocin group that presented the lowest average number of islets compared to other groups. Both extracts showed a hypoglycemic, protective and regenerative effect on the pancreas, with differences observed in the physical condition of the animals treated with *Ganoderma*, which showed signs of cachexia.

Keywords: Streptozotocin, insulin, islets of Langerhans.

Introducción

La diabetes es una enfermedad metabólica, crónica y degenerativa (Galicia-García *et al.*, 2020; Rojas *et al.*, 2012), que afecta a un gran número de personas en todo el mundo, según el último informe de la OMS, la diabetes ha causado alrededor de 1,6 millones de muertes desde 2015 (www.who.int). La frecuencia se ha intensificado más en los países de ingresos medios y bajos. En todo el mundo, la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es un problema de salud humana en rápido desarrollo (Sánchez-Martínez *et al.*, 2020; Coughlan *et al.*, 2014). En los pacientes aumentan los niveles de glucosa sanguínea debido a varios factores como la baja producción de insulina en el páncreas (OMS, 2016), o por alteraciones de los receptores de células blanco bloqueando la captación de insulina en los tejidos (Galicia-García *et al.*, 2020; Hayes-Dorado, 2008). La hiperglucemia provocada por este padecimiento tiene como consecuencia la afectación de diversos órganos como los ojos, corazón, riñón, nervios, páncreas y vasos sanguíneos (Hayes-Dorado, 2008; Rojas *et al.*, 2012). Esta enfermedad requiere de tratamientos alopáticos convencionales y prolongados que solo controlan la enfermedad y que a largo plazo causan efectos secundarios con más complicaciones para el paciente, lo que representa elevados costos para los sistemas de salud de los países (Cervantes-Villagrana, 2013). La búsqueda de nuevos tratamientos es fundamental para abordar la complejidad de la diabetes, mejorar el manejo de la enfermedad y ofrecer mejores opciones para los pacientes.

Existe una gran cantidad de sustancias alternativas que a través de los años se han utilizado de forma empírica para tratar esta enfermedad y una de ellas es una bebida fermentada conocida popularmente como Kombucha, que se caracteriza por tener una simbiosis de bacterias y levaduras, entre las que se encuentran el género *Acetobacter*, *Zygosaccharomyces* y *Candida spp.* (Vargas-Mora, 2011) además de componentes químicos entre ellos: ácidos orgánicos como el úsrico (Jayabalan *et al.*, 2014), vitaminas B y C, minerales (Martínez-Leal *et al.*, 2018) y polifenoles (Jayabalan *et al.*, 2010). Gracias a esta combinación se le atribuyen efectos antivirales, antibacterianos e hipoglucemiantes (Naranjo *et al.*, 2018; Martínez-Leal *et al.*, 2018; Nolasco-Rodríguez *et al.*, 2022). El Kombucha al parecer tiene varios mecanismos para reducir los niveles de azúcar en la sangre, uno de ellos es debido a la presencia de polifenoles que retardan la absorción de los carbohidratos a nivel intestinal y al mismo tiempo protegen los islotes de Langerhans del páncreas (Bhattacharya *et al.*, 2014; Coskun *et al.*, 2005; Olinda y Shenoy, 2016). Otro elemento indispensable en la disminución de la glucosa sanguínea, es el ácido acético que manifiesta actividad antidiabética al reducir la digestión

y absorción de los carbohidratos e inhibiendo la conversión de azúcares simples a complejos mediante actividad enzimática evitando que lleguen grandes cantidades al torrente sanguíneo (González-Téllez *et al.*, 2019). Otros estudios sugieren que los polifenoles de Kombucha reducen la actividad de enzimas digestivas, tales como alfa amilasa, así provoca bajos niveles de absorción de glucosa por una disminución en la digestión de carbohidratos y disminución de niveles de glucosa en sangre (Aloulou *et al.*, 2012)

En el caso del extracto de *Ganoderma sp.* existen estudios que demuestran que tienen la capacidad terapéutica para actuar como antioxidante, anticanceroso, antiinflamatorio e hipoglucemiante, también posee propiedades antitumorales, antihistamínicas, antihipertensivas y actividad antiagregante plaquetario (Kao *et al.*, 2013; Yue *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2011). Contiene agentes antioxidantes, esteroides, alcaloides, polisacáridos y todos los aminoácidos esenciales, así como polifenoles, terpenoides, triterpenos, esteroides, vitaminas del complejo B, minerales (Smina *et al.*, 2011), además del ergosterol y sus derivados que reducen la peroxidación lipídica por lo que es importante conocer el efecto sobre los niveles de glucosa en la sangre (Kobori *et al.*, 2007). Una revisión realizada por Wińska *et al.* (2019), muestran que los polisacáridos y terpenoides juegan un papel importante en la reducción de los niveles de glucosa en suero, donde los polisacáridos son capaces de incrementar los niveles de flujo de Ca^{2+} en células beta de páncreas incrementando la liberación de insulina (Zheng *et al.*, 2019), además de reducir el estrés oxidativo por inhibición enzimas antioxidantes (Lu *et al.*, 2012). En el caso de los terpenoides como es el caso de los triterpenos presentes en el hongo *Ganoderma* su principal función es inhibir las enzimas aldosa reductasa y alfa glucosidasa, involucradas en el metabolismo de la glucosa (Ma *et al.*, 2015).

Al considerar la creciente preocupación por los índices registrados para la diabetes mellitus y a la luz de las prometedoras oportunidades que la Kombucha y el hongo *Ganoderma* podrían generar para el tratamiento y/o prevención de esta problemática enfermedad, el presente estudio se llevó a cabo para investigar y evaluar los efectos hipoglucemiantes y la regeneración de los islotes de Langerhans del páncreas con extractos de Kombucha y *Ganoderma* y utilizando un modelo de rata diabética. Además, la serie de limitaciones relacionadas con el uso de los fármacos antidiabéticos sintéticos existentes, actualmente se buscan soluciones naturales y este trabajo sería el primero en evaluar dichos efectos.

Materiales y métodos

Se utilizaron 48 ratas machos adultos jóvenes de la cepa Wistar con un peso corporal de 200 ± 10 g alojadas en

condiciones de bioterio con agua y alimento *ad-libitum* con ciclos de luz/oscuridad de 12 horas con clima (26°C) se formaron cuatro grupos (n=12) de la siguiente manera: un grupo control (C) el cual recibió un ml de agua estéril, un grupo con diabetes mellitus inducida con estreptozotocina, sin tratamiento (E), un grupo diabético tratado con extracto acuoso de Kombucha (K) a una dosis de 324 mg/kg de peso vivo vía oral (Aloulou *et al.*, 2012) y otro grupo diabético tratado con extracto del hongo *Ganoderma* sp. a una dosis de 250 mg/kg de peso por vía oral, la administración de los dos extractos fue diariamente durante 45 días que duró el estudio. Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo a los principios y procedimientos de la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, en la cual se establecen las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio y por la Comisión de Bioética del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias (Dictamen CINV/016/2024).

Para la preparación del extracto de *Ganoderma* sp. se utilizaron basidiomas, cultivados con sustrato que contiene aserrín (80%) y rastrojo de maíz completo (20%), una porción de cal y yeso, con humedad del 75%. Después, se esteriliza con calor húmedo (121 grados Celsius, 1.5 libras de presión) durante 50 minutos. Una vez que fructifica se cosecha, se deshidrata y tritura, se toman 100 g de muestra y se agregan en 100 ml de agua hirviendo a 120 °C durante 30 minutos, se filtra y la parte acuosa se lleva a sequedad total en rotavapor para obtener el extracto (Chen *et al.*, 2018) y se realiza una cuantificación de extracto por diferencia de peso. Para conseguir una concentración de 250 mg/mL, se procesan 4.616 g de basidiomas y el extracto obtenido será de 250 mg y se diluye en 1 mL con agua para administrarse por vía oral.

El extracto de Kombucha se preparó a partir del cultivo de una zooglea en un litro de té verde al que se agregaron 150 g de azúcar refinada en un frasco de vidrio durante 14 días para que se fermentara, posteriormente se extrajo el fermento y se guardó en refrigeración (Martínez *et al.*, 2018), posteriormente se tomaron 10 mL del extracto para llevarse a sequedad total en rotavapor y obtener el equivalente en peso de la muestra, posteriormente se utilizó la dosis de 5 mL /kg de peso recomendada por Aloulou (2012) equivalente en mg de muestra con base en el peso de cada individuo experimental del grupo K (Nolasco-Rodríguez *et al.*, 2020).

Para inducir el modelo de diabetes, se administró estreptozotocina a cada rata a una dosis de 65 mg/kg de peso, diluida en solución buffer citrato pH 4.5 por vía intraperitoneal como única dosis y dos días después de la inducción se comprobó la hiperglucemia tomando este día

como uno (Nolasco-Rodríguez *et al.*, 2022). Las variables que se evaluaron fueron el consumo de agua y alimento, niveles de glucosa e insulina en sangre y el número de islotes de Langerhans en el páncreas.

Después de iniciado el estudio se sacrificaron 4 animales de cada grupo en los días 2, 15 y 45 para tomar muestras de sangre vía intracardiaca y cuantificar la concentración de glucosa sérica utilizando reactivos comerciales (SPINREACT REF: 1001190) a través del método espectrofotométrico así como los niveles de insulina en suero utilizando un kit de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA) (ab100578, ABCAM) siguiendo las instrucciones del fabricante. Las muestras se analizaron por duplicado y se calculó el promedio de la concentración. El límite de sensibilidad se fijó en <4 µIU/mL. El color se detectó inmediatamente después de agregar la solución “STOP” y las absorbancias se leyeron en un lector de placa (Multiskan Go, Thermo Fisher Scientific) a 450 nm.

También, se extirparon los páncreas al momento del sacrificio y se sumergieron en paraformaldehído 0.4 M y pH 7.4. Se tomaron muestras de páncreas que se sometieron al proceso histológico, para realizar cortes histológicos de 10 µm de espesor que se tiñeron con hematoxilina y eosina (Heffess y Mullick, 1995). Para la valoración y cuantificación de los Islotes de Langerhans se utilizó el objetivo de 40X del microscopio de luz, se evaluaron 10 campos por animal aleatoriamente en una superficie total de 1 000 µm.

El análisis estadístico se realizó utilizando el software Sigmasat Versión 3.1. Los datos se presentan como medias ± DEM. Las determinaciones fueron obtenidas de cuatro animales por grupo, y las diferencias fueron examinadas mediante análisis de varianza (ANDEVA) de una vía debido a que se analiza el efecto de los tratamientos durante el experimento, seguido de la prueba *pos hoc* de Tukey. La significancia estadística fue aceptada con una $p < 0.05$.

Resultados

Consumo de alimento y agua

El consumo promedio de alimento por día fue similar entre los grupos experimentales y sólo el grupo control consumió menor cantidad de alimento (42.547 ± 1.65 g/día; $p < 0.05$) comparado con los otros grupos (Figura 1).

De la misma forma, el consumo de agua fue similar entre los grupos experimentales y los grupos control (76.52 ± 2.79 mL/día; $p < 0.05$) y control EZ (121.46 ± 4.99 mL/día; $p < 0.05$) ingirieron menor cantidad de agua comparados con los otros grupos (Figura 2).

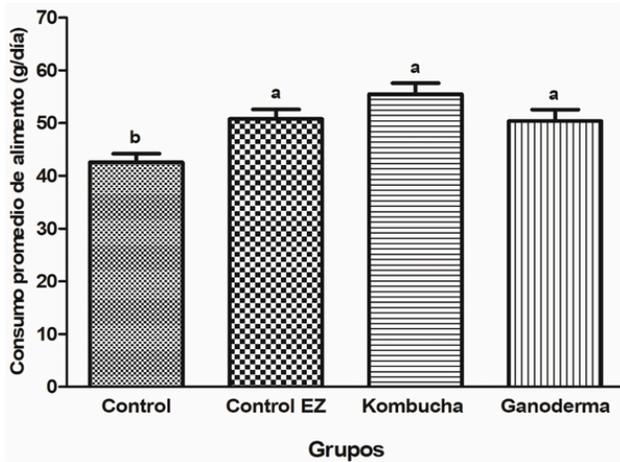


Figura 1. Consumo de alimento diario en g/día por grupo. Literales diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

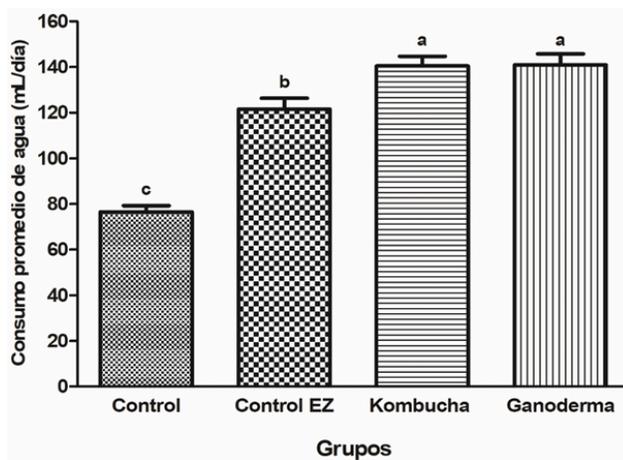


Figura 2. Consumo de agua diario en mL/día por grupo. Literales diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Niveles de glucosa e insulina

Al analizar los niveles de glucosa se encuentra que el grupo control EZ presenta altos niveles de glucosa (488 ± 94.05 mg/dL; $p < 0.05$) comparado con los otros grupos en el día 1. Además, en el día 15 de tratamiento,

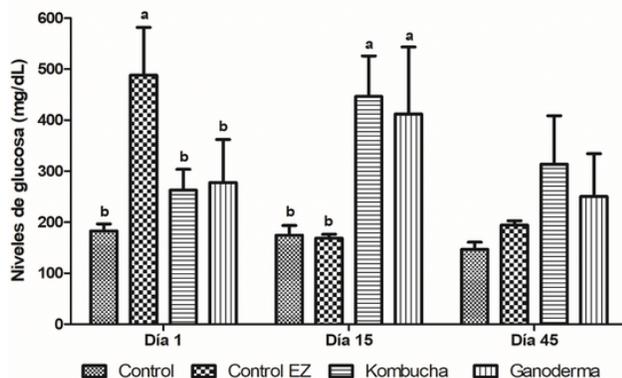


Figura 3. Niveles de glucosa en mg/dL en los cuatro grupos de estudio. Literales diferentes presentan diferencia significativa en el día correspondiente ($p < 0.05$), los valores obtenidos a los 45 días no presentan diferencias significativas.

los grupos control y control EZ presentaron bajos niveles de glucosa (174.5 ± 19.10 y 168.75 ± 7.77 mg/dL respectivamente; $p < 0.05$) comparados con los otros grupos. Al día 45, no se encontraron diferencias significativas entre los distintos grupos (Figura 3).

Al analizar los niveles de insulina se encuentra que al día 1 no existen diferencias significativas entre los distintos grupos. Sin embargo, al día 15, los niveles de insulina disminuyeron en los grupos control EZ (19.397 ± 4.988 mIU/mL), Kombucha (19.9 ± 2.483 mIU/mL) y *Ganoderma* (15.751 ± 1.732 mIU/mL) comparados con el grupo control (35.805 ± 7.334 mIU/mL; $p < 0.05$). Al día 45, el grupo tratado con Kombucha (49.235 ± 2.542 mIU/mL) presentó niveles de insulina en suero similares al grupo control (52.024 ± 10.136 mIU/mL); mientras que el grupo tratado con *Ganoderma* permaneció con niveles bajos de insulina (15.737 ± 3.819 mIU/mL) en comparación con los otros grupos (Figura 4).

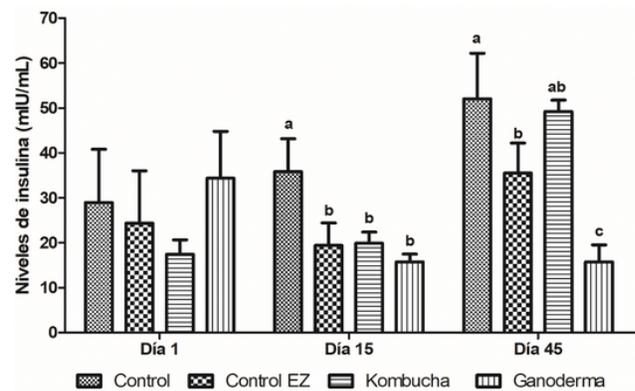


Figura 4. Niveles promedio de Insulina en suero sanguíneo en mIU/mL en los 4 grupos de estudio. Literales diferentes presentan diferencia significativa en el día correspondiente ($p < 0.05$).

Número de islotes de Langerhans

La cuantificación de Islotes de Langerhans entre grupos y tratamientos se observan diferencias estadísticas solamente al día 45 días entre el grupo control con un promedio de 8 islotes y los Kombucha y *Ganoderma* con un promedio de 3 y 5 islotes por campo respectivamente.

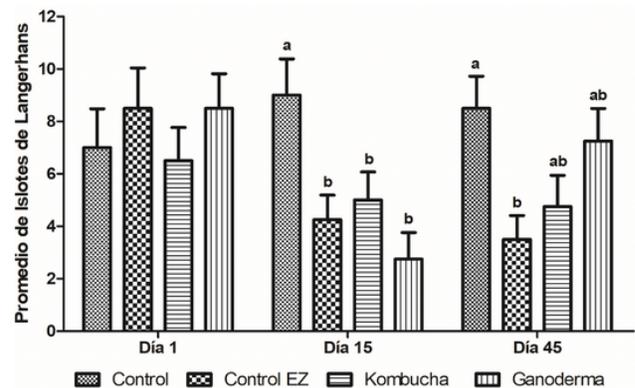


Figura 5. Promedio de Islotes de Langerhans entre grupos y en las diferentes etapas de muestreo. Literales diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$).

Discusión

Los animales del grupo tratado con *Ganoderma* estaban caquéxicos con un color de pelo amarillento sin brillo, hirsuto y bajos de peso a pesar de consumir grandes cantidades de agua y de alimento (Figuras 1 y 2), y mostraron condiciones físicas deterioradas y signos relacionados con la diabetes. Por el contrario, los animales del grupo tratados con extracto acuoso de Kombucha, su pelo era blanco brillante, con buen peso y buenas condiciones físicas, semejantes a los animales del grupo control insulina (Galicia-García *et al.*, 2020; Conget, 2002) acompañada de cambios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas (Conget, 2002).

Los niveles de glucosa e insulina tienen una interacción con el número de islotes de Langerhans como se observan en las figuras 3, 4 y 5 donde el grupo control mantiene un número promedio de islotes entre 8 y 10 por campo durante todo el estudio (Figura 5) y en la producción de insulina, que se mantiene en los 30 y 40 μ UI/ml. En el grupo de estreptozotocina se observa un incremento de glucosa en el día 1 al mismo tiempo aumenta su número de islotes, sin embargo, después comienzan a bajar en el día 15 al igual que sus niveles de glucosa e insulina, marcando una interacción entre la glucosa, los islotes y la producción de insulina coincidiendo con los resultados reportados por Szkudelski (2001).

El efecto de la inducción de la diabetes al día 15 provoca una disminución de islotes que se refleja con un aumento de glucosa en los grupos de Kombucha y *Ganoderma* pero solo el grupo tratado con Kombucha fue capaz de aumentar la síntesis de insulina a partir del día 45 como respuesta para bajar la glucosa. Aunque, el grupo de *Ganoderma* al día 45 tenía más islotes de Langerhans no pudo aumentar sus niveles de insulina para bajar los niveles de glucosa (Figuras 3, 4 y 5) debido a una disfunción los islotes que no permitió aumentar la síntesis de insulina (Mendivil-Olimpo y Sierra-Ariza, 2005; Rivas-Alpizar *et al.*, 2011).

El número de islotes de Langerhans se afectó paulatinamente en los grupos experimentales conforme avanzó el tiempo del estudio, el pico más alto del efecto de la estreptozotocina utilizada como modelo de inducción diabética es entre los 15 y 30 días post inducción (Junod *et al.*, 1969) disminuyeron a partir del día 30, como se observa en el día 1 (Figura 1) el grupo control mantuvo el promedio de islotes durante todo el estudio, mientras que los grupos experimentales empezaron bien en el día 1 y para el día 15 hay una marcada disminución de islotes que continúa durante todo el estudio observándose una leve recuperación del grupo que fue tratado con el hongo de *Ganoderma* en el día 45, resultados similares a los reportados en el estudio de Nolasco-Rodríguez *et al.* (2022). La dosis que se administró

de *Ganoderma* es similar a otros trabajos donde analizan el efecto hipoglucemiante de este extracto (Bach *et al.*, 2018; Oluba *et al.*, 2010; Seto *et al.*, 2009), donde se encontraron efectos hipoglucémicos. Mientras que la dosis utilizada de Kombucha en este estudio es mayor que en otros estudios donde dan evidencia de efectos hipoglucémicos (Bhattacharya *et al.*, 2013; Alolulou *et al.*, 2012). Durante los primeros 15 días de tratamiento existe una correlación entre la cantidad de insulina en suero sanguíneo y la cantidad de islotes de Langerhans en todos los grupos, ante esto, estudios demuestran que la estreptozotocina provoca infiltración de células inflamatorias (macrófagos) en células beta pancreáticas, dependiente de la dosis administrada, provocando su destrucción (Flores *et al.*, 2006), lo que puede explicar que este proceso inflamatorio reduzca la liberación de insulina, pero mejora la recuperación morfológica de los islotes por los efectos antiinflamatorios de la Kombucha (Dufresne y Farnworth, 2000).

Los efectos moleculares generados por los extractos de *Ganoderma* y Kombucha aún no se determinan, ya que falta por identificar las sustancias químicas involucradas en estos efectos. Estudios señalan que los polisacáridos y triterpenoides contenidos en el hongo *Ganoderma* son los compuestos bioactivos hipoglucemiantes (Wińska *et al.*, 2019). En cuanto a Kombucha se ha visto que presenta múltiples efectos en la salud, pero las sustancias bioactivas y mecanismos aún no se conocen (Pavlović *et al.*, 2023).

Conclusiones

Los tratamientos con extractos de Kombucha y *Ganoderma* presentan un efecto hipoglucemiante, en la que el tratamiento con extracto de Kombucha generó mayor cantidad de insulina en suero y el grupo tratado con *Ganoderma* recuperó islotes pancreáticos de Langerhans.

El comportamiento de los animales tratados con *Ganoderma* mantiene un número constante de islotes de Langerhans al día 45 del estudio, pero no fue capaz de sintetizar la insulina suficiente para disminuir los niveles de glucosa presentando efecto hipoglucemiante afectando las condiciones físicas de los animales, mientras que el extracto de del Kombucha presenta efecto hipoglucemiante y permite preservar buenas condiciones físicas y fisiológicas en los animales. Será necesario realizar estudios donde se analicen los componentes químicos presentes en estos extractos que sean responsables de los efectos antidiabéticos en un modelo animal previo a su aplicación clínica en pacientes humanos.

Literatura citada

- Aloulou, A., Hamden, K., Elloumi, D., Ali, M. B., Hargafi, K., Jaouadi, B., Ayadi, F., Elfeki, A. y Ammar, E. (2012). Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 12, 63. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-12-63>
- Bach, E. E., Hi, E. M. B., Martins, A. M. C., Nascimento, P. A. M. y Wadt, N. S. Y. (2018). Hypoglycemic and Hypolipidemic Effects of Ganoderma lucidum in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 5(3), 78. <https://doi.org/10.3390/medicines5030078>
- Bhattacharya, S., Oksbjerg, N., Young, J. F. y Jeppesen, P. B. (2014). Caffeic acid, naringenin and quercetin enhance glucose-stimulated insulin secretion and glucose sensitivity in INS-1E cells. *Diabetes, obesity & metabolism*, 16(7), 602–612. <https://doi.org/10.1111/dom.12236>
- Bhattacharya, S., Gachhui, R. y Sil, P. C. (2013). Effect of Kombucha, a fermented black tea in attenuating oxidative stress mediated tissue damage in alloxan induced diabetic rats. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 60, 328–340. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.07.051>
- Cervantes-Villagrana, R.D. y Presno-Bernal, J.M. (2013). Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Revista de Endocrinología y Nutrión* 21(3), 98-106.
- Chen, X. Q., Zhao, J., Chen, L. X., Wang, S. F., Wang, Y. y Li, S. P. (2018). Lanostane triterpenes from the mushroom Ganoderma resinaceum and their inhibitory activities against α -glucosidase. *Phytochemistry*, 149, 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.01.007>
- Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A. y Oter, S. (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. *Pharmacological research*, 51(2), 117–123. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2004.06.002>
- Coughlan, K. A., Valentine, R. J., Ruderman, N. B. y Saha, A. K. (2014). AMPK activation: a therapeutic target for type 2 diabetes?. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity : targets and therapy*, 7, 241–253. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S43731>
- Dufresne, C. y Farnworth, E. (2000). Tea, Kombucha, and health: a review. *Food Research International*, 33(6), 409–421. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00067-3](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00067-3)
- Flores, C., Márquez, Y., López-Ortega, A., Mendoza, C., Colmenarez, V. y Salas, Y. (2006). Caracterización de la Diabetes Mellitus experimental inducida con streptozotocina en ratones NMRI. *Gaceta de Ciencias Veterinarias*, 12(1), 13-18.
- Galicia-García, U., Benito-Vicente, A., Jebari, S., Larrea-Sebal, A., Siddiqi, H., Uribe, K. B., Ostolaza, H. y Martín, C. (2020). Pathophysiology of Type 2 Diabetes Mellitus. *International journal of molecular sciences*, 21(17), 6275. <https://doi.org/10.3390/ijms21176275>
- González-Téllez, S.V., Vázquez-Olivares, D.A., Espinosa-Raya, J.B. y Gómez-Pliego, R.A. (2019). Estudio comparativo del microbiota aislado del Hongo Kombucha y su uso en la elaboración de alimentos fermentados para Síndrome metabólico. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 4, 237-247.
- Hayes-Dorado, J.P. (2008). Diabetes mellitus tipo 1. *Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría*, 47(2), 90-96. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1024-06752008000200006&lng=es&tlng=es.
- Heffess, C.S. y Mullick, F.G. (1995). Métodos histotecnológicos. Washington: Registro de patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América (AFIP).
- Jayabalan, R., Baskaran, S., Marimuthu, S., Swaminathan, K. y Yun, S. E. (2010). Effect of Kombucha Tea on Aflatoxin B1 Induced Acute Hepatotoxicity in Albino Rats-prophylactic and Curative Studies. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53, 407–416. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.063>
- Jayabalan, R., Malbaša, R. V., Lončar, E. S., Vitas, J. S. y Sathishkumar, M. (2014). A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 13(4), 538–550. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12073>.
- Junod, A., Lambert, A. E., Stauffacher, W. y Renold, A. E. (1969). Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *The Journal of clinical investigation*, 48(11), 2129–2139. <https://doi.org/10.1172/JCI106180>
- Kao, Ch.H.J., Jesuthasan, A.C., Bishop, K.S., Glucina, M.P. y Ferguson, L.R. (2013). Anti-cancer activities of Ganoderma lucidum: active ingredients and pathways. *Functional Foods in Health Disease*, 3(2), 48-65.
- Kobori, M., Yoshida, M., Ohnishi-Kameyama, M. y Shinmoto, H. (2007). Ergosterol peroxide from an edible mushroom suppresses inflammatory responses in RAW264.7 macrophages and growth of HT29 colon adenocarcinoma cells. *British journal of pharmacology*, 150(2), 209–219. <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706972>

- Ma, H. T., Hsieh, J. F. y Chen, S. T. (2015). Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum*. *Phytochemistry*, 114, 109–113. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.02.017>
- Martínez-Leal, J., Valenzuela-Suárez, L., Jayabalan, R., Huerta-Oros, J. y Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CyTA - Journal of Food*, 16(1): 390-399.
- Mendivil-Olimpo, C.O. y Sierra-Ariza, I.D. (2005). Acción insulínica y resistencia a la insulina: aspectos moleculares. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, 53(4): 235-43. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/revfacmed/article/view/43622/44925>
- Naranjo, Q.J.C. y Ávila, C.M.C. (2018) *Kombucha. Medusomyces Gisevi, Kombucha*. <https://www.academia.edu/36279821/KOMBUCHA>
- Nolasco-Rodríguez, G., González-Valadez, R., García-Delgado, L., Albarrán-Rodríguez, E., Cuellar-Pérez, J.R., Bañuelos-Pineda, J. y Rosales-Cortés, M. (2020). Efecto hipoglucemiante de componentes no polares del extracto de kombucha en un modelo de diabetes en ratas. *Majorensis*, 16, 47-54.
- Nolasco-Rodríguez, G., González-Valadez, R., García-Delgado, L., Albarrán-Rodríguez, E., Cuellar-Pérez, J.R., Bañuelos-Pineda, J. y Rosales-Cortés, M. (2022). Effect of Kombucha and Its Non-Polar Components on Morphological Aspects of the Pancreas of Diabetic Rats with Streptozotocin. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 12, 201-217. <https://doi.org/10.4236/ojvm.2022.1212016>
- Olinda, D.F. y Shenoy, Ch.K. (2016). Protective effect of kombucha on diabetic nephropathy in streptozotocin - induced diabetic rats. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 5(3): 945-948. <https://doi.org/10.21275/v5i3.nov161951>
- Oluba, O. M., Onyeneke, E. C., Ojeh, G. C., Idonije, B. O. y Ojiezeh, T. I. (2010). Hepatoprotective Potential of Aqueous Extract of *Ganoderma lucidum* Against Carbon Tetrachloride Intoxication in Rats. *Der Pharmacia Lettre*, 2(4): 432-439. <https://www.scholarsresearchlibrary.com/abstract/determination-of-glibenclamide-in-tablets-by-densitometric-hptlc-5085.html>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). Informe mundial sobre la diabetes. Ginebra.
- Pavlović, M. O., Stajić, M., Gašić, U., Duletić-Laušević, S. y Čilerdžić, J. (2023). The chemical profiling and assessment of antioxidative, antidiabetic and antineurodegenerative potential of Kombucha fermented *Camellia sinensis*, *Coffea arabica* and *Ganoderma lucidum* extracts. *Food & function*, 14(1), 262–276. <https://doi.org/10.1039/d2fo02979k>
- Rivas-Alpizar, E., Zerquera-Trujillo, G., Hernández-Gutiérrez, C. y Vicente-Sánchez, B. (2011). Manejo práctico del paciente con diabetes mellitus en la Atención Primaria de Salud. *Revista Finlay* [revista en Internet], 1(3), 229-250. <https://revfinlay.sld.cu/index.php/finlay/article/view/69>
- Rojas de P, E., Molina, R. y Rodríguez, C. (2012). Definición, clasificación y diagnóstico de la diabetes mellitus. *Revista Venezolana de Endocrinología y Metabolismo*, 10(Supl. 1), 7-12. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-31102012000400003&lng=es&tlng=es
- Sánchez-Martínez, B., Vega-Falcón, V., Gómez-Martínez, N. y Vilema-Vizueté, G.E. (2020). Estudio de casos y controles sobre factores de riesgo de diabetes mellitus tipo 2 en adultos mayores. *Revista Universidad y Sociedad*, 12(4), 156-164. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/1626/1631>
- Seto, S. W., Lam, T. Y., Tam, H. L., Au, A. L., Chan, S. W., Wu, J. H., Yu, P. H., Leung, G. P., Ngai, S. M., Yeung, J. H., Leung, P. S., Lee, S. M. y Kwan, Y. W. (2009). Novel hypoglycemic effects of *Ganoderma lucidum* water-extract in obese/diabetic (+db/+db) mice. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 16(5), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2008.10.004>
- Smina, T. P., Mathew, J., Janardhanan, K. K. y Devasagayam, T. P. (2011). Antioxidant activity and toxicity profile of total triterpenes isolated from *Ganoderma lucidum* (Fr.) P. Karst occurring in South India. *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(3), 438–446. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.08.011>
- Szkudelski T. (2001). The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiological research*, 50(6), 537–546.
- Vargas-Mora, F.J. (2011). *Elaboración de una bebida refrescante fermentando la simbiosis kombucha con el objeto de mejorar la calidad de vida de los consumidores de bebidas no alcohólicas*. Tesis de licenciatura. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador.

- Wińska, K., Mączka, W., Gabryelska, K. y Grabarczyk, M. (2019). Mushrooms of the Genus *Ganoderma* Used to Treat Diabetes and Insulin Resistance. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(22), 4075. <https://doi.org/10.3390/molecules24224075>
- Xu, Z., Chen, X., Zhong, Z., Chen, L. y Wang, Y. (2011). *Ganoderma lucidum* polysaccharides: immunomodulation and potential anti-tumor activities. *The American journal of Chinese medicine*, 39(1), 15–27. <https://doi.org/10.1142/S0192415X11008610>
- Yue, Q. X., Song, X. Y., Ma, C., Feng, L. X., Guan, S. H., Wu, W. Y., Yang, M., Jiang, B. H., Liu, X., Cui, Y. J. y Guo, D. A. (2010). Effects of triterpenes from *Ganoderma lucidum* on protein expression profile of HeLa cells. *Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology*, 17(8-9), 606–613. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.12.013>
- Zheng, Y., Bai, L., Zhou, Y., Tong, R., Zeng, M., Li, X., y Shi, J. (2019). Polysaccharides from Chinese herbal medicine for anti-diabetes recent advances. *International journal of biological macromolecules*, 121, 1240–1253. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.072>