



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

Evaluación del extracto acuoso de *Tectaria heracleifolia*  
(Willd.) Underw., en ratones ICR machos para el control  
de diabetes tipo 2.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I Ó L O G A  
P R E S E N T A:

ANA KAREN LUNA RODRÍGUEZ



DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. HELIA REYNA OSUNA FERNÁNDEZ  
2015

Ciudad Universitaria, D. F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos del alumno

Luna

Rodríguez

Ana Karen

55 93 84 07

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

307000543

2. Datos del tutor

Dra.

Helia Reyna

Osuna

Fernández

3. Datos del sinodal 1

Dr.

Adolfo

Andrade

Cetto

4. Datos del sinodal 2

Dr.

Sol

Cristians

Niizawa

5. Datos del sinodal 3

M. en C.

Abigail

Aguilar

Contreras

6. Datos del sinodal 4

Dra.

Silvia Laura

Guzmán

Gutiérrez

7. Datos del trabajo escrito.

Evaluación del extracto acuoso de *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw., en ratones ICR machos para el control de diabetes tipo 2.

48 p

2015

### ***Toselika Matinemikajya***

*“Kemantika nijmachilia  
tlen timasehualmej tij chiaj  
se tlacatl tlen nochi ueli  
tlen nochi kimati,  
tlen ueliskia tech makixtia.*

*Ni tlacatl tlen nochi ueli  
uan nochi kimati  
axkemaj asiki;  
pampa touaya itskok  
touaya nemi;  
peuaya tlachia,  
nojua kochtok”*

### ***Necesitamos caminar solos***

*“Algunas veces siento que los indios  
Esperamos la llegada de un hombre  
Que todo lo puede  
Que todo lo sabe,  
Que nos puede ayudar a resolver  
Todos nuestros problemas.*

*Sin embargo, ese hombre que todo lo puede  
Y que todo lo sabe  
Nunca llegará;  
porque vive en nosotros  
Se encuentra en nosotros  
Camina con nosotros;  
Empieza a querer despertar,  
Aún duerme”*

***Natalio Hernández***

## Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, mi *alma mater*, y a la Facultad de Ciencias, que me han permitido formarme profesional y personalmente cumpliendo más de una meta.

A la Doctora Helia Reyna Osuna Fernández y a la M. en C. Aída Marisa Osuna Fernández, por apoyarme en todo momento con este trabajo y mil aspectos más de la vida. Por brindarme su confianza, sabios consejos, cariño y amistad. Pocas personas como ustedes.

Al Dr. Sol Cristians Niizawa por apoyarme, ayudarme y enseñarme tanto de una manera tan divertida y comprensible en cada paso de este trabajo. Definitivamente no hubiera sido igual sin ti Sol.

Al M. en C. Armando Gómez Campos por compartirme su amor y dedicación a la etnobotánica, así como el interés y la necesidad de seguir investigando las plantas medicinales de nuestro México.

Al M. en C. Héctor Alfonso Malagón Rivero, por enseñarme todo lo que sé de animales de laboratorio, por compartirme su tiempo para practicar entre actividades, por sus consejos y apoyo en toda la parte experimental.

A la M. en C. Abigail Aguilar, al Dr. Adolfo Andrade Cetto y la Dra. Laura Guzmán Gutiérrez por formar parte de mi jurado, aportándome su visión y conocimiento a través de las correcciones de cada uno.

A la Unidad de Producción y Experimentación Animal de la UAM Xochimilco, por otorgarnos un lugar para trabajar, y proporcionarnos todo lo necesario para la realización de los experimentos.

A la Dra. Rebeca Córdova Moreno por el apoyo dentro y fuera de la experimentación.

Al Dr. Gerardo Rivas Lechuga y la Dra. Arellí Santos, por enseñarme que no existen barreras de amistad entre grados académicos, por ser únicos y compartir todo su cariño, experiencia, consejos y apoyo a lo largo de varios años; por darme ánimo e ímpetu, y enseñarme lo hermoso de la Biología de manera práctica.

A mi madre Ana Lilia Rodríguez, a mi hermana Aline Luna y mi sobrina Theone Michelle Pérez por ser tierra, raíz y tronco de mi persona. Por nunca darse por vencidas y por enseñarme a nunca dejarme vencer, a luchar y a salir adelante. Por apoyarme en cada paso de mi vida aunque no entiendan bien que pasa por mi cabeza. Por amarme y estar ahí siempre para mí.

A mi familia, mis abuelos, mis tíos, mis primos y mis sobrinos, por todo su apoyo y cariño. En especial a Diana y Cintia por compartir conmigo más que un pedacito de vida y tolerar mis pláticas de nemátodos, ácaros, insectos y ratones.

A mis amigas, mis peces, mis hermanas, Magali Ramírez, Ilse Colín, Sofía Fernández, Cayetana Ortiz Monasterio, Ana Bermúdez y Karina Villa por acompañarme en esta etapa tan hermosa y formativa. Por compartir sus alegrías y tristezas, su conocimiento, manera de trabajar y de vivir. Por su amor, su gran apoyo, su paciencia, sus consejos y su compañía. Las amo y eso no cambiará nunca.

A mis hermanos Gonzalo Del Águila y Bruno Franyutti por seguir sembrando y cosechando amor, comprensión y apoyo en esta maceta a pesar de los años, la distancia y las diferencias. Ustedes viven en mí siempre.

A Carlos Echeverría Arjonilla por impulsarme a seguir echándole ganas a la vida y a la escuela, por invitarme a tu espacio y a tu vida. Por levantarme en las mañanas, acompañarme en las madrugadas, por obligarme a abrir los ojos cada día y no dejarme tirar la toalla cuando sentí que todo era un desastre. Te quiero mucho Chango. A David Porta por ser el mejor ejemplo de ser humano, por tu amistad y compañía, eres una persona increíble que motiva.

A Iván Valdés por estar siempre cerca apoyándome en todo momento de felicidad y crisis. Porque tu amistad es única e invaluable.

A Gustavo Alcántara por su única amistad, todo su apoyo incondicional, su amor, su paciencia, y por compartirme todo su conocimiento y ganas en esta constante lucha llamada vida. Por ayudarme y obligarme a liberarme de complejos, miedos e inseguridades absurdas. Por enseñarme de manera práctica que la vida es un instante que tiene que vivirse con todo el corazón, sin arrepentimientos ni prejuicios. Y que la escuela es solo una parte de la vida, no la vida entera. Vives aquí en mi pecho siempre.

A mis amigos de la Secundaria Ana Torres, Guiselle Zúñiga, Verónica Flores, Laura Matla, Valeria Trujillo, Estefanía Herrada, Juan José Gonzales, Pablo Gómez y Carlos Sánchez por fomentar y mantener esta amistad a lo largo de los años. Por apoyarme en todo momento y por compartir conmigo sus logros y derrotas.

Nocnihuan ipan macehualcopa CELE, por mostrarme una cosmovisión hermosa que me motivo en la última etapa de este trabajo, por compartir este gran interés y amor.

A Aarón Molho por apoyarme en muchas de las etapas más difíciles de la carrera y la tesis, por aprender conmigo, por enseñarme una manera diferente de ver la vida, por enseñarme otra perspectiva de cada problema y cada solución. Por ponerse la bata a mi lado y meterse a los trancazos del laboratorio conmigo.

A Ximena Espejel por brindarme su amistad y confianza sin recelo alguno, su apoyo total, energía y alegría explosiva más allá de los muros de la UAM-Xochimilco.

Las palabras no me alcanzan para expresarles lo mucho que los quiero y les agradezco. Soy muy afortunada de haber compartido con ustedes este pedacito de vida.

## ÍNDICE GENERAL

1. Resumen.
2. Introducción.
3. Antecedentes.
  - 3.1. Importancia de las Plantas medicinales.
  - 3.2. Enfermedades crónico-degenerativas.
    - 3.2.1. Diabetes tipo 2.
  - 3.3. Control de diabetes tipo 2.
    - 3.3.1. Plantas medicinales.
    - 3.3.2. Metabolitos secundarios.
    - 3.3.3. Fármacos.
  - 3.4. *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw.
    - 3.4.1. Ubicación taxonómica y descripción.
    - 3.4.2. Distribución.
    - 3.4.3. Investigaciones realizadas.
4. Justificación.
5. Objetivos.
6. Hipótesis.
7. Método.
  - 7.1. Colecta del Material vegetal.
  - 7.2. Extracto acuoso.
    - 7.2.1. Pruebas cualitativas para los principales grupos de metabolitos secundarios.
  - 7.3. Estudios farmacológicos.
    - 7.3.1. Toxicidad aguda.
    - 7.3.2. Modelo experimental de diabetes tipo II en ratones machos cepa ICR.
  - 7.4. Análisis estadístico.
    - 7.4.1. Diseño experimental.
    - 7.4.2. Análisis e interpretación de la información.
8. Resultados y discusión.
  - 8.1. Estudio fitoquímico.
    - 8.1.1. Rendimiento del extracto.
    - 8.1.2. Pruebas cualitativas para los principales grupos de metabolitos secundarios.
  - 8.2. Estudios farmacológicos.
    - 8.2.1. Toxicidad aguda.
    - 8.2.2. Modelo experimental de diabetes tipo II en ratones machos cepa ICR.
9. Conclusiones.
10. Perspectivas
11. Bibliografía.

## 1. Resumen.

La diabetes es un grupo de alteraciones metabólicas de múltiple origen que se caracterizan por manifestar una hiperglucemia crónica y trastornos en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos (OMS, 2014 b). Esta enfermedad es actualmente la segunda causa de mortalidad en México (INEGI, 2012). En México hasta 2012 se tienen registradas más de 300 especies vegetales que se usan como medicamentos herbarios para tratar la diabetes, las cuales pertenecen a unas 70 familias diferentes registradas en el Herbario Medicinal del IMSS (Esquivel *et al.*, 2012). *T. heracleifolia* es un helecho que se consume en infusión en el ejido La Encantada, en Cazones, Veracruz para tratar casos de diabetes en la población. Con base en la metodología de Lorke (1983) y Mata *et al.*, 2013 se realizaron ensayos de toxicidad aguda y efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *T. heracleifolia*, resultando una  $DL_{50} = 5065.177$  mg/kg y diferencias significativas entre las dosis 100 mg/kg y 300 mg/kg de extracto y el vehículo ( $p < 0.05$ ). Con base en los resultados de este estudio se aportan importantes datos de seguridad y eficacia de efecto hipoglucemiante del uso tradicional de *T. heracleifolia*.

**Palabras clave:** medicamento herbario, extracto acuoso, *Tectaria heracleifolia*, diabetes tipo 2, toxicidad aguda, hipoglucemiante.

## 2. Introducción.

La diabetes constituye un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos de carácter crónico, caracterizados por una concentración anormal elevada de glucosa en sangre. La diabetes tipo 2 o DT2 involucra un grupo heterogéneo de alteraciones que tienen en común el incremento de la glucemia en la sangre y la alteración en el metabolismo de lípidos y proteínas. Está modulada por factores genéticos y ambientales; la incidencia de ambos componentes establece el límite necesario para que se manifieste clínicamente. Las causas de la hiperglucemia son poca cantidad de insulina secretada o resistencia de las células del cuerpo a la acción de ésta, es decir no se puede utilizar eficazmente la insulina producida. La enfermedad es progresiva y está asociada con alto riesgo de arterosclerosis, daño renal, neuronal y ceguera; lo que la convierte en una de las principales causas de morbilidad y mortalidad (Ramírez *et al.*, 2013; Ramos *et al.*, 2006)

En la actualidad, México es uno de los 10 principales países de personas con diabetes, pues por cada 100 millones de personas 8.7 millones de personas la tienen. En México la diabetes es la segunda causa de muerte (IDF, 2013 a; INEGI, 2012).

Los datos de la ENSANUT 2012 identifican a 6.4 millones de adultos mexicanos con diabetes ya diagnosticada; sin embargo, el número real podría ser incluso el doble. Del total de personas que se identificaron como diabéticas en esta encuesta, el 16% (aproximadamente 1 millón) reportaron no contar con protección en salud, mientras que 42% son derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), 12% se otras instituciones de seguridad social, y 30% afiliados al Sistema de Protección Social en Salud (SPSS) (INSP, 2012).

La Federación Internacional de Diabetes (IDF) establece que la carga humana y financiera por la diabetes es muy grande, pues provoca 5.1 millones de muertes y ha representado unos 548,000 millones de dólares en gastos de salud; lo que equivale al 11% del gasto total en todo el mundo en 2013 (IDF, 2013 b). En México, el mayor gasto en salud destinado a la DT2 es para medicamentos y para la atención de sus complicaciones, el menor recurso se destina al diagnóstico y a la consulta médica (Alvear & Cristina, 2010).

La prevención y el control de las enfermedades crónicas y degenerativas debe ser una prioridad para el sector salud. Su crecimiento y letalidad lo justifican. El tratamiento eficaz de los casos afectados es la alternativa que ofrece la mayor factibilidad para reducir a corto plazo las consecuencias de las enfermedades como la diabetes. Sin embargo, la atención a estas enfermedades es costosa, tardía y poco satisfactoria en muchos casos (Córdova *et al.*, 2008).

Existen opciones farmacológicas para el control del paciente con DT2 como insulinas, sulfonilureas, biguanidas, tiazolidinedionas, meglitinidas, inhibidores de alfa-glucosidasas e inhibidores de la dipeptidildipeptidasa-4. Ya sea como monoterapia o en sus diversas combinaciones, el éxito de dichos tratamientos dependerá de la respuesta clínica en los pacientes, tanto de la enfermedad como de la presentación de efectos adversos de los mismos fármacos (Ramírez *et al.*, 2013).

En los países en vías de desarrollo, el amplio uso de la medicina tradicional se atribuye a su accesibilidad y asequibilidad, ya que es a veces la única fuente de atención y prevención sanitaria. De igual manera la medicina tradicional es también muy popular en muchos países puesto que está firmemente arraigada en la cultura por ser la suma de conocimientos, técnicas y prácticas fundamentadas en las teorías, creencias y experiencias propias (OMS, 2013 b). La medicina herbaria, consta de hierbas o materiales herbarios, preparaciones y productos herbarios acabados cuyos ingredientes activos son partes de plantas generalmente obtenidas a partir de poblaciones vegetales silvestres o cultivadas (OMS, 2014 a). En el Herbario del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) se tienen registradas más de 300 especies vegetales, de unas 70 familias diferentes, para el tratamiento de la diabetes tipo 2 (Esquivel *et al.*, 2012).

Estudios etnobotánicos refieren que *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw. es utilizada para el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer y la diabetes, y también para tratar heridas e infecciones. Se le conoce como “Hierba del Sapo”, “Mano de Sapo” en Veracruz, “Helecho Paraguas”, “Acanahuala” en Nuevo León y “Lengua de Ciervo” en San Luis Potosí (Romo, 2013; Velazco *et al.*, 2012; Alonso-Castro *et al.*, 2012). Sin embargo, no se conocen registros previamente publicados de la actividad hipoglucemiante, ni de los atributos farmacológicos que se le atribuyen (Alonso-Castro *et al.*, 2012).

Para entender el mecanismo de acción medicinal de las plantas se requiere conocer la composición química y la estructura de sus constituyentes, así como de las diferentes mezclas. Estas preparaciones actúan de manera integral, no solamente en un órgano específico, como lo hace un principio activo o fármaco, sino que también lo hacen en receptores de células de otros tejidos comprometidos, contribuyendo de cierta manera en contrarrestar los efectos adversos.

Debido al aumento de la incidencia de la DT2 es necesario prevenir las complicaciones de esta enfermedad mediante nuevas tecnologías de tratamiento con mezclas de plantas seleccionadas para lograr una fitoterapia alternativa, eficaz y segura, sin efectos tóxicos ni otras complicaciones. Es necesario demostrar mediante estudios farmacológicos en modelos animales que las mezclas de plantas seleccionadas por sus propiedades químicas y fisicoquímicas semejantes no producen toxicidad (Ramírez, *et al*, 2013).

### **3. Antecedentes.**

#### **3.1. Importancia de las Plantas medicinales.**

Se le llama medicina tradicional a todo el conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas que están basados en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas, sean o no explicables, usados para el mantenimiento de la salud, así como para la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de enfermedades físicas o mentales.

Se basa en gran parte en los medicamentos herbarios los cuales son materiales vegetales como hojas, flores, frutos, semillas, tallos, corteza, raíces, rizomas, plantas completas o fragmentos. Igualmente se pueden considerar a los jugos frescos, gomas, aceites fijos, aceites esenciales, resinas y polvos secos de hierbas. Todas estas preparaciones y productos herbarios acabados contienen principios activos conferidos por las diferentes plantas, ya sea una o la mezcla de varias (OMS, 2014 a).

En los países en vías de desarrollo, el amplio uso de la medicina tradicional se atribuye a su accesibilidad y asequibilidad, ya que es a veces la única fuente próxima de atención sanitaria. Además resulta ser muy popular en muchos países puesto que está firmemente arraigada a las costumbres y las creencias. Se practica en casi todos los países del mundo, y la demanda va en aumento.

A pesar de ser parte importante de la atención a la salud, es frecuentemente subestimada, por lo cual muchos países reconocen actualmente la necesidad de elaborar un enfoque coherente e integral que facilite a los gobiernos, los profesionales sanitarios y, muy especialmente, a los usuarios de los servicios de salud, el acceso a este tipo de medicina de manera segura, respetuosa, asequible y efectiva (OMS , 2013 b).

Al estudio integral e interpretación del conocimiento, significado cultural, manejo y usos tradicionales de los elementos de la flora que han sido transmitidos a través del tiempo por un grupo humano se le llama etnobotánica (Hernández-Xolocotzi, 1983). En la investigación etnobotánica tiene que tomarse en consideración que la cultura es un fenómeno colectivo que por lo tanto no se puede separar de su contexto ambiental e histórico (Barrera, 1983). La medicina tradicional de cualquier pueblo tiene antigüedad histórica, utiliza plantas, minerales y animales que se encuentran en el ecosistema propio y es congruente con su cosmovisión, tradiciones e ideología (Barba de Piña Chan, 2002).

La medicina tradicional mexicana se conoce a través de las costumbres de los grupos indígenas principalmente, así como por referentes históricos como los escritos de Fray Bernardino de Sahagún, Martín de la Cruz, Juan Badiano, Francisco Bravo, Hernando Ruíz de Alarcón y Francisco Hernández. Además de las descripciones geográficas de los jesuitas, y las aportaciones posteriores de Francisco Javier Clavijero y Francisco del paso y Troncoso en el siglo XIX (Barba de Piña Chan, B., 2002). Dentro de estas obras, destaca el código de la Cruz-Badiano en el cual se describe y se constata el uso medicinal de más de 150 plantas nativas de México (Valverde, 1984).

El conocimiento herbolario de la población mexicana está constantemente adaptándose a las nuevas circunstancias y cambios significativos, lo que habla de la necesidad incesante de encontrar recursos terapéuticos para enfermedades específicas de cada tiempo, importantes por su alta incidencia en la población. Históricamente, la medicina tradicional se ha utilizado para mantener la salud, prevenir y tratar enfermedades, en particular enfermedades crónicas (Aguilar-Contreras *et al.*, 2002).

### **3.2. Enfermedades crónicas degenerativas.**

Las enfermedades crónicas son también conocidas como enfermedades crónicas no transmisibles; y se caracterizan por ser de larga duración y por producir daños progresivos en los individuos que las padecen. Las que tienen más incidencia en las poblaciones humanas son las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, las enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes.

Las enfermedades no transmisibles matan a 38 millones de personas cada año, y casi el 75% de éstas se producen en países de ingresos bajos y medios según la OMS (2015). Estas enfermedades solían asociarse a personas adultas y adultas mayores, sin embargo, con el ritmo de la globalización, estas enfermedades han tenido incidencia en todos los grupos de edad. Infantes, adultos y ancianos pueden ser vulnerables entre más asociados se encuentren a los factores de riesgo. Tales factores se dividen en dos grupos, los comportamentales modificables como el consumo de tabaco, la inactividad física, una dieta malsana y el uso nocivo del alcohol. De igual manera existen los factores metabólicos/fisiológicos, que influyen de manera más fuerte y rápida en el incremento del riesgo de padecer estas enfermedades, éstos son la hipertensión arterial, el sobrepeso y la obesidad, la hiperglucemia y la hiperlipidemia.

Lamentablemente el impacto socioeconómico de este tipo de enfermedades es muy alto y muy recurrente a un sector específico de la población. Están fuertemente ligadas a la pobreza por su alta incidencia en países de ingresos bajos y medios, pues disparan los gastos familiares por atención sanitaria, agotando los recursos económicos de las familias y abocando a la pobreza (Córdova *et al.*, 2008).

En el Plan de Acción 2013-2020 de la estrategia mundial para la prevención y el control de las enfermedades no transmisibles de la OMS, se ha puesto como objetivo reducir el número de muertes prematuras por ETN en un 25% a más tardar en 2025 mediante nueve metas mundiales de aplicación voluntaria, como abordar temas relacionados al consumo de tabaco, uso nocivo de alcohol, dietas malsanas e inactividad física. Dichas metas serán abordadas mediante inversiones, como la prohibición de formas posibles de publicidad de tabaco y alcohol, la sustitución de grasas trans por poliinsaturadas, la promoción de la lactancia materna y la prevención del cáncer del cuello uterino a través del tamizaje (OMS, 2015).

### **3.2.1. Diabetes y diabetes tipo 2.**

La diabetes es un grupo de alteraciones metabólicas de múltiple origen que se caracterizan por manifestar una hiperglucemia crónica y trastornos en el metabolismo de carbohidratos, proteínas y lípidos. Todo a causa de defectos en la secreción de insulina y/o de la acción de la misma. Los síntomas que se presentan principalmente son el aumento de sed (polidipsia), aumento de apetito (polifagia) y aumento de volumen de orina (poliuria) (OMS, 2014 b).

A pesar de que todos los países sufren el impacto de la diabetes, cabe resaltar que para la IDF el 80% de las personas con diabetes viven en países de ingresos medios y bajos (IDF, 2013 a). En México el INEGI en su último censo poblacional enuncia que la diabetes es la segunda causa de muerte con 89, 420 muertes en ese año (INEGI, 2012).

Con el paso del tiempo la diabetes puede dañar el corazón, los vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios. Pues aumenta el riesgo de cardiopatía y accidente vascular cerebral además de que puede provocar neuropatía de las extremidades inferiores, que al combinarse con la reducción de flujo sanguíneo, incrementa el riesgo de tener úlceras de los pies, infecciones y en ocasiones amputación del miembro. De igual manera puede provocar retinopatía diabética, causa de ceguera a consecuencia del daño en los vasos sanguíneos de la retina. La diabetes también es una de las principales causas de daño renal (OMS, 2014 b)

Existen distintos tipos de diabetes, de acuerdo con la Asociación Americana de Diabetes (ADA) existen 4 : La diabetes gestacional, la diabetes tipo 1, la de tipo 2 y otros tipos específicos de Diabetes (ADA, 2015).

La diabetes Gestacional, se caracteriza por presentar un estado hiperglucémico detectado durante el embarazo, específicamente en el segundo o tercer trimestre. Puede acarrear riesgos para la madre y el neonato. Aunque generalmente los niveles de glucosa regresan a la normalidad después del embarazo; en ocasiones la madre o el hijo pueden desarrollar DT2 varios años después (ADA, 2015).

La diabetes tipo 1 conocida anteriormente como juvenil, insulino dependiente o de inicio de la infancia. Esta caracterizada por una destrucción autoinmune o idiopática de las células b pancreáticas lo que desemboca en una deficiencia o en una nula secreción de la insulina, por lo tanto se vuelven dependientes de inyecciones de dicha hormona para sobrevivir. La destrucción autoinmune de las células b proviene en gran parte de la predisposición genética, sin embargo, también están relacionados los factores ambientales de los que poco se conoce. A pesar de eso se sabe que éste tipo de pacientes son propensos a otros desórdenes autoinmunes (ADA, 2015).

La Diabetes tipo 2, que se caracteriza por presentar trastornos en la secreción y/o acción de insulina. Se le atribuye el 90-95% de los casos de diabetes. Existen diferentes causas para este tipo de diabetes, sin embargo, no se conocen las etiologías específicas. Este tipo de diabetes puede pasar muchos años sin diagnosticarse ya que la hiperglucemia se desarrolla gradualmente y en estados tempranos no es lo suficientemente severa como para que el paciente note los síntomas. No obstante, los pacientes están en alto riesgo de desarrollar complicaciones micro y macrovasculares. Además de la predisposición genética, Los riesgos de desarrollar DT2 aumentan con la edad, obesidad, ausencia de actividad física y dieta desequilibrada. También ocurre frecuentemente en mujeres que presentaron diabetes gestacional, personas con hipertensión o dislipidemia y en ciertos subgrupos raciales o étnicos (ADA, 2015).

En lo concerniente a la fisiopatología de la DT2 se pueden definir tres fases. La primera sucede cuando aparece un estado de insulinoresistencia periférica a la insulina, generalmente asociada a valores de normoglucemia. La segunda está asociada a una resistencia insulínica más marcada a nivel de tejidos periféricos musculares y adiposos, donde existe una sobreproducción de insulina que no alcanza a controlar la homeostasis de glucosa. Y la fase final en la cual existe una declinación en el funcionamiento de las células  $\beta$  pancreáticas, disminuye la síntesis de la hormona, apareciendo la hiperglucemia en ayuno (Pérez, 2009).

Una vez diagnosticada la enfermedad lo idóneo es comenzar a tratarla y cuidar la salud en cada decisión. Sin embargo, existen personas que desconocen su estado de salud o no cuentan con los recursos económicos necesarios para atenderla. En cualquier caso, si se mantiene la hiperglucemia constante y sostenida por arriba de los 200 mg/dL sin ser atendida, se pueden desarrollar complicaciones tardías a partir de los síntomas presentes que contribuyen a disminuir la calidad de vida de las personas (Pérez, 2009)

### **3.3. Control de la diabetes tipo 2.**

En la mayoría de los países los esfuerzos están concentrados en encontrar y validar con investigación agentes hipoglucemiantes que puedan ayudar con el tratamiento de la enfermedad. Además de los medicamentos los tratamientos se componen por dietas específicas, educación, ejercicio físico, inmunoterapia e inclusive trasplantes pancreáticos. Sin embargo, en países de ingresos bajos y medios, la mayor parte de los afectados no cuentan con los recursos económicos necesarios para recibir atención médica integral, razón por la cual la medicina herbolaria es la mejor alternativa con misma efectividad pero sin tantos efectos secundarios (Esquivel *et al.*, 2012).

#### **3.3.1. Plantas medicinales**

En México como en todos los países que conservan gran parte de su medicina tradicional, el uso de la materia vegetal es congruente con la cosmovisión y tradiciones de cada región particular. Gracias a la investigación etnobotánica, desde hace muchos años se tienen registradas diversas plantas que trataban afecciones relacionadas con la diabetes. Dado que la diabetes es reconocida como anomalía metabólica hasta finales del siglo XX, en los escritos más antiguos sólo se registran los tratamientos y curas para los síntomas más característicos de la enfermedad como la gangrena, la orina abundante y dulce, la ceguera, la impotencia sexual, entre otras.

En las primeras décadas del siglo XX comienzan a notarse algunos nombres de plantas en publicaciones de libros e investigaciones científicas y etnobotánicas. Con el paso del tiempo poco a poco se incrementan los nombres y los trabajos de plantas mexicanas.

Durante el mismo siglo el Instituto Médico Nacional y el Instituto Nacional Indigenista comienzan a inventariar e investigar propiedades hipoglucemiantes de algunas especies que eran utilizadas por la gente como remedio contra la diabetes.

Dichas instituciones citan el cocoyol (*Acrocomia Mexicana*), el ajo (*Allium sativum*), la prodigiosa (*Brickellia spp*), claudiosa o lengua de gallina (*Capraria biflora*), guarumbo (*Cecropia obtusifolia*), lágrimas de San Pedro (*Coix lachryma-Jobi*), tejocote (*Crataegus mexicana*), elemuy (*Guatteria gaumeri*), la tronadora (*Tecoma stans*), el copalchi (*Coutarea latiflora*), el matarique (*Psacalium spp.*) y la catarinilla (*Salpianthus macrodonthus*) (Aguilar-Contreras *et al.* 2002; Barba de Piña Chan, 2002).

Se da un nuevo impulso con estudios hipoglucemiantes, gracias registro etnobotánico del nopal (*Opuntia strteptacantha*, *O. ficus indica*, *O. megacantha*) en 1978 y trabajos farmacológicos y clínicos de la misma línea en la década de los 80. En la última década del siglo resulta ya un enriquecedor, amplio y diverso acervo de trabajos farmacológicos y nuevos registros etnobotánicos de especies con acción hipoglucemiante (Aguilar-Contreras *et al.* 2002; Barba de Piña Chan, 2002).

El acervo del Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) representa la principal colección de flora medicinal del País y de América Latina. Hasta 2012 se tiene registrado que las familias botánicas más representadas por sus propiedades antidiabéticas son Fabaceae, Asteraceae, Lamiaceae, Liliaceae, Poaceae, Euphorbiaceae, Cucurbitaceae, Apocynaceae, Anacardiaceae, Liliaceae, Myrtaceae, Bignoniaceae, Urticaceae, una Musaceae y una Malvaceae. Más de 300 especies vegetales que se usan como medicamentos herbarios para tratar la diabetes, pertenecen a unas 70 familias diferentes registradas en el Herbario Medicinal del IMSS. Así mismo se sabe que las hojas son las estructuras vegetales más utilizadas, seguidas de los tallos y las raíces (Aguilar-Contreras *et al.*, 2002; Esquivel *et al.*, 2012).

Con el afán de mejorar la calidad de vida y ofrecer opciones económicamente accesibles para todos los usuarios, ha surgido la necesidad de complementar la medicina alópata con la medicina tradicional herbaria. Como ya se ha mencionado con anterioridad, la administración prolongada de los medicamentos además de involucrar un elevado costo económico, puede provocar efectos indeseados como reacciones de hipersensibilidad a los mismos; lo cual llevaría a un cambio constante o suspensión del medicamento comprometiendo el estado de salud de las personas. Razón por la cual es imprescindible la investigación y validación de propiedades medicinales de la flora nacional y por ende su seguimiento en el desarrollo de agentes con propiedades antidiabéticas.

### **3.3.2. Metabolitos secundarios**

Los efectos terapéuticos de las plantas se deben al contenido de metabolitos secundarios como los aceites esenciales, glucósidos, flavonoides, terpenos, alcaloides, entre otros. Dichos metabolitos pueden tener efectos estimulantes o calmantes en los seres humanos. Éstos son la materia prima de distintos tipos de industrias, entre ellas la farmacéutica. Las plantas medicinales son importantes para la investigación farmacológica y desarrollo de medicamentos, no solo porque son utilizadas directamente como agentes terapéuticos, también porque se pueden usar como materia prima para sintetizar medicamentos o como modelos de componentes farmacológicamente activos.

Los medicamentos herbarios se pueden clasificar en tres tipos. La primer categoría son todas las drogas usadas en crudo, la segunda categoría la forman todos los constituyentes activos aislados después de generar los extractos herbarios, por último la tercer categoría son medicamentos herbarios de los cuales está disponible la información relacionada con su toxicidad aguda y crónica en animales (Esquivel *et al.*, 2012; Jain, *et al.*, 2011).

Los extractos de plantas medicinales además de reducir y normalizar los niveles de glucosa sanguínea, pueden ayudar de manera integral a la salud del paciente dado que pueden poseer otra clase de capacidad para mejorar el perfil lipídico, el estado antioxidante y la función capilar. La distribución de los metabolitos secundarios en las plantas es amplia; sin embargo, a pesar de que se conoce la utilización de distintas

especies como medicinales, sólo una pequeña cantidad ha sido investigada para la obtención de medicamentos (Esquivel *et al.*, 2012).

Se sabe que muchos de los metabolitos secundarios poseen efectos terapéuticos, ya sea de forma individual o en diferentes combinaciones (Castro *et al.*, 2002). Sin embargo, dentro de las investigaciones de los géneros de plantas medicinales más usadas para la diabetes tipo 2, los metabolitos secundarios mayormente mencionados son alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, compuestos fenólicos, glucósidos, terpenos y algunos antioxidantes (Castro *et al.*, 2014).

En el cuadro 1, se mencionan algunos ejemplos de extractos de plantas de uso tradicional en México para el tratamiento de diabetes tipo 2; a los cuales se les han hecho estudios fitoquímicos para identificar el tipo de metabolito secundario al que se le atribuye la actividad hipoglucemiante.

<b>Especie Vegetal y parte utilizada</b>	<b>Tipo de extracto</b>	<b>Tipo de Metabolito identificado.</b>
<b><i>Malmea depressa</i>, raíz</b>	Acuoso, butanólico	Compuestos fenólicos
<b><i>Equisetum myriochaetum</i>, parte aérea</b>	Acuoso, butanólico	Glucósidos
<b><i>Acosmium panamense</i>, corteza</b>	Butanólico	Glucósidos
<b><i>Bromelia plumieri</i>, hojas</b>	Acuoso, etanólico	Alcaloides, flavonoides y terpenos
<b><i>Rhizophora mangle</i>, corteza</b>	Acuoso, etanólico	Alcaloides, compuestos fenólicos y terpenos

**Cuadro 1. Ejemplos de extractos de plantas de actividad hipoglucemiante con reporte de uso en México, a los cuales se ha identificado y/o aislado el compuesto principal del efecto (Andrade *et al.*, 2008, 2011, 2012, 2013).**

Adicionalmente se han reportado plantas para el tratamiento de las complicaciones físicas que padecen las personas con diabetes. La mayoría de los extractos y sus constituyentes aislados exhiben efectos hipopolipidemicos y antioxidantes. Se menciona a *Salvia miltiorrhizae*, *Artemisa dracuncululus*, *Corni fructus*, *Bacopa monnieri*, *Enicostemma littorale blume*, *Phellodendri cortex*, *Lindera strychnifolia*, *Gymnema montanum*, *Allium sativum*, *Picrorhiza scrophulariiflora*, *Carum carvi*, etc (Jain, et al., 2011).

### 3.3.3. Fármacos

Como ya se ha mencionado, la principal característica de la diabetes tipo 2 (DT2) es la hiperglucemia y su relación directa con la resistencia a la insulina en tejidos periféricos porque disminuye la captación de glucosa; aumenta la liberación hepática de glucosa y la disminución de secreción de insulina por la célula beta pancreática.

Antes de optar por fármacos suele hacerse un tratamiento con el binomio dieta-ejercicio con objetivos de control específicos, en los cuales se espera no se presenten complicaciones en los síntomas. Sin embargo, cuando los objetivos de cuidado para evitar complicaciones en lo síntomas no se alcanzan, entonces se recetan tratamientos con fármacos orales durante 2-3 meses mínimo (Llave, 2008).

Los fármacos más utilizados para el tratamiento de la DT2 son conocidos como hipoglucemiantes orales. Éstos reducen los niveles de glucosa en sangre a través de diferentes mecanismos. Suelen combinarse entre ellos o con insulina para potenciar el efecto o contrarrestar los efectos secundarios. El uso de este tipo de medicamentos suele comenzar con insulinosensibilizadores, y posteriormente se añaden otros fármacos que auxilien al páncreas a segregar mas insulina, los secretagogos (CUN, 2013).

Se tienen tres grandes grupos: los sensibilizadores a la insulina propia, que son las biguanidas y tiazolidindionas. Los estimulantes de la secreción de insulina o secretagogos como las sulfonilureas, metiglinidas e inhibidores de dipeptilpeptidasa IV. Y por último los reductores de la absorción de glucosa como los inhibidores de las alfa glucosidasas.

Las biguanidas actúan a nivel hepático disminuyendo la producción excesiva de glucosa por el hígado, inhibiendo la producción hepática de glucosa y mejorando la sensibilidad a la misma; también ayuda a mejorar el perfil lipídico en sangre. No producen aumento de peso ni hipoglucemia. Las más conocidas son la buformina y la metformina; sin embargo, poseen efectos secundarios como alteraciones gastrointestinales y gustativas, y están asociadas a casos de acidosis láctica. Suelen combinarse con el efecto de las sulfonilureas para disminuir las consecuencias adversas de su uso.

Las glitazonas o tiazolidionas actúan principalmente sobre el músculo, disminuyendo la resistencia a la insulina a nivel periférico, aumentan la captación y el uso de glucosa en músculos y tejido graso, y mejoran la concentración de lípidos en sangre. También tiene cierto efecto a nivel del tejido hepático dado que inhibe la gluconeogénesis. Las más conocidas son la rosiglitazona y la pioglitazona. A pesar de sus beneficios como tratamiento para diabetes tipo 2 también tienen efectos secundarios como el incremento de peso, retención de líquidos con asociación de edemas y anemia, entre otros (De Alaiz, 2015).

De los hipoglucemiantes orales que estimulan la secreción de insulina están las Sulfonilureas que actúan principalmente sobre el páncreas para aumentar la secreción de insulina preformada, tienen un efecto hipoglucemiante agudo actuando sobre la célula beta del páncreas y un efecto hipoglucemiante crónico mediado por la potenciación de la acción de la insulina. La variedad de este fármaco depende de la duración del efecto, la facilidad para provocar hipoglucemia y la vía de eliminación. Las más utilizadas son la clorpropamida, tolbutamida, glibenclamida, gliclacida, glipizida, gliquidona, glipentida y glimepirida. Su principal efecto secundario es la hipoglucemia, sin embargo, también se le asocia con alteraciones hematológicas, cutáneas, gastrointestinales, tiroideas, renales, reacciones pulmonares difusas e hiperinsulemia.

Otro estimulante de secreción de insulina son las meglitidinas, las cuales actúan igualmente en el páncreas sobre la hormona preformada, son de acción rápida y de corta duración. Dos de las más utilizadas son la repaglinida y la natiglinida. Generalmente se combina su efecto con el de otro hipoglucemiante oral para potenciar su acción. La hipoglucemia es el efecto secundario principal descrito.

Los inhibidores Dipeptidilpeptidasa IV o DPP-4 son una nueva clase de tratamiento oral en tabletas que ayuda a mantener los niveles de la hormona intestinal péptido similar a glucagón 1 o por sus siglas en inglés GLP-1, la cual al ser segregada naturalmente cuando se ingiere alimento, estimula la producción de insulina por el páncreas. Naturalmente La GLP-1 es inhibida por la DPP-4, pero con ayuda de este tratamiento éste fármaco actúa inhibiendo a la enzima DPP-4, produciendo la liberación y acción prolongada de insulina pancreática. Este tipo de inhibidores controlan la hiperglucemia sin producir incremento de peso y con poca incidencia de hipoglucemias. La más conocida es la sitagliptina y no ha sido descrita con algún efecto secundario relacionado con el peso corporal (Llave, 2008).

Por último los Inhibidores de alfa-glucosidasas actúan específicamente impidiendo la acción de éstas enzimas que están en las vellosidades intestinales, las cuales son partícipes importantes en el desdoblamiento de oligosacáridos en monósacaridos. Este tipo de tratamiento funciona gracias a que provoca una lenta digestión de carbohidratos y una disminución de las elevaciones de glucemia que se producen después de la ingesta de alimento. Dentro de las más conocidas esta la acarbosa y el miglitol. De igual manera los inhibidores de alfa-glucosidasas tienen efectos secundarios en los pacientes, en este caso la mayoría son alteraciones gastrointestinales como flatulencias, diarreas, dolor abdominal, náuseas y vómito (CUN, 2013).

Los antidiabéticos orales se usan desde 1950 considerándolos como la primera opción de tratamiento antidiabético; sin embargo, se ha cuestionado su eficacia e inocuidad para evitar el daño cardiovascular que se presenta a largo plazo, el cual constituye en general la causa de la muerte en el diabético y los múltiples efectos secundarios que laceran la salud de los pacientes.

Se ha reportado que entre 2000 y 2012 hubo un mayor riesgo de mortalidad que alcanzó el 58%, con el uso de sulfonilureas y metformina, mientras que en la *European Association for the Study of Diabetes* se informó que de 33,983 pacientes tratados con una sulfonilurea y metformina hubo una tasa de 16.9 muertes/1000 usuarios/ año debido a una causa vascular. Por otro lado en 7864 pacientes tratados con el inhibidor de DPP-4 y metformina la tasa fue de 7.3 muertes/1000 usuarios/ año. También es importante

resaltar que la monoterapia con metformina arroja una tasa de 13.6 muertes y que las sulfonilureas con monoterapia tienen una tasa de 44.6 muertes.

A pesar de que las cifras pudieran ser mayores sin tratamiento alguno, se puede vislumbrar el enorme impacto en el manejo clínico de la DT2 enfocado al tratamiento únicamente con hipoglucemiantes y en los programas oficiales de atención a la salud (Zárate *et al.*, 2014).

### **3.4. *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw.**

#### **3.4.1. Ubicación taxonómica y descripción.**

A pesar de la progresiva urbanización es muy común el uso de plantas medicinales para atención a la salud. Una de estas plantas es *Tectaria heracleifolia*, para la cual se reportan usos relacionados con la atención a enfermedades crónico-degenerativas como el cáncer y la diabetes, y también para tratar heridas e infecciones. Se le conoce como “Hierba del Sapo”, “Mano de Sapo” en Veracruz, “Helecho Paraguas”, “Acanahuala” en Nuevo León y “Lengua de Ciervo” en San Luis Potosí. (Romo, 2013; Velazco, *et al.*, 2012; Alonso-Castro *et al.*, 2012).

*Tectaria Heracleifolia* (Willd.) Underw. es un helecho del orden Polypodiales y familia Dryopteridaceae. Es terrestre, rupícola, con rizoma suberecto o erecto de hasta 2 cm de diámetro, escamoso; hojas de 30 a 70 cm de largo; peciolo a menudo más largo que la lámina, de color pajizo o pardo rojizo en la base, lustroso con algunas escamas; lámina de contorno ovada a pentagonal, lobada o 1-pinnada, cartácea; pinnas de 1 a 3 pares, margen entero, las pinnas basales con un gran lobo basicoscópico y a menudo con varios lobos más pequeños; raquis y costas de color pajizas, tejido laminar es glabro, nervaduras reticulada, con venillas incluidas, soros redondos en dos series entre las venas laterales, indusio peltado, grueso y persistente con algunos pelos dispersos en su superficie, esporas monoletes (Mendoza-Ruiz, 2009; Velazco *et al.*, 2012).



**Fig 1. *Tectaria heracleifolia*.**

### **3.4.2. Hábitat y Distribución.**

Crece en afloramientos rocosos generalmente calcáreos o en sumideros, riberas húmedas o a la orilla de arroyos con protección de luz solar directa. Propia de bosque mesófilo de montaña, bosque de *Pinus-Quercus-Liquidambar*, bosque tropical perennifolio y subperennifolio; entre 50 y 1150 msnm (Mendoza-Ruiz, 2009; Velazco, *et al.*, 2012).

Se distribuye en América desde Florida en Estados Unidos, pasando por México, Guatemala, Belice, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá, Bahamas, Grenada, Las Antillas, Colombia, Venezuela, Trinidad y Tobago y Ecuador (Mickel &Smith, 2004).

Su distribución en México es amplia, pues incluye a los estados de Campeche, Chiapas, Coahuila, Colima, Distrito Federal, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Tabasco, Tamaulipas, Veracruz y Yucatán. (Mendoza-Ruiz, 2009; Mickel &Smith, 2004).

### **3.4.3. Investigaciones realizadas.**

Un estudio etnobotánico del ejido “La Encantada”, Cazones, Veracruz refiere que la infusión de frondas de *T. heracleifolia* es actualmente utilizada por los habitantes como tratamiento de DT2 (Romo, 2013). Sin embargo, no se conocen registros previamente publicados de la actividad hipoglucemiante, ni de los atributos farmacológicos que se le atribuyen (Alonso-Castro *et al.*, 2012).

## **4. Justificación**

Una de las bases para la investigación en plantas medicinales es la utilización del conocimiento etnobotánico, pues es el que rescata el conocimiento empírico de los grupos humanos que utilizan su flora para el alivio de sus enfermedades. Otra parte importante y trascendental es la investigación científica y la continuidad a las investigaciones previas de las propiedades medicinales de las plantas, pues es necesario para deshacer la barrera que impide el flujo de información de importancia biológica, médica y social para el tratamiento de las enfermedades que aquejan a la población en la actualidad. Muchas de las plantas ampliamente referidas tienen escasas o nulas investigaciones sobre su inocuidad o efecto, lo que imposibilita aportar información relevante de seguridad, consumo y efectos, y una futura validación de su uso o en su caso, desacreditar las propiedades que se le atribuyen. Aunque el uso popular es un parámetro importante, eso no garantiza la actividad terapéutica.

La diabetes es una enfermedad crónica que se ha convertido en un problema creciente y costoso de salud pública, pues en México es ya la segunda causa de muerte y el incremento en su incidencia continúa aumentando. La diabetes tipo 2 está presente en todos los sectores de la población mexicana y en todos los grupos de edad, desafortunadamente no toda la gente que la padece puede acceder a la atención médica necesaria y/o a los hipoglucemiantes orales necesarios para tratar su enfermedad. Además de que está documentado que la monoterapia con hipoglucemiantes orales sintéticos tiene efectos secundarios adversos a corto y largo plazo que comprometen la salud de otros órganos e inclusive la vida de los pacientes. Entonces se vuelve indispensable la búsqueda, validación de otras opciones terapéuticas que disminuyan o mitiguen el los riesgos para las personas con diabetes y además que puedan ser accesibles económicamente.

Las plantas medicinales son un excelente candidato para tales fines, pues se sabe que muchos compuestos derivados del metabolismo secundario de éstas tienen actividad farmacológica específica para el tratamiento de la diabetes. Sin embargo, hace falta que con ayuda de investigaciones farmacológicas y fitoquímicas se establezcan los niveles de seguridad e inocuidad de las que están actualmente consumiéndose por la población humana, así como, generar información relevante de los efectos terapéuticos que se atribuyen.

Ya que *Tectaria heracleifolia* es una planta utilizada para el tratamiento de diabetes tipo 2 y consumida ampliamente por una comunidad, resulta necesario generar información sobre su inocuidad, así como investigar si su infusión tiene el efecto hipoglucemiante por el cual es referida.

## **5. Objetivos**

### **General:**

- Evaluar si el extracto acuoso de *T. heracleifolia* tiene un efecto hipoglucemiante.

### **Particulares:**

- Evaluar la inocuidad de diferentes dosis de extracto acuoso de *T. heracleifolia* en ratones ICR macho mediante la prueba de toxicidad aguda.
- Evaluar diferentes dosis del extracto acuoso de *T. heracleifolia* en ratones machos ICR diabetizados y en ratones normoglucémicos para valorar su efecto hipoglucemiante.
- Realizar pruebas cualitativas para la detección de metabolitos secundarios en el extracto acuoso de *T. heracleifolia*.

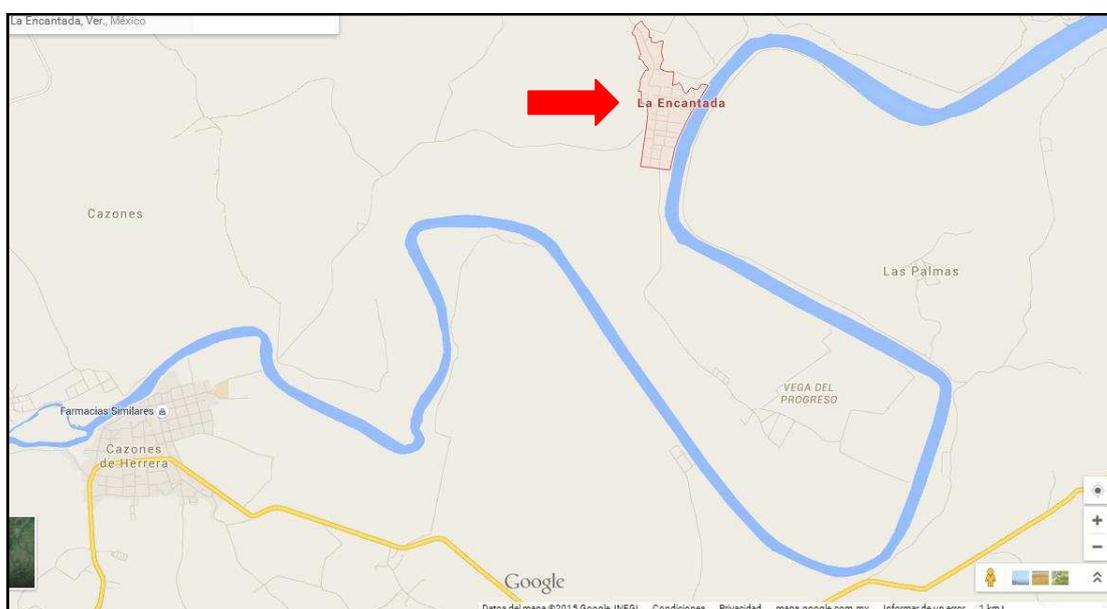
## **6. Hipótesis**

Si la infusión de *Tectaria heracleifolia* fue la principal planta referida y actualmente consumida por los habitantes de “La Encantada” en Cazonas, Veracruz y por habitantes en la Huasteca Potosina para el tratamiento de la diabetes tipo 2; es necesario evaluar la seguridad del consumo del extracto acuoso reportado, así como evaluar la efectividad de su efecto hipoglucemiante en el modelo de ratones ICR machos.

## 7.0 Método

### 7.1. Colecta del material

Se realizó la colecta de *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw. (Dryopteridaceae) durante el mes de septiembre del año 2013 en el ejido “La Encantada”, Cazones de Herrera, en el estado de Veracruz de Ignacio de la Llave, México. La identificación taxonómica de los ejemplares fue realizada por el M. en C. Armando Gómez Campos, investigador del laboratorio de Etnobotánica de la Facultad de Ciencias, UNAM.



**Fig 2. Mapa satelital de la ubicación del Ejido La Encantada, Cazones de Herrera, Veracruz, México.**

Posteriormente se llevó a cabo el secado del material en estufa a 25°C durante una semana. Se separaron las frondas de los peciolos, para su fragmentación en molino manual.

### 7.2. Extracto acuoso.

Se calentaron hasta ebullición 2L de agua destilada, se añadieron 40 g de fragmentos de hoja y se apagó la fuente de calentamiento. Posteriormente se trabajó en la campana de flujo laminar, con material previamente esterilizado, y se procedió a dos filtrados del extracto acuoso. El primer filtrado se llevó a cabo a través de dos gasas estériles; y el segundo a través de dos discos de papel filtro Whatman No. 1, para después depositarlo

en 5 frascos estériles de vidrio. Al terminar se taparon los frascos y se forraron con papel aluminio, para colocarlo dentro del refrigerador para su posterior liofilización.

Para llevar a cabo la liofilización del extracto se dividió en siete frascos de plástico opaco con tapa de rosca, aproximadamente de 400 ml cada uno. Posteriormente se colocaron recostados sobre sus paredes en un cristizador con acetona comercial, para después añadir poco a poco hielo seco fragmentado. Los frascos eran rotados horizontalmente para formar capas de hielo en las paredes y que la liofilización fuera más rápida al no formarse núcleos.

Después de congelar el extracto en capas, se retiraron las tapas y se colocó un tapón provisional con un trozo de aluminio agujerado en su lugar, para permitir la deshidratación del extracto mediante la generación de un vacío. Posteriormente se colocó dentro de la liofilizadora por cuatro días. El quinto día se sacó el contenido de los frascos y se pesó en balanza analítica el deshidratado obtenido del proceso.

#### **7.2.1. Pruebas cualitativas para los principales grupos de metabolitos secundarios.**

Para identificar la presencia de grupos de metabolitos secundarios se realizaron pruebas específicas con técnicas colorimétricas y de precipitación, con el extracto acuoso de *T. heracleifolia* en tres diferentes concentraciones: 30, 100 y 300 mg/kg. Se determinó la presencia de terpenos mediante la prueba de Libermann-Burchard, la presencia de alcaloides mediante la prueba de Dragendorff, la presencia de flavonoides a través de la prueba de Shinoda, y por último los glucósidos gracias a la prueba de Mólisch. Todas las metodologías reportadas previamente por Domínguez (1988).

#### **7.3. Estudios farmacológicos**

Las pruebas se realizaron en un cubículo asignado para esta investigación en la Unidad de Producción y Experimentación de Animales de Laboratorio (UPEAL) de la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X).

### 7.3.1. Toxicidad aguda

Esta etapa se realizó en dos fases de acuerdo a la metodología de Lorke, 1983, en las cuales se prueban diferentes dosis del extracto con toxicidad desconocida. Dependiendo del número de decesos animales en la primera etapa se puede continuar con la etapa siguiente, la cual se caracteriza por someter a experimentación las concentraciones más altas de extracto.

En la primera etapa se utilizaron 12 ratones de cepa ICR sexo machos de 25 a 30 g, se formaron 3 grupos de 3 ratones, cada uno para cada dosis (10, 100, 1000 mg/kg) además del lote control con vehículo o solución salina 0.9%; teniendo un total de 4 grupos.

Posteriormente se administró el extracto disuelto en solución salina 0.9% vía oral a través de una sonda orogástrica (cánula), con previo ayuno de cinco horas. El volumen total de la sustancia se administró conforme a la NOM-062-ZOO-1999: 0.2 ml/10g.

Los ratones fueron observados al momento de la administración de los extractos, durante 1,2,6 y 24 horas así como diariamente durante un periodo de 15 días. Es importante mencionar que a excepción del ayuno previo a la administración del extracto, los ratones contaban con acceso *ad libitum* de alimento y agua.

Con base en los resultados obtenidos en este ensayo, se realizó la segunda etapa de toxicidad con otros 12 ratones de cepa ICR sexo masculino de 25 a 30 g. Las dosis fueron 1600, 2900 y 5000 mg/kg (calculadas en función de los resultados de la etapa previa y con base en el algoritmo planteado por Lorke, 1983). Esta segunda etapa se llevó a cabo en las mismas condiciones que la anterior y con el mismo calendario de observación.

Se utilizó el cálculo de la dosis letal media o  $DL_{50}$  como parámetro de la toxicidad del extracto. De acuerdo a Lorke 1983, la  $DL_{50}$  para estos casos se obtiene utilizando la escala probit-log. Particularmente para analizar estos resultados se ajustó con el modelo logístico de datos agrupados

$$\log (\pi / 1-\pi)$$

Al finalizar ambas etapas, los sujetos experimentales fueron llevados a cámaras de  $CO_2$  para proceder con la eutanasia de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999.

### 7.3.2. Modelo experimental de diabetes tipo II en ratones machos cepa ICR

Para la evaluación del efecto hipoglucemiante del extracto fue necesario contar con sujetos experimentales que presentaran un cuadro fisiológico similar al de diabetes tipo II (Arias-Díaz, Balibrea, 2007). En este experimento se realizó mediante la Inducción química de diabetes tipo 2 descrita a continuación.

Se utilizaron 40 ratones ICR macho de 25-30 g, con previo ayuno de cinco horas. Se les administro nicotinamida (NA 50 mg/kg i.p., SIGMA®) y posteriormente fueron diabetizados con una dosis intraperitoneal (i.p) de estreptozotocina (STZ 120 mg/kg SIGMA®). Dicho protocolo tiene la finalidad de proteger las células beta pancreáticas del daño oxidativo excesivo que produce la STZ, asegurando así la generación de un cuadro fisiológico similar al de la diabetes tipo 2 en los animales (Masiello, 1998). El volumen de la administración i.p. se calculó con base en la NOM-062-ZOO-1999: 0.1mL/10g.

La estreptozotocina se preparó en un buffer de citrato de sodio con ácido cítrico con pH 4.5. Se mantuvo condiciones de frío y protección de la luz (Brosius, 2003). Una semana después de la administración de NA/STZ los animales ya se encontraban en niveles de glucemia de acuerdo al cuadro de diabetes tipo 2 (200 mg/dL). Una vez alcanzados los niveles de glucosa necesarios, se procedió con la evaluación de la actividad hipoglucemiante aguda del extracto acuoso de *Tectaria heracleifolia* (Willd.) Underw basados en la revisión de Mata *et al.*, 2013.

Se evaluaron las dosis de 30, 100 y 300 mg/kg de extracto acuoso liofilizado de *Tectaria heracleifolia*. Teniendo como control negativo el vehículo, es decir solución salina (0.9%) y como control positivo glibenclamida (10 mg/kg SIGMA®). Se formaron diez lotes, cada uno de ocho ratones machos ICR de 25 a 30 g. Cinco lotes de ratones normoglucémicos y otros cinco con ratones diabetizados, utilizando un total de 80 ratones. Se pusieron en condiciones de ayuno 5 horas previas al experimento. Posteriormente se administró el extracto disuelto en solución salina 0.9% vía oral a través de una sonda orogástrica. El volumen de administración se calculó conforme a la NOM-062-ZOO-1999: 0.2mL/10g.

A continuación se procedió con la medición de la glucosa en sangre, con glucómetro y tiras reactivas (ACCU- CHECK Performa, Laboratorios Roche®), a través de un único corte en el ápice caudal, no mayor a 1mm con tijera de disección. La evaluación de la glucosa se llevó a cabo en el tiempo 0, y en los tiempos 1.5, 3, 5 y 7 hrs después de la administración del extracto (Mata *et al.*, 2013). Cabe mencionar que para las tomas de glucosa posteriores al tiempo 0 solamente se removía con un papel humedecido, la sangre seca del ápice caudal, dejando libre el paso a una gota de sangre nueva.



**Figura 3. Fotografías de diferentes etapas del método. A) sitio de colecta, arroyo temporal. B) momento de la colecta del material vegetal. C) secado del material en estufa. D) realización del extracto acuoso mediante la técnica de infusión. E) Liofilización. F) administración de extracto vía sonda orogástrica. G) Punción en el ápice caudal de los individuos. H) Remoción de la sangre seca del ápice caudal, para la toma de glucosa en sangre.**

## **7.4 Análisis estadístico.**

### **7.4.1. Diseño experimental.**

Se realizó un diseño experimental completamente al azar, utilizando como unidad experimental un ratón macho cepa ICR con peso corporal de 25-30 g en todos los tratamientos probados. La comparabilidad entre las muestras está dada por la asignación aleatoria de las unidades en los grupos de estudio. La validez interna reside en el sexo y el peso homogéneos de los ratones, igual número de lotes y sujetos experimentales en los diferentes tratamientos, así como la colocación de los lotes en las mismas condiciones para todos los tratamientos; es decir condiciones de temperatura, humedad y fotoperiodo del UPEAL de la UAM-X.

Los lotes experimentales correspondientes a las diferentes concentraciones de *T. heracleifolia* son los que se evalúan con respecto a los lotes control (Glibenclamida y solución salina 0.9%). El control positivo es la solución de Glibenclamida, debido a que es un fármaco utilizado comercialmente por su efecto hipoglucemiante. El control negativo o vehículo es la solución salina 0.9% por no contener ningún soluto a evaluar.

Se realizó una lectura de glucemia por cada individuo de cada lote (ocho ratones por lote), en cada tiempo (tiempos 0, 1.5, 3, 5 y 7 hrs posteriores a la administración del extracto acuoso), en todos los lotes (cinco lotes de ratones normoglucémicos y cinco de ratones diabetizados). El intervalo entre las dos primeras mediciones de glucosa fue de 90 minutos, y el intervalo entre las dos últimas mediciones fue de 120 min.

La variable (% glucemia) se clasifica como numérica continua y representa la variación en los niveles de glucosa sanguínea de cada toma con respecto a la toma anterior (Mata *et al.*, 2013).

### 7.4.2. Análisis e interpretación de la información.

Los resultados se analizaron con análisis de Varianza (ANDEVA) con un  $\alpha= 0.05$ , y pruebas post hoc de Bonferroni y Dunnett; utilizando el programa estadístico Graph Path Prisma 5.0.

En lo que respecta a la descripción del comportamiento de la actividad hipoglucemiante aguda, basados en la revisión de Mata *et al.*, 2013, se graficaron los resultados de las pruebas en función del porcentaje de variación de glucosa con respecto a los tiempos 0, 1.5, 3, 5 y 7; con una ANDEVA de dos vías. De igual manera se realizaron gráficas de área bajo la curva para apreciar las diferencias globales entre tratamientos mediante la variación de glucosa, con un ANDEVA de una vía.

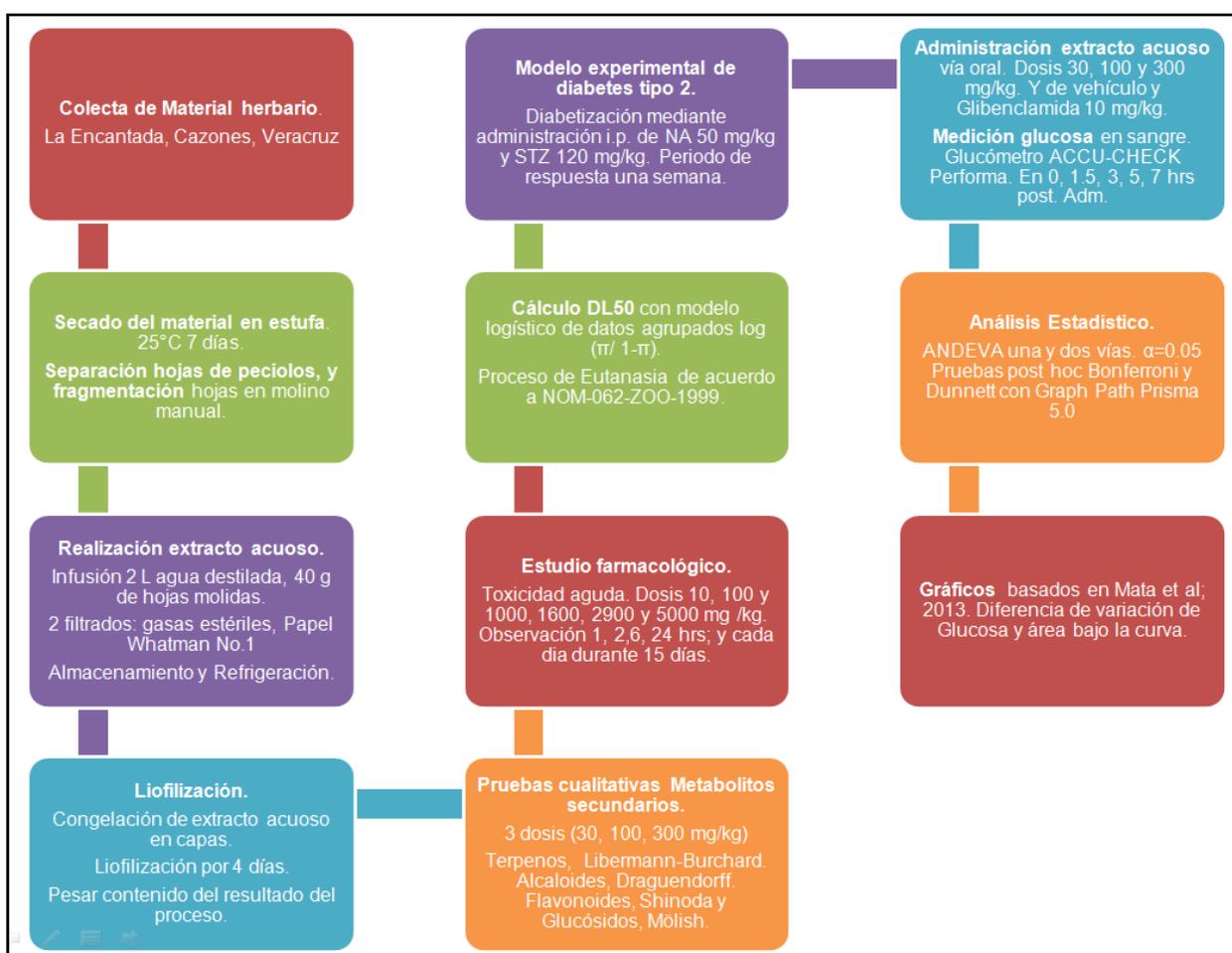


Fig 3. Diagrama de flujo de Método.

## 8.0 Resultados y discusión.

### 8.1 Estudio fitoquímico.

#### 8.1.1 Rendimiento del extracto.

De los 40 g de trozos de frondas de *T. heracleifolia* usados para la realización del extracto acuoso, al final de la liofilización se obtuvieron 5.4 g de deshidratado, por lo tanto el rendimiento de la planta fue de 13. 5%.

Dada la cifra del rendimiento, se puede inferir preliminarmente que se requerirían grandes cantidades de láminas foliares para su investigación y utilización, a reserva de la presencia y la abundancia de la planta en las diferentes épocas del año. De igual manera nos lleva a cuestionarnos si es ésta parte de la planta la que puede tener el mayor aporte medicinal, por lo que sería necesario evaluar el efecto de los extractos obtenidos de otras partes, por ejemplo del rizoma; e inclusive probar con otros tipos de extractos.

#### 8.1.2 Pruebas cualitativas para los principales grupos de metabolitos secundarios.

Se obtuvieron reacciones positivas para presencia de alcaloides, flavonoides y glucósidos. Para alcaloides, con el reactivo Dragendorff se observó un color naranja-marrón; para la prueba de flavonoides se observó una reacción de efervescencia en el tubo de ensayo así como la aparición de un anillo de color violeta en la interfase de las sustancias en la prueba de glucósidos (Domínguez, 1988) (Cuadro 2).

Tratamiento	Terpenos	Alcaloides	Flavonoides	Glucósidos
30 mg/kg	-	++	+	+++
100 mg/kg	-	++	++	+++
300 mg/kg	-	++	+++	+++
Imagen de la reacción.				

**Cuadro 2. Pruebas colorimétricas de metabolitos secundarios de los extractos de *T. heracleifolia* (- resultado negativo, + ligeramente positivo, ++ positivo, +++ fuertemente positivo)**

Se sabe que muchos el efectos terapéutico proviene de la acción de los metabolitos secundarios, ya sea de forma individual o sinérgica. Dentro de las investigaciones de los géneros de plantas medicinales más usadas para la diabetes tipo 2, los metabolitos secundarios mayormente mencionados son alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, compuestos fenólicos, glucósidos, terpenos y algunos antioxidantes (Castro *et al.*, 2002; Castro *et al.*, 2014).

Sin embargo, la distribución de metabolitos secundarios en el reino vegetal es amplia. A pesar de que sean diversas y numerosas las plantas utilizadas para el tratamiento de esta enfermedad, y la presencia del mismo tipo de metabolito coincida, no significa que el efecto hipoglucemiante se dé por la misma vía. Dado que varios géneros de plantas son renombrados por contener en sus familias numerosos representantes para tratamiento de la diabetes, se debe ceñir la búsqueda. Desafortunadamente para el caso de este estudio la familia Dryopteridaceae y el Orden Polypodiales aún no cuentan con ningún estudio previo de actividad hipoglucemiante o de alguna otra especie.

Lo más “cercano” en la filogenia es otro helecho Suramericano conocido comúnmente como “Cuti-cuti”, “doradilla” y “raqui—raqui” en Perú, y como “Kutu-kutu” en Bolivia. Se trata de *Notholaena nivea*, la cual es consumida en infusión para la diabetes y como vermífugo reportando casos de temblores en ganado ovino. Castañeda, *et al* (2005) señalan que en el caso de *Notholaena nivea* predominan los compuestos fenólicos, los alcaloides y los taninos. Existe coincidencia en ambos helechos en la presencia de alcaloides, pero se requiere investigación fitoquímica que permita identificar los alcaloides presentes en ambas especies.

## **8.2 Estudios farmacológicos.**

### **8.2.1 Toxicidad aguda.**

En el ensayo de toxicidad aguda no se produjeron alteraciones fisiológicas o conductuales en los animales hasta la dosis de 5000 mg/kg donde se presentó el deceso del segundo individuo administrado. Por lo tanto la dosis letal media ( $DL_{50}$ ) del extracto acuoso de *T. heracleifolia* es de 5065.177 mg/kg. Resultado obtenido a partir del modelo logístico de datos agrupados ya mencionado, con un AIC= 5. (Cuadro 3).

Tratamiento	Decesos
10 mg/kg	0/3
100 mg/kg	0/3
1000 mg/kg	0/3
1600 mg/kg	0/3
2900 mg/kg	0/3
5000 mg/kg	1/3

**Cuadro 3. Concentraciones de *T. heracleifolia* y número de decesos de sujetos experimentales en la prueba de toxicidad aguda.**

De acuerdo con Lorke (1983) cuando se administran dosis altas como la de 5000 mg/kg en grupos de 3 animales y solo uno de tres individuos muere, la sustancia es prácticamente inocua; sin embargo, de acuerdo con el protocolo 423 de la OECD (2001); la sustancia puede considerarse como ligeramente tóxica.

### **8.2.2 Modelo experimental de diabetes tipo II en ratones machos cepa ICR.**

Una semana después de la administración de STZ/NA los sujetos experimentales presentaban niveles altos de glucosa en sangre (200 mg/dL), una disminución notoria de peso, pelo encrispado y aumento en el consumo de agua, por lo que se realizaron los ensayos de efecto hipoglucemiante.

#### **Ensayo de efecto hipoglucemiante**

##### Individuos normoglucémicos

Se encontraron diferencias significativas de la glibenclamida en todos los tiempos post administración; y de todas las dosis del extracto acuoso de *T. heracleifolia*. Para las dosis de 30 y 300 mg/kg en las 3, 5 y 7 h posteriores a la administración; y para la dosis de 100 mg/kg únicamente en las 7 h ( $p < 0.05$ ,  $F = 5.53$ ). La significancia de los tratamientos fue con respecto al vehículo (solución salina 0.9%) (Fig. 4). De igual manera se encontraron diferencias significativas de todas las concentraciones de *T. heracleifolia* y el control positivo (glibenclamida) con respecto al vehículo ( $p < 0.05$ ,  $F = 15.95$ ) (Fig. 5).

Con el ANDEVA de dos vías se evaluó si el efecto hipoglucemiante del extracto estaba relacionado con el tiempo después de la administración.

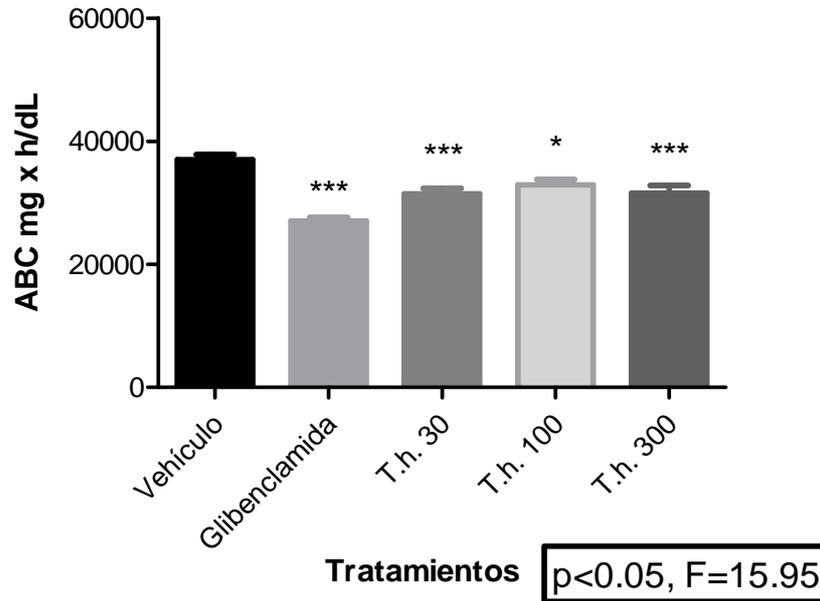


Figura 4. Representación del área bajo la curva que refleja el efecto global del tratamiento sobre los niveles de glucosa en ratones normoglucémicos. Letras diferentes representan diferencias significativas entre los tratamientos.

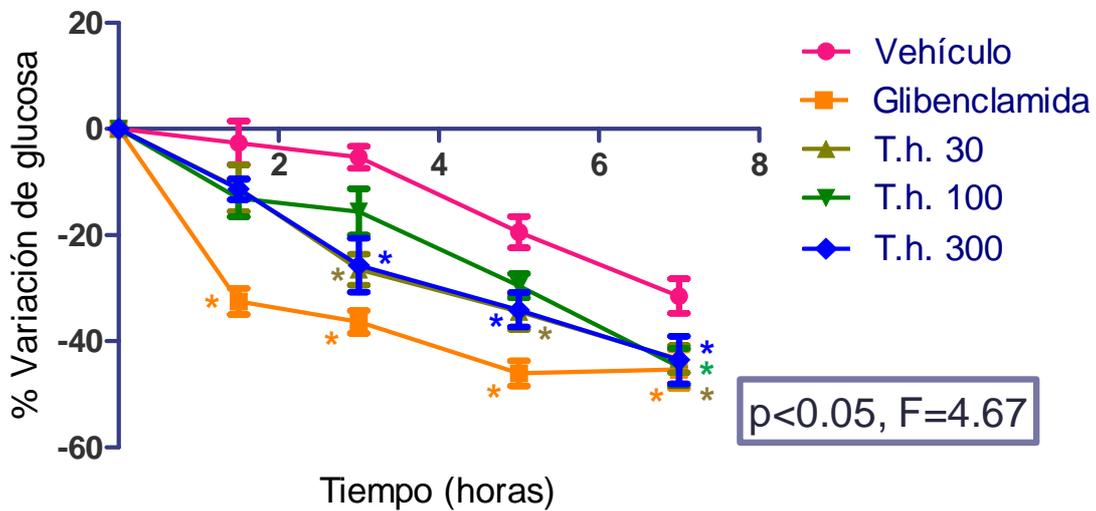


Figura 5. Niveles de variación de glucosa sanguínea a través del tiempo en ratones normoglucémicos. Se usa el porcentaje de variación de glucosa como variable para definir los cambios que tiene la cantidad de glucosa de un tiempo a otro y durante las siete hrs posteriores a la administración de los tratamientos.

El hecho de que la glibenclamida como control positivo tuviera resultados significativos era un resultado esperado, pues la glibenclamida es un tipo de sulfonilurea, un hipoglucemiante oral de uso comercial para tratar la diabetes tipo 2.

Lo relevante es que las tres dosis de *T. heracellifolia* fueron significativas con respecto al vehículo, pues evidencia que éste extracto acuoso tiene un efecto positivo sobre la hiperglucemia en condiciones normoglucémicas. Lo anterior tiene grandes implicaciones pues habla de que existe un efecto del extracto acuoso, lo que afirma el uso tradicional de la planta por lo que sería necesario evaluar los extractos en pruebas crónicas *in vivo*.

Por otro lado llama la atención de que a pesar de que no actúen las tres dosis desde la primera medición de glucosa, se aprecia que lo hacen en horas posteriores (a partir de 3 h). Esto evidencia que el tiempo de acción es diferente al del medicamento (el cual actúa desde 1.5 h), y este dato podría complementar una posterior investigación de los compuestos químicos responsables del efecto hipoglucemiante.

También cabe resaltar que el efecto en el rango de dosis dado, se mantiene hasta el final del experimento, esto es buena señal pues significa que la acción del extracto funciona a lo largo de un periodo de tiempo a partir de una única toma, es decir no pierde efectividad a pesar del paso del tiempo, al menos hasta las 7 h posteriores.

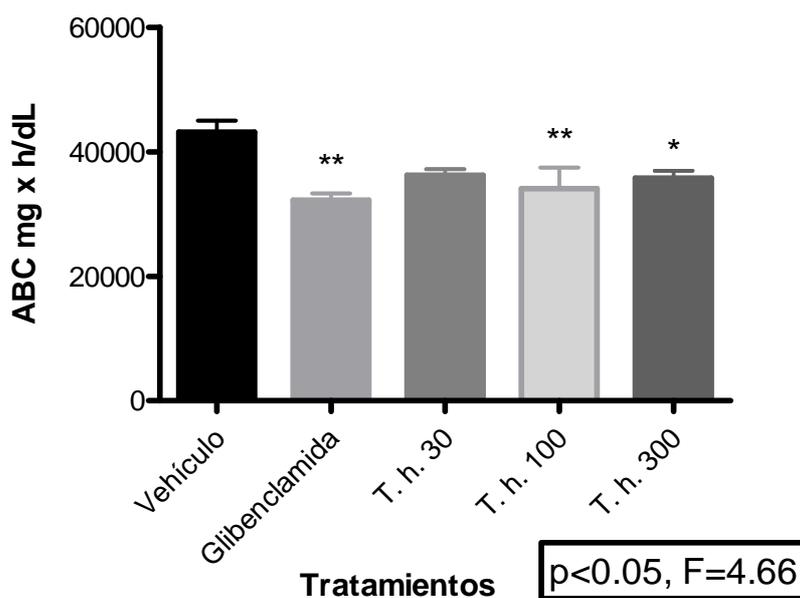
Se aprecia que todas las curvas presentan la misma tendencia, es decir, van disminuyendo los niveles de glucosa con el paso del tiempo. Sin embargo, cada curva se encuentra dentro de rangos diferentes, lo que también refleja el efecto de cada tratamiento respecto al vehículo. También es importante denotar que existen diferencias significativas entre la glibenclamida y las soluciones de *T. heracleifolia*, esto quiere decir que aunque su naturaleza química es diferente, actúan con efecto hipoglucemiante progresivo. La glibenclamida actúa sobre el páncreas para aumentar la secreción de insulina preformada, tiene un efecto hipoglucemiante agudo sobre la célula beta del páncreas y un efecto hipoglucemiante crónico mediado por la potenciación de la acción de la insulina. Dado que se aprecia la misma tendencia del efecto hipoglucemiante en las concentraciones de *T. heracleifolia*, se puede pensar que el extracto acuoso actúa como insulinosensibilizador o como secretagogo.

Sin embargo, la prueba de *post hoc* reveló que no existen diferencias significativas entre las tres concentraciones de extracto acuoso esto se puede deber a que para individuos normoglucémicos la efectividad del tratamiento no depende directamente de la concentración del extracto.

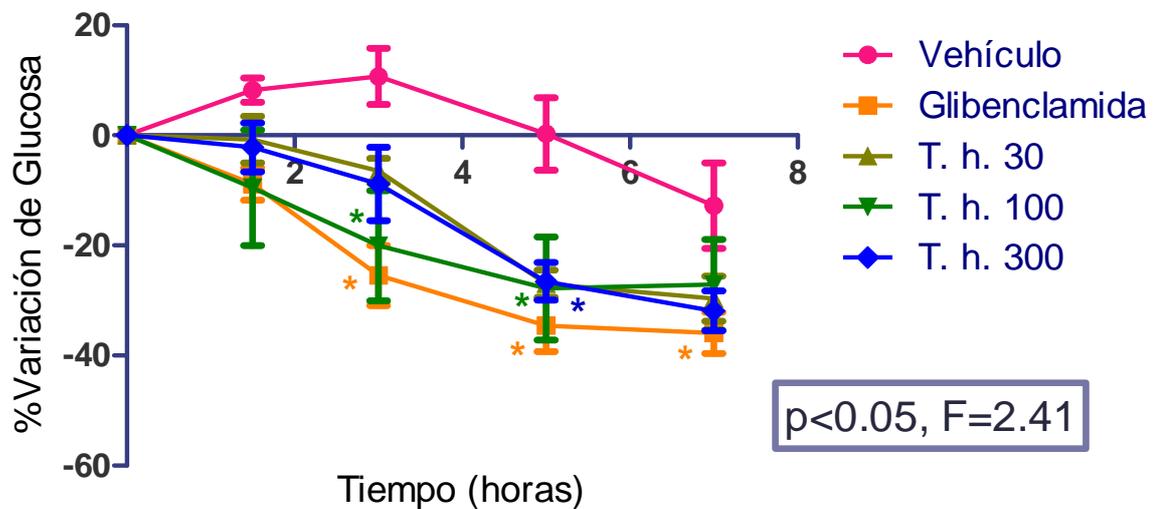
#### Individuos hiperglucémicos

Se encontraron diferencias significativas de las dosis de 100 y 300 mg/kg de *T. heracleifolia* y de Glibenclamida, con respecto al vehículo ( $p < 0.05$ ,  $F = 4.66$ ) (Fig.6).

Para el efecto hipoglucemiante del extracto y su relación con las horas posteriores a la administración oral, se encontraron diferencias significativas con respecto al vehículo (solución salina 0.9%), de la Glibenclamida en las horas 3, 5 y 7 h post administración; y en la dosis de 100 mg/kg en las 3 y 5 h, así como en la dosis de 300 mg/kg en la hora 5 ( $p < 0.05$ ,  $F = 2.41$ ) (Fig.7).



**Figura 6.** Representación del área bajo la curva que refleja el efecto global del tratamiento sobre los niveles de glucosa, \* Diferencias significativas  $\alpha = 0.05$ .



**Figura 7. Tasa de cambio de los niveles de variación de glucosa sanguínea a través del tiempo. Se usa el porcentaje de variación de glucosa como variable para definir los cambios que tiene la cantidad de glucosa de un tiempo a otro y durante las siete hrs posteriores a la administración de los tratamientos.**

Al igual que el ensayo con individuos normoglucémicos, en estos resultados se esperaba que la glibenclamida al ser el control positivo del experimento resultara significativa en todos los tiempos y con respecto al vehículo; sin embargo, para individuos hiperglucémicos la glibenclamida comenzó a tener efecto a partir de las 3 h; lo cual habla del tiempo de acción del medicamento y su relación con la condición de los individuos, pues los altos niveles de glucosa sanguínea influyen en el tiempo de la respuesta del medicamento. En los ratones normoglucémicos el efecto se observó a la 1.5 h, por lo que, dada la condición fisiológica de los animales y los resultados obtenidos en individuos normales, al parecer la enfermedad con altos niveles de glucosa, retrasa el tiempo de acción del medicamento comercial mientras que el extracto acuoso de *T. heracleifolia* actúa, al igual que en los individuos normoglucémicos, a partir de las 3 h.

Cabe señalar también que la dosis de 30 mg/kg no resultó significativa en comparación con el resto de los tratamientos ni en el tiempo posterior a la administración del extracto, a diferencia de los individuos normoglucémicos, por lo que, para individuos hiperglucémicos una dosis de 30 mg/kg es insuficiente para obtener algún efecto positivo en la cantidad de glucosa en la sangre. Lo anterior puede poner en cuestionamiento si en esta dosis es insuficiente la concentración de metabolitos secundarios, y por lo mismo no se alcanza la dosis terapéutica necesaria para tener un efecto en ratones enfermos

En el caso de la dosis de 100 mg/kg se observa que el efecto comenzó hasta la tercera hora posterior a la administración del extracto. Ya que al parecer, la condición fisiológica de los animales afecta el tiempo de acción de los tratamientos, se puede justificar que el comienzo de la diferencia con el vehículo sea posterior a lo observado en individuos normoglucémicos. Por otro lado, no se muestran diferencias significativas en las 7 h, eso puede deberse a que la duración de la acción del extracto también se ve afectada por la enfermedad.

Con la dosis de 300 mg/kg que solo mostró diferencias significativas en las 5 h no se puede usar el mismo argumento de las afectaciones por la condición fisiológica pues se puede decir que si la dosis es más alta que la anterior, el efecto se vería potenciado; a menos que existan factores fisiológicos que delimiten la interacción del activo en el extracto y las células pancreáticas. A pesar de eso, a las 7 h ya no existen diferencias estadísticas. Lo anterior se puede deber a que, al igual que la dosis anterior, la duración de la acción del extracto también se ve afectada por la enfermedad. Es decir que la actividad de *Tectaria heracleifolia* es similar a la del control positivo, y el retraso del va en función de la condición de los animales.

Con respecto a la duración del efecto del tratamiento a lo largo del tiempo, es notorio que únicamente la glibenclamida lo mantiene. Pese al hecho de que los otros dos tratamientos que resultaron significativos (T.h. 100 y T.h. 300) no hayan revelado en la gráfica tal propiedad, también puede ser debido a que por la variación individual los rangos de error de los datos se encuentran traslapados, lo cual deriva en los resultados no significativos. Posiblemente incrementando el tamaño de muestra se podría determinar con más certeza, si hay o no diferencia entre los tratamientos.

A pesar de ello se aprecia claramente en la gráfica que las trayectorias de los tratamientos con extracto acuoso y la glibenclamida tienen la misma tendencia y en ambos casos diferente de la del vehículo. Se han descrito evaluaciones del efecto hipoglucemiante de extractos acuosos de otras plantas en diferentes modelos experimentales de diabetes tipo 2 inducida, e inclusive en personas que padecen la enfermedad (Gordillo, *et al*; 2012). Sin embargo, cabe mencionar que las propiedades fitoquímicas a las que se les atribuye dicho efecto están mayormente relacionadas con los grupos de metabolitos secundarios previamente identificados en otros estudios. Además la mayoría de estos ensayos son crónicos, lo que indica que tanto la inducción de

diabetes como la administración del extracto son dadas en más de una ocasión y bajo un periodo de tiempo más amplio (González, *et al*; 2012; Navarro, *et al*; 2004).

Los resultados significativos de las concentraciones de extracto acuoso de *T. heracleifolia* refuerzan el argumento de proponer a esta planta para investigaciones más específicas del efecto hipoglucemiante; tanto de la estructura de los metabolitos secundarios o antioxidantes que ejercen el efecto medicinal, así como de estudios agudos y crónicos de otros tipos de extractos y de otras partes de la planta, o de la planta completa.

Actualmente se cuestiona el uso de los hipoglucemiantes orales por el riesgo de accidentes vasculares y la ocurrencia de la muerte. Además del costo elevado, se desconocen todos los tipos de efectos adversos tardíos. Por lo que se requieren tiempos más amplios de evaluación que no satisface la demanda de medicamento por quienes padecen diabetes tipo 2. Gran parte de la morbilidad asociada a las complicaciones crónicas la DT2 pueden ser reducidas con intervenciones terapéuticas que consigan mantener los valores de glucemia cercanos al intervalo de normalidad (Cañigüeral y Vila, 2003; Zárate, *et al*. 2014).

## 9.0 Conclusiones

- La toxicidad aguda por la prueba de Lorke (1983) da una  $DL_{50}$  de 5065 mg/kg, esto permite clasificar el extracto acuoso de *Tectaria heracleifolia* como seguro.
- El extracto acuoso de frondas de *Tectaria heracleifolia* tiene efecto hipoglucemiante, en las dosis de 100 y 300 mg/kg.
- La disminución en los niveles de glucosa causada por el extracto acuoso de *T. heracleifolia*, presentó un comportamiento similar al del fármaco glibenclamida, aunque nunca fue mayor a la del fármaco.
- Dados los resultados obtenidos en este estudio, *T. heracleifolia* puede proponerse para estudios más específicos de su efecto hipoglucemiante.
- Se aportan los primeros datos para la validación del uso tradicional del extracto acuoso de frondas de *T. heracleifolia*.

## 10.0 Perspectivas

Con base en los resultados obtenidos sería necesario evaluar los siguientes aspectos:

- Cálculo de la Dosis Efectiva media o  $DE_{50}$  del extracto acuoso de *T. heracleifolia*.
- Un ensayo crónico *in vivo* para evaluar del efecto de la planta sobre la hiperglucemia en periodos de tiempo más prolongados.
- Realizar estudios fitoquímicos para identificar los principios químicos funcionales involucrados en el efecto terapéutico
- Realizar investigaciones para elucidar el mecanismo de función del extracto.
- Evaluar el extracto acuoso de otras partes de la planta como el rizoma, para comparar su efecto con el extracto de las hojas.
- Realizar ensayos con otros tipos de extractos.

## 11. Bibliografía

1. Aguilar-Contreras, A., Xolalpa-Molina, S. 2002. La herbolaria mexicana en el tratamiento de la diabetes. *Ciencia* 53: 24-35.
2. Alonso-Castro, A. Madonado, J. Zarate, A. Jacobo, M. Fernández, C. Figueroa, L. Rios, N. De León, M. Medellín, N. Reyes, A. Méndez, R. Carranza, C. 2012. Medicinal plants used in the Huasteca Potosina, México. *Journal of Ethnopharmacology*. 143:292-298.
3. Alvear, M.; Cristina, A. 2010. Consideraciones sobre el programa de detección de diabetes mellitus en población mexicana: el caso del Distrito Federal. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 26 (2): 299-310.
4. American Diabetes Association (ADA). 2015. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 38 (1): S8-S16.
5. Arias-Díaz, J. Balibrea, J. 2007. Modelos animales de intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2. *Nutrición Hospitalaria*, 22 (2): 160-168.
6. Barba de Piña Chan, B. 2002. Diabetes y medicina tradicional en México. *Ciencia* 53: 18-23.
7. Barrera, A. 1983. La Etnobotánica. En: En: Barrera, A. *La Etnobotánica: tres puntos de vista y una perspectiva*. pp. 19-24.
8. Brosius, F. 2003. Low-Dose Streptozotocin Induction Protocol (Mouse). *Animal model of Diabetic Complications Consortium*: 1-3.
9. Cañigüeral, S. Vila, R. 2003. La Fitoterapia racional. En: Vanaclocha, B. Cañigüeral, S. (Eds.) *Fitoterapia: Vademecum de prescripción*. 4 Ed. Editorial Masson (Barcelona): 15-27.
10. Castañeda, B. Manrique, R. Ibañez, L. 2005. Estudio fitoquímico y farmacológico de plantas con efecto hipoglucemiante. *Acta Médica Sanmartiniana* 1: 104-111.
11. Castro, A. Choquesillo, F. Félix, L. Milla, H. Bell, C. Castro, N. Palomino, R. Armas, S. Ramos, N. Calderón, A. 2002. Investigación de metabolitos secundarios en plantas medicinales con efecto hipoglucemiante y determinación del cromo como factor de tolerancia a glucosa. *Ciencia e Investigación*. 5(1): 3-6.

12. Castro, C. Villa, N. Ramirez, S. Mosso, C. 2014. Uso medicinal de plantas antidiabéticas en el legado etnobotánico Oaxaqueño. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 19(1): 101-120.
13. Clínica Universidad de Navarra (CUN). 2013. Tratamiento con antidiabéticos Orales en la clínica. Enero,14,2015: <http://www.cun.es/enfermedades-tratamientos/tratamientos/antidiabeticos-orales>
14. Córdova, J.; Barrigete, J.; Lara, A.; Barquera, S.; Rosas, M.; Hernández, M.; de León, M.; Aguilar, C. 2008. Las enfermedades crónicas no transmitibles en México: sinopsis epidemiológica y prevención integral. *Salud Pública Mex*; 50:419-427.
15. De Alaiz, A. 2015. Clínica Diabetológica. Enero, 14, 2015: <http://clinidiabet.com/es/infodiabetes/educacion/tratamiento/farmacos/03.htm>
16. Domínguez, X. A. 1988. Métodos de investigación fotoquímica. Limusa, México.
17. Instituto Nacional de Salud Pública. 2012. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT) Resultados nacionales. 1º Edición.
18. Esquivel, E. Noriega, R. Bello, M. Saavedra, M. Salgado, R. 2012. Plantas utilizadas en la medicina tradicional mexicana con propiedades antidiabéticas y antihipertensivas. *Biológicas* 14, 1: 45-52.
19. Gonzalez, M. Márquez, A. Meléndez, C. López, A. Efecto del extracto de hojas de Nim (*Azadirachta indica* A. Juss) en la diabetes Mellitus inducida por Estreptozotocina en ratones. 2012. *Gaceta de Ciencias Veterinarias* 15, 2: 64-71.
20. Gordillo, G. Negrón, L. Zúñiga, T. Flores, E. Moreyra, R. Fuertes, C. Guerra, G. Apesteguía, A. Quintana, A. 2012. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. *Ciencia e Investigación* 15, 1: 42-47.
21. Hernández, X. 1983. El concepto de Etnobotánica. En: Barrera, A. *La Etnobotánica: tres puntos de vista y una perspectiva*. pp. 13-18.
22. International Diabetes Federation (IDF). 2013. *Atlas of Diabetes*, 6º Ed.
23. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). 2012. Principales causas de mortalidad por residencia habitual, grupos de edad y sexo del fallecido. Obtenido el

20 de octubre de 2015 de:

<http://www.inegi.org.mx/est/contenidos/proyectos/registros/vitales/mortalidad/tabulados/ConsultaMortalidad.asp>

24. Jain, A. Sharma, R. Gahalain, N. Chaudary, J. Kumar, G. 2011. Herbal plants used in diabetic complications: An overview. *Journal of Pharmacy Research* 4(4): 986-988.
25. Llave, F. 2008. Actualización en el manejo de los antidiabéticos orales en Atención Primaria. *Medicina de Familia Andal.* 2:42-55.
26. Lorke, D. (1983) A New Approach to Practical Acute Toxicity Testing. *Archives of Toxicology.* 54: 275-287.
27. Masiello, P., Broca, C.; Gross, R.; Roye, M.; Manteghetti, M.; Hillaire, D.; Novelli, M.; & Ribes, G. (1998) Development of a New Model in Adult Rats Administered Streptozotocin and Nicotinamide. *Diabetes.* 47: 224-229.
28. Mata, R.; Cristians, S.; Escandón, S.; Juárez, K.; & Rivero, I. (2013) Mexican Antidiabetic Herbs: Valuable Sources of Inhibitors of  $\alpha$ -Glucosidases. *Journal of Natural Products.* 76(3):468-483
29. Mendoza-Ruíz, A. Pérez-García, B. 2009. Helechos y Licopodios de México. Vól.1. pp. 233
30. Mickel, J. Smith, A. 2004. The Pteridophytes of Mexico. *Memoirs of the New York Botanical Garden.* 88: 609-611.
31. Navarro, M. Coussio, J. Hnatyszyn, O. Ferraro, G. 2004. *Acta Farmaceutica bonaerense* 23, 4: 520-523.
32. NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones técnicas para la producción, uso y cuidado de los animales de laboratorio. *Diario Oficial de la Federación*, 6 de diciembre de 1999.
33. OECD. Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (The Organization for Economic Co-operation and Development). (2001). Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Method. *Guideline for Testing Of Chemicals.* 423: 1-14.

34. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013 a. Diabetes. Nota Descriptiva N° 312, Centro de Prensa. Obtenido el 8 de Septiembre de 2014, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
35. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2013 b. Estrategia de la OMS sobre la medicina tradicional 2014-2023. Obtenido el 3 de agosto de 2014, de [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/95008/1/9789243506098_spa.pdf)
36. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2014 a. Medicina tradicional: definiciones. Obtenido el 4 de Agosto de 2014, de [http://www.who.int/topics/traditional\\_medicine/definitions/es/](http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/)
37. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2014 b. Diabetes, nota descriptiva N° 312. Obtenido el 29 de Octubre de 2015, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
38. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2015. Enfermedades no trasmisibles. Nota Descriptiva N° 355, Centro de Prensa. Obtenido el 22 de Octubre de 2015, de <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs355/es/>
39. Pérez, F. 2009. Epidemiología y Fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. Revista Médica Clínica Condes. 20(5):565-571.
40. Ramírez, S.; Cabrera, C.; Huacuja, L.; Flores, L.; Pérez, G.; González, J.; López, A.; Topete, I.; Rosales, R.; Mejía, G.; Villa, N. 2013. Implicaciones en la atención primaria en salud de la genética y genómica en la diabetes mellitus tipo 2. Rev Med Inst Mex Sguero Soc, 51(3): e6-26.
41. Ramos, M.L.; Batista, C.M.; Gómez, B.C.; & Zamora, A.L. (2006) Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. Investigación en Salud. 3 (1): 7-15.
42. Romo, G. 2013. Estudio de las plantas silvestres con uso medicinal en La Encantada, municipio de Cazones de Herrera, Veracruz. P 49.
43. Valverde, J. 1984. The aztec herbal of 1552; Martín de la Cruz "Libellus de medicinalibus indorum herbis"; context of sources on nahualtmaterimedica. Veroff. Int. Gesch. Pharm 53:9-30.

44. Velazco, C. Salcedo, S. Alanís, G. Gonzales, M. Alvarado, M. 2012. Helechos de Nuevo León, Una guía ilustrada. Pp 73-74.
45. Zárate, A. Islas, S. Saucedo, R. 2014. Eficacia y efectos adversos de los antidiabéticos orales. Gaceta Médica de México. 150:5-7.