



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA



**EFFECTO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS Y ACUOSOS DEL MICELIO
PROPAGADO EN LABORATORIO DE LOS HONGOS, *Lentinula edodes*,
Pleurotus ostratus PARA EL CONTROL DE LA GLICEMIA**

Que para obtener el título de

BIÓLOGO

PRESENTA

Aceves Rodriguez Daniel Alberto Pavel, N°C 300231982

Director de Tesis

Biol. Víctor Manuel Esparza Martínez 09

Los Reyes Iztacala; Edo. De México, 2016





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.

INVICTUS

Cuando la inmensa noche se cierne sobre mi
Negra como el abismo insondable
Agradezco a los dioses si existen
Por mi alma inconquistable

Caído en las feroces garras de las circunstancias
No he llorado ni me he estremecido siquiera
Bajo los golpes terribles del destino
Mi cabeza sangra pero aún se encuentra erguida

Más allá de este lugar de furia y lagrimas
En donde es inminente el horror de las sombras
Y si embargo la amenaza de los años
Me encuentra y me encontrara sin miedo
Soy e amo de mi destino
El capitán de mi alma

Willian Ernest Henley

AGRADECIMIENTOS

Mis agradecimientos se dirigen a todos aquellos que me han ayudado a forjar mi camino y me han acompañado en el sendero de la vida.

Agradezco a mi madre María Teresa por enseñarme a soñar y hacerme creer que podía alcanzar las estrellas.

A mi Padre Víctor Manuel por enseñarme a nunca rendirme.

A mi pequeña hija Katherine, mi gran motivación.

A mi novia Imelda, “mi noche y mi día, mi cielo y mi infierno” parte fundamental de este proyecto.

A mis tíos Mario Alberto y Andrés quienes siempre han sido como unos segundos padres y me han aconsejado a través de mi vida.

A mis hermanas Miriam, Andrea y Stephanie, porque los lazos de hermandad van más allá de la sangre.

A Tonathiu mi hermano, mi amigo

A Angie la madre de mi hija.

A mis tías Lourdes y Margarita quienes me han cuidado y visto crecer.

Al Sensei Rafael Giménez, quien fortaleció mi mente y mi cuerpo a través del duro entrenamiento.

Mi gratitud a mi director de tesis Víctor Manuel Esparza también a mis asesores Dr. Rafael Villalobos Molina, al Mtro. Luis Antonio Hernández Gonzales, al Dr. Rodolfo de la Torre, Dr. Luis Arturo Baiza Gutman, y al Biólogo Gabriel Martínez Cortes por brindarme sus conocimientos y su tiempo durante el desarrollo de este proyecto.

Gracias a mis amigas de toda la vida, Ingrid y Paulina.

A mi “primo político” José Luis Pantoja, por el apoyo incondicional en aquellos días oscuros

Gracias a mis compañeros de carrera y amigos que me mostraron su apoyo incondicional y ánimo para dar por terminada esta etapa.

DEDICATORIAS

A esas personas que se fueron, pero que sus recuerdos persisten en mi memoria

A mis abuelos Mario y Carmelita, quienes me heredaron su voluntad, sus convicciones y sus sueños,

Al "Profe" Victor Esparza, más que un maestro, un amigo, que me enseñó que la ciencia debe ser pragmática, y estar enfocada a un propósito social.

"Nosotros estamos hechos de la misma materia
que los sueños"

William Shakespeare

Índice

Abstract.....	5
Resumen.....	6
Introducción.....	7
Antecedentes.....	10
Justificación.....	12
Objetivos.....	13
Materiales y Métodos.....	14
Preparación de micelio <i>L. edodes</i> y <i>P. ostreatus</i>	16
Deshidratación y secado del micelio	17
Preparación de los extractos.....	17
Cuantificación de carbohidratos.....	17
Prueba de tolerancia a la glucosa	18
Análisis estadístico.....	19
Resultados y Discusión.....	20
Propagación de la cepa.....	20
Producción de micelio en medio líquido.....	22
Deshidratación y secado del micelio.....	24
Obtención de extractos etanólico y acuoso de <i>L. edodes</i> y <i>P. ostreatus</i>	25
Cuantificación de carbohidratos.....	27
Prueba de tolerancia a la glucosa	30
Conclusiones.....	35
Referencias bibliográficas.....	36

Abstract

Diabetes mellitus is a chronic degenerative disease, with hereditary predisposition and epigenetic factors, it is characterized by low insulin sensitivity and an inherent destruction- β pancreatic cells. In Mexico the health sector has established different ways to treat this disease. It is including a non-pharmacological management, as weight control, diet according to the caloric needs. And a pharmacologic treatment, which can include sulfonylureas biguanides, artificial insulin or combinations of these treatments, however, for aspects economic and psychological the application of these drugs is not always applicable to all cases, therefore there is a need for new medicines that can replace this drug,

In recent times the herbal medicines have retaken much importance largely due to the recent research of phyto-medicines and greater knowledge cost benefit of current synthetic drugs, *Pleurotus ostreatus* and *Lentinula edodes* have been widespread for their various properties, among which its anti-diabetic property because allegedly these species of fungi increase insulin secretion and improve the utilization of glucose in blood. That is why in this study the effect of aqueous and ethanol extracts of *P. ostreatus* and *L. edodes* on the regulation of glycemia was evaluated. The strains of fungi were obtained in The Pilot Plant and laboratory for Teaching in the Production of Edible, Medicinal, and cultivated Fungi FES-I, the strain was propagated in solid medium potato dextrose and production of mycelium liquid medium used maltose enriched with glucose. The extracts were conducted to evaluate its effect on blood glucose in rats Wistar anormal glycemic through curves glucose tolerance, The data were analyzed by examining variance (ANOVA single factor) and (ANOVA block) and then a multiple comparison test of Turkey with a value of $p < 0.05$ to establish significant difference.

The results show that the ethanol and aqueous extracts of *L. edodes* to the 15 minutes of the test have similar behavior to the drug metformin and although ethanolic and aqueous extracts of *P. ostreatus* had no effect as an antihyperglycemic so marked as metformin, these differences remained significant with saline treated rats,

the behavior of the glucose curve after 30 minutes indicates that the drug metformin has similar behavior with ethanolic and aqueous extracts of *L. edodes*. However the extracts of *P. ostreatus* after 30 minutes presents a similar behavior to saline-treated rats. The results support the idea that the ethanolic extracts of *L. edodes* can be regulators glycemia with an antihyperglycemic effect. And the extracts of *P. ostreatus* may considerarse as adjuvants in the treatment of diabetes and as nutraceuticals comportarce for patients with diabetes.

Resumen

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica degenerativa, con predisposición hereditaria y factores epigenéticos, se caracteriza por una baja sensibilidad a la insulina y/o una destrucción inherente de las células β -pancreáticas, en México el sector salud ha establecido distintas formas de tratarla que incluye un manejo no farmacológico como: el control de peso, plan alimenticio conforme a las necesidades calóricas, y un manejo farmacológico en el cual podemos incluir sulfonilureas, biguanidas, insulina y combinaciones de estos tratamientos, sin embargo por razones económicas y psicológicas la aplicación de estos fármacos no siempre es aplicable a todos los casos, por ende existe la necesidad de encontrar nuevas medicinas.

En los últimos tiempos las medicinas de origen vegetal han vuelto a tomar mucha importancia en gran medida gracias a la actual investigación de fitomedicamentos y al mayor conocimiento costo beneficio de los actuales medicamentos sintéticos, los hongos *Pleurotus ostreatus*, y *Lentinula edodes*, han sido muy utilizados por sus diversas propiedades, entre las que destaca su efecto antidiabético, puesto que presuntamente estas especies de hongos aumentan la secreción de insulina y mejoran el aprovechamiento de glucosa en sangre. Es por ello que en el presente trabajo se evaluó el efecto de los extractos acuosos y etanólicos de *P. ostreatus* y *L. edodes* sobre la regulación de la glicemia. La cepas de los hongos se obtuvieron en la Planta Piloto y Laboratorio Para la Enseñanza en la Producción de Hongos Comestibles, Medicinales Cultivados FES-I, la cepa se propagó en medio sólido papa dextrosa y para la producción de micelio se utilizó medio líquido de maltosa enriquecida con glucosa. Se realizaron extractos para evaluar su efecto sobre la glucosa en sangre en ratas Wistar normo glucémicas a través de curvas de tolerancia a la glucosa, los datos se analizaron mediante un ANOVA de un solo factor y ANOVA por bloques y posteriormente con una prueba de comparaciones múltiples de Turkey con un valor de $p < 0,05$ para establecer diferencia significativa.

Los resultados muestran que los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes* a los 15 minutos de la prueba inducen un comportamiento análogo a los del fármaco metformina y aunque los extractos etanólicos y acuosos de *P. ostreatus* no tuvieron un efecto antihiper glucemiante tan marcado como la metformina, estos mantuvieron diferencias significativas con las ratas tratadas con solución salina.

El comportamiento de la curva de glucosa al minuto 30 señala que el fármaco metformina induce un comportamiento análogo con los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes*. Sin embargo los extractos de *P. ostreatus* al minuto 30 presentó un comportamiento análogo a las ratas tratadas con solución salina. Los resultados obtenidos apoyan la idea de que los extractos etanólicos de *L. edodes* pueden ser reguladores de glicemia con un efecto antihiper glucemiante. Y que los extractos de *P. ostreatus* pueden considerarse como coadyuvantes en el tratamiento de la diabetes y comportarse como nutraceuticos para los pacientes con diabetes.

Introducción

La diabetes mellitus es una de las enfermedades crónicas más comunes en adultos. En 2010 el número de adultos que padecía diabetes fue de 285 millones a nivel mundial, sin embargo se espera que para el 2030 esta cifra haya aumentado a 439 millones (Sanal *et al.*, 2011). Además se estima que el número de muertes a causa de esta enfermedad es de 3.96 millones por año (Sanal *et al.*, 2011). De acuerdo con la Federación Internacional de Diabetes, China, India, Estados Unidos, Brasil, Rusia y México son en ese orden los países con mayor número de diabéticos (Hernández Ávila *et al.*, 2012).

En México desde el siglo pasado la diabetes ha mostrado un crecimiento epidémico, así mismo es la primera causa de mortalidad y su tendencia muestra un incremento progresivo en los últimos años. Tan solo en 2008 hubo más de 75 500 defunciones con una tasa de mortalidad de 73.6% en las mujeres y de 63.4% en hombres que padecen esta enfermedad, (Escobedo *et al.*, 2011).

La diabetes es una enfermedad crónica con predisposición hereditaria y con factores epigenéticos, es por ello la importancia de una correcta composición de la dieta para mantener niveles óptimos de glucemia y evitar complicaciones crónicas, los pacientes afectados con diabetes tipo 2 tienen distintos gradientes de resistencia a la insulina. (Reyes Ramírez *et al.*, 2009). Mientras que los de tipo 1 tienen una insuficiencia en la producción de Insulina.

La vigilancia epidemiológica vigente en México, ha permitido identificar la magnitud y efecto tanto en la morbilidad como en la mortalidad de la diabetes, sin embargo se desconoce la magnitud y trascendencia de las complicaciones que provoca, la incapacidad y la discapacidad, así como la frecuencia de su asociación con otras enfermedades crónicas vinculadas con el síndrome metabólico (Zarate, 2012).

El diagnóstico de esta enfermedad está relacionado con diversos síntomas como son poliuria, polidipsia, pérdida de peso sin otra causa + glucemia plasmática casual >200 mg/dl, glucemia plasmática en ayunas >126mg/dl, o glucemia plasmática a las 2 horas del test de tolerancia oral a la glucosa >200mg/dl (Zarate, 2012).

En México el sector salud ha establecido distintas formas de tratar esta enfermedad que incluye un manejo no farmacológico como: el control de peso, plan alimenticio conforme las necesidades calóricas del paciente y un manejo farmacológico en el cual podemos incluir sulfonilureas, biguanidas, insulina o combinaciones de estos medicamentos

La metformina fue introducida como medicamento antihiper glucémico a principios de los setentas (Velásquez *et al.*, 2002). La metformina por tener dos grupos metilo (CH_3) unidos a un nitrógeno (N) del núcleo biguanida y no ligarse a las proteínas y por tanto no tener que metabolizarse en el hígado, tener vida corta y eliminarse en forma renal, por lo cual hoy se prefiere como fármaco de primera línea, sin embargo este medicamento no estimula la secreción de insulina, por ello se considera solo como un antihiper glucémico (Velásquez *et al.*, 2002).

La glibenclamida es un hipoglucemiante oral de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas, cuyo mecanismo de acción pancreático es aumentar la sensibilidad de las células β a hiperglucemia, e incrementar la secreción de insulina dependiente de glucosa (Lisson 1999).

La insulina en el tratamiento de la Diabetes se ha venido utilizando por más de 80 años, aunque fue hasta 1996 que se dispuso de la insulina cristalina que ha llegado a nuestros días; que consiste en hexámeros de insulina rodeada de un núcleo de zinc, con una duración de acción aproximada de 6 horas. Con el fin de prolongar su acción y así disminuir el número de dosis, el grupo de Hagedorn le unió la protamina, consiguiendo la llamada insulina NPH (Neutral Protamina Hagedorn).

La diabetes es una enfermedad crónica, en donde la destrucción de las células β pancreáticas es inevitable y por tanto la aplicación de insulina, única hormona capaz de facilitar el transporte de la glucosa a la célula, es necesaria para algunos pacientes, sin embargo por razones económicas y psicológicas no es posible aplicar esta hormona a algunos pacientes, por tanto es necesario buscar nuevas medicinas que puedan sustituir este tipo de fármacos (Gómez, 2010).

La medicina tradicional ha desempeñado un papel preponderante en el tratamiento de diversas enfermedades, fundamentalmente en los países en desarrollo, en ellos el 80% de la población acude al uso de estos medicamentos, así mismo en los últimos tiempos las medicinas de origen vegetal han vuelto a tomar mucha importancia en gran medida gracias a la actual investigación de los fitomedicamentos y al mayor conocimiento del costo-beneficio de los medicamentos sintéticos (Prieto *et al.*, 2004). La medicina tradicional China es la única que mantiene una existencia continua en cuanto a sus fundamentos desde hace más de 5000 años, en la medicina China los hongos, *Pleurotus ostreatus*, y *Lentinula edodes*, han sido muy difundidos por sus diversas propiedades, entre ellas destaca su propiedad antihiper glucémica, pues estas especies de hongos aumentan la secreción de insulina y mejoran el aprovechamiento de la glucosa en sangre. (Figlas y Curvetto, 2008).

De esta forma la combinación de la biomedicina y la medicina occidental típica podemos obtener un tratamiento precursor de diversas tecnologías, y un mejor tratamiento a la diabetes que se ha convertido en la enfermedad dominante del siglo XXI.

Marco teórico referencial

Los hongos, son organismos que forman parte del reino Fungi, presentan niveles de organización unicelular, pluricelular y dimórfico, poseen células eucariontes, son heterótrofos, portadores de esporas y carecen de clorofila aunque presentan pigmentos (Herrera y Ulloa, 1998).

Las esporas fúngicas al germinar, producen unos finos tubos, llamados hifas, que constituyen la estructura somática del hongo, las hifas se encuentran tanto en el micelio como en el cuerpo fructífero (Margulis y Schwartz, 1985). Por lo que en ambas estructuras podemos encontrar los mismos componentes activos.

Podemos clasificar a los hongos en función a su forma de nutrición agruparlos como: parásitos, simbioses, y saprofitos (Guzmán *et al.*, 1993). Los hongos lignocelulíticos presentados en este trabajo pertenecen a esta última clasificación.

Los hongos lignocelulíticos, por su capacidad para acelerar la descomposición de residuos agrícolas han sido estudiados por diversos autores, (Quintero, 2006); esta misma capacidad de descomposición ha llevado a estudiar este tipo de hongos en el ámbito médico, destacando a los hongos, *Ganoderma lucidum*, *Lentinula edodes*, y *Pleurotus ostreatus*, a los cuales se les han atribuido propiedades medicinales desde tiempos ancestrales (Figlas y Curvetto, 2010). En las últimas dos décadas se ha incrementado el interés comercial en productos derivados de *Ganoderma Lucidum*, no solo en los países Asiáticos, sino también en Norteamérica y Europa, siendo la producción mundial de aproximadamente 6000 toneladas y la mitad proviene de China. Las últimas estimaciones disponibles colocan el valor anual de los productos de *G. lucidum* en más de US\$ 2,5 mil millones. Se espera que estos valores se incrementen aún más cuando las propiedades medicinales atribuidas a este hongo se confirmen con los ensayos que se están realizando (Figlas y Curvetto, 2010).

Lentinula edodes es el hongo medicinal legendario en la cultura china y japonesa y el más conocido en nuestro país y, aunque aquí no crezca de forma natural, se va abriendo camino para su industrialización y consumo. Se puede utilizar desecado y añadirse a cualquier guiso, al que confiere un sabor inconfundible. Sin duda estamos ante un hongo con futuro en todos los frentes (culinario y medicinal). En este último aspecto, sus efectos se ejercen en tres latitudes: disminuyendo los niveles de lípidos en sangre (especialmente los triglicéridos), efecto antitumoral e inmunológico (potenciando la actividad de los linfocitos y macrófagos e incrementando los factores antitumorales inespecíficos: factor de necrosis tumoral, lisozima, ceruloplasmina, etc.) y actividad antiviral (De la Uña y Villamediana, 2006).

El *Pleurotus ostreatus* es de origen húngaro, también llamada orellana, *P. ostreatus* se encuentra en la lista de 37 especies de hongos descritas en la medicina tradicional mesoamericana y Mexicana (Carvajal y Grace, 2010). En reportes antiguos como el de la Pharmacopeia Sinica, donde se reporta que *Pleurotus* puede utilizarse para disipar los enfriamientos, relajar los tendones y las venas (Carvajal y Grace, 2010).

En los comienzos de la década de los 80, el champiñón representaba el 70% de la oferta mundial en la venta de hongos. Solamente el 2.8% de dicha producción correspondía a *Pleurotus ostreatus*, y el 14.3% a *Lentinula edodes*. En tanto en las proyecciones actuales sitúan a la producción de *P. ostreatus* en el segundo lugar representado por el 20% de la producción mundial de los hongos (Carvajal y Margoth, 2010).

El cultivo en medio sólido de los hongos lignocelulíticos es el método más común de propagación del micelio, para su posterior utilización en la producción de “semilla” y consiste en el crecimiento de micelio en granos de cereales (trigo, sorgo, arroz, etc.). Sin embargo una alternativa para la obtención de “semilla” es la utilización de micelio crecido en medio líquido ya que permite producir mayor biomasa, de mejor calidad, en menor tiempo,

favorecerá a la adaptación y dispersión del hongo en el trigo y facilitará su manipulación en la siembra y con fines de investigación (Aguilar y Valencia, 2007).

Antecedentes

-Fenglin Li *et al.* en 2011 evaluaron el efecto hipoglucemiante de los polisacáridos de *Ganoderma lucidum* (GI-PS) en ratones diabéticos inducidos por estreptozotocina (STZ). Los ratones diabéticos se dividieron al azar en cuatro grupos (8 ratones por grupo): grupo de control diabético, grupo tratado, grupo de dosis baja GI-PS (50 mg / kg, GI-PS), grupo de altas dosis de GI-PS t (150 mg / kg, GI-PS) y el grupo tratado con el control de drogas positivo (glibenclamida, 4 mg / kg),

Se midieron los pesos corporales, la glucemia en ayunas (FBG), la insulina en el suero sanguíneo, y los niveles de lípidos en sangre. Después de 28 días de tratamiento con GI-PS, los niveles de insulina en suero de la de los grupos tratados fueron significativamente más altos que el del grupo control; mientras que los niveles de FBG fueron significativamente menores.

- Mohammed. *et al.* En 2007 midieron los efectos del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum*, sobre los niveles de glucosa en sangre en ratas Wistar diabéticas inducidas con alloxan y en ratas normo glucémicas, se aplicaron tres dosis del extracto (250, 500 y 1000 mg/kg respectivamente) se administraron por vía intraperitoneal.

La dosis de 250 mg / Kg del extracto no alteró significativamente los niveles de glucosa en sangre de ambos, (ratas Wistar normo glucémicas y diabéticas). Sin embargo, las dosis de 500 y 1000 mg / Kg del extracto mostraron una disminución significativa ($p < 0,05$) de los niveles de glucosa en sangre de ratas Wistar diabéticos, a las 4, 8 y 24 h.

En ratas normales, la dosis de 1000 mg/Kg del extracto disminuyó significativamente ($p < 0,05$) los niveles de glucosa en sangre a sólo 8 y 24 h. En conclusión, la dosis de 1000 mg/kg del extracto indujo la reducción significativa en los niveles de glucosa sanguínea ($p < 0,05$) describiendo efectos hipoglucécos y efectos anti-hiperglucémicos en ratas Wistar.

- Shafiee. *et al.* 2012 demostraron que *Ganoderma lucidum* actúa directamente sobre los islotes de Langerhans para aumentar la liberación de insulina basal. Este hallazgo presenta un posible mecanismo para explicar el efecto hipoglucemiante de *Ganoderma lucidum* reportado por otros estudios.

- Olarewaju. *et al.* en 2010. realizaron estudios para investigar el potencial efecto hipoglucemiante de extracto acuoso de *Ganoderma lucidum* en ratas normales y en ratas hiperglucémicas inducidas por estreptozotocina (STZ). El estudio comprende tres grupos de ratas normales administrados 0, 100, y 200 mg / kg de peso corporal y otros tres grupos de ratas diabéticas donde se administró 0, 100, y 200 mg / kg de peso corporal. El extracto se administró por sonda esofágica una vez al día durante cuatro semanas.

El peso corporal y el consumo de alimento fueron supervisados semanalmente, mientras que la glucosa sérica, la insulina, el nivel de glicosilación de la hemoglobina, y el perfil de

lípidos se midieron al inicio del estudio (semana 0), dos semanas y cuatro semanas después del tratamiento. La dosis *G lucidum* se aplicaron en función de la disminución de la ingesta de alimento, peso corporal, glucosa en suero en ambos (normal y diabética inducida por STZ). Por otra parte, el extracto incrementó el nivel de insulina en suero en ratas normales y en ratas diabéticas STZ, en una manera dependiente de la dosis. Además, también mejoró el perfil de lípidos en suero tanto en animales normales como en diabéticos. Estos resultados sugieren que el extracto acuoso de *G. lucidum* puede proteger contra la diabetes inducida por STZ en ratas.

- Teng. *et al* en 2012 estudiaron el efecto antidiabético, la potencia y el mecanismo de un extracto de proteoglicanos, llamado FYGL (Fudan-Yueyang- *G. lucidum*), de los cuerpos fructíferos de *Ganoderma lucidum* como se ha publicado recientemente, en el uso de streptozotocina como inductora de diabetes mellitus en ratas.

Así mismo los resultados que se encontraron fueron; la disminución de la glucosa plasmática en ayunas y que el aumento de la concentración de insulina en las ratas con diabetes, es dependiente de las dosis y tiempo del tratamiento con extracto de *G. lucidum*. El efecto del FYGL, es comparable con la de los medicamentos clínicos, metformina y rosiglitazona. Además, FYGL disminuyó significativamente los niveles de ácidos grasos, triglicéridos, colesterol total y de baja densidad de la lipoproteína-colesterol, así como aumentó el nivel de lipoproteína-colesterol de alta densidad.

- Rushita, *et al* en 2013 establecieron el efecto del extracto metanólico de *Pleurotus citrinopileatus*, en los niveles de glucosa en sangre, insulina, y catalasa en ratas con diabetes inducidas por estreptozotocina. Los resultados mostraron una reducción significativa del nivel de glucosa en sangre en ayunas ($p < 0,05$) y la actividad de catalasa en suero. Además de un aumento significativo en el nivel de insulina en suero en el grupo tratado en comparación con la del grupo no tratado, y se observaron también algunos cambios histopatológicos en la sección de tejido renal en donde una posible enzima reparó los daños causados por la STZ. Este estudio reveló que *P. citrinopileatus* tuvo excelente actividad antidiabética y por lo tanto tiene un gran potencial como ingrediente natural y como productos para la salud.

- Byung. *et al* en 2002 evaluaron el efecto hipoglucemiante de un hexo- polímero de micelio sumergido de *Lentinula edodes*, que se aplicó a ratas con diabetes inducidas por estreptozotocina. La administración del hexo-polímero fue de (200 mg/kg) reduciendo el nivel de glucosa en plasma en 21,5% y aumentando la secreción de insulina plasmática en 22.1% en comparación con el grupo de control También bajó el nivel de colesterol total y los niveles de triglicéridos en plasma de 25.1 y 44.5%, respectivamente.

Justificación

En México la diabetes mellitus se ha convertido en la enfermedad epidemiológica más recurrente en los últimos tiempos, así mismo es la primera causa de mortandad entre la población (Escobedo *et al*, 2011). En el presente trabajo se pretende probar el efecto de los extractos etanólicos y acuosos del micelio de los hongos *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus*, en el control de la glicemia como tratamientos alternativos a los ya establecidos.

Hipótesis

Los extractos etanólicos y acuosos de los hongos lignocelulíticos *Lentinula edodes*, *Pleurotus ostreatus*, tienen un efecto en la regulación de la glicemia de ratas Wistar normoglicémicas después de una carga de glucosa de 3g/kg.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del extracto etanólico y acuoso del micelio de los hongos *Lentinula edodes* y *Pleurotus ostreatus* en el control de la glicemia después de una carga de glucosa

OBJETIVO PARTICULARES

- Propagación del micelio de *Lentinula edodes* y *Pleurotus. ostreatus* en los medios seleccionados
- Obtención de los extractos etanólicos y acuoso de las cepas de *L. edodes* y *P. ostreatus*,
- Cuantificación de carbohidratos, por medio del espectrofotómetro en los extractos etanolitos y acuosos de las cepas
- Establecimiento de las dosis para la aplicación de extractos en un estudio.
- Evaluación de los extractos en un bioensayo de curva de tolerancia a la glucosa.

MATERIALES Y METODO

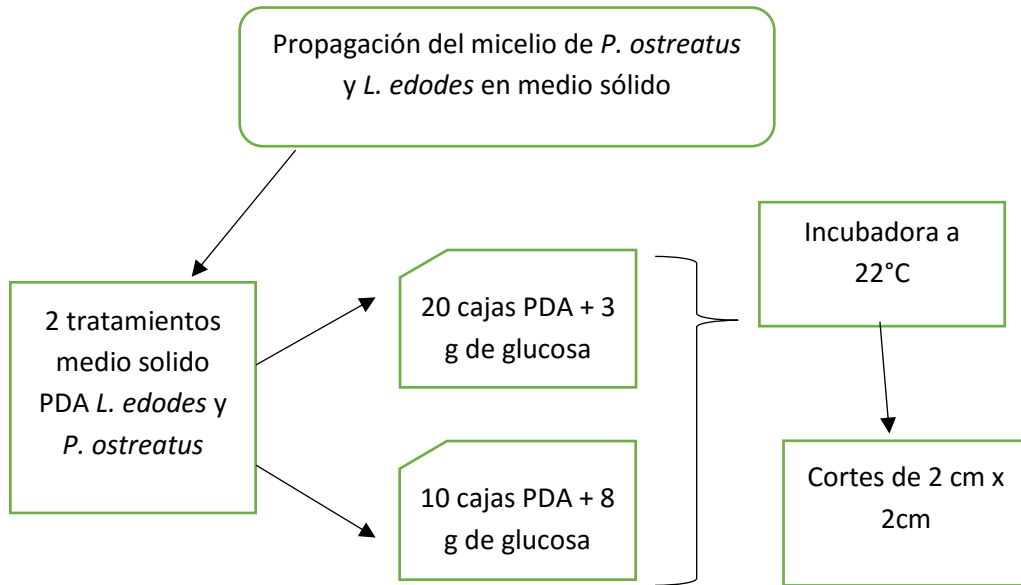


Figura 1: Propagación del micelio de *P. o streatus* y *L. Edodes* en medio solido PDA.

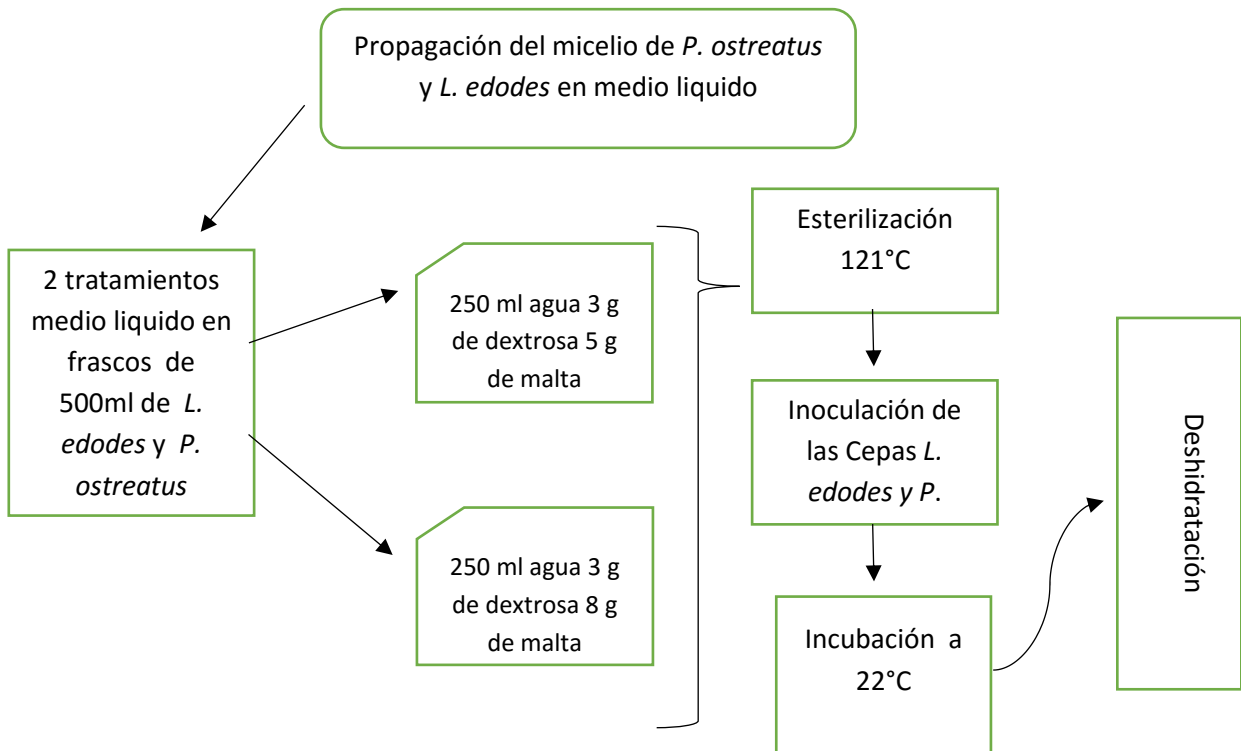


Figura 2 : Propagación del micelio de *P. ostreatus* y *L. edodes* en medio liquido extracto de malta

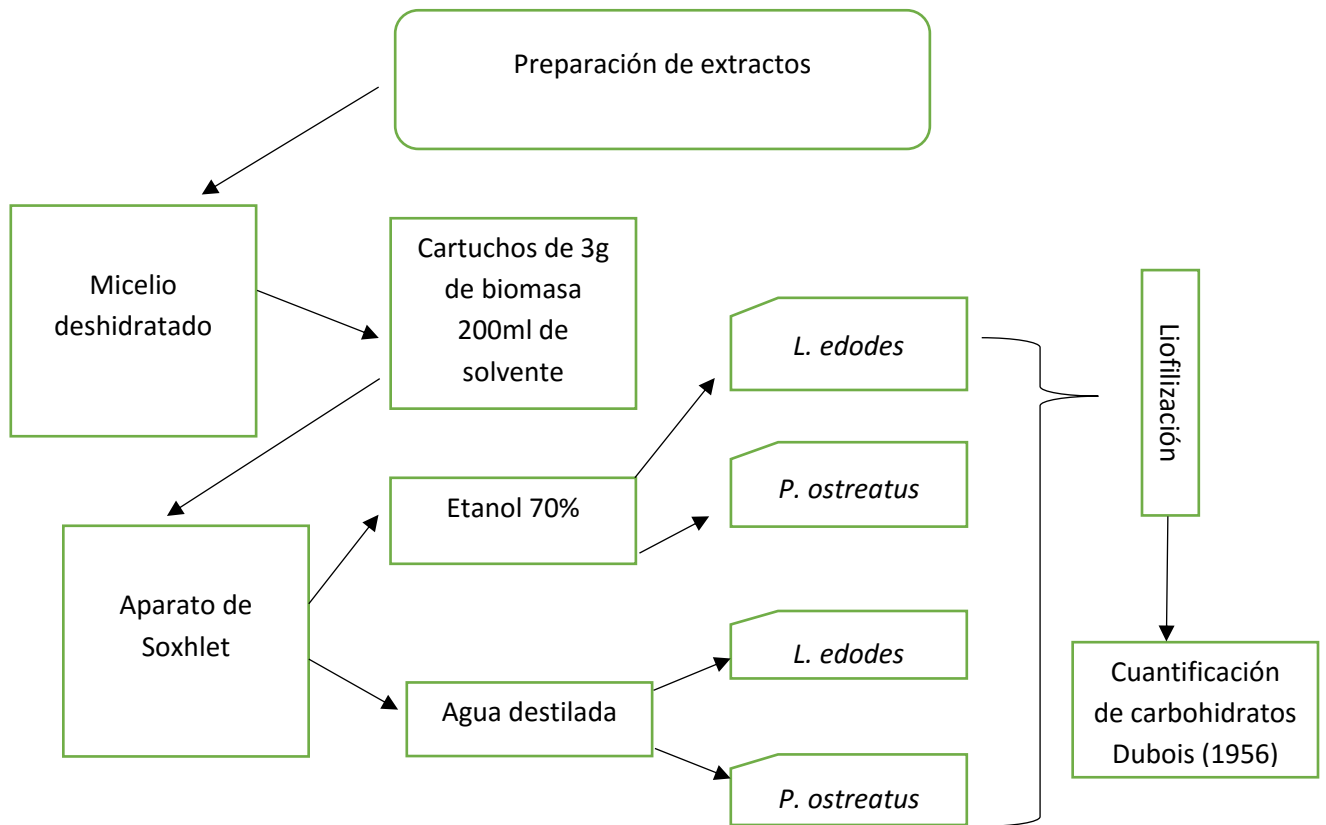


Figura 3 : Preparación de los extractos acuosos y etanólicos de *L. edodes* y *P. Ostreatus*

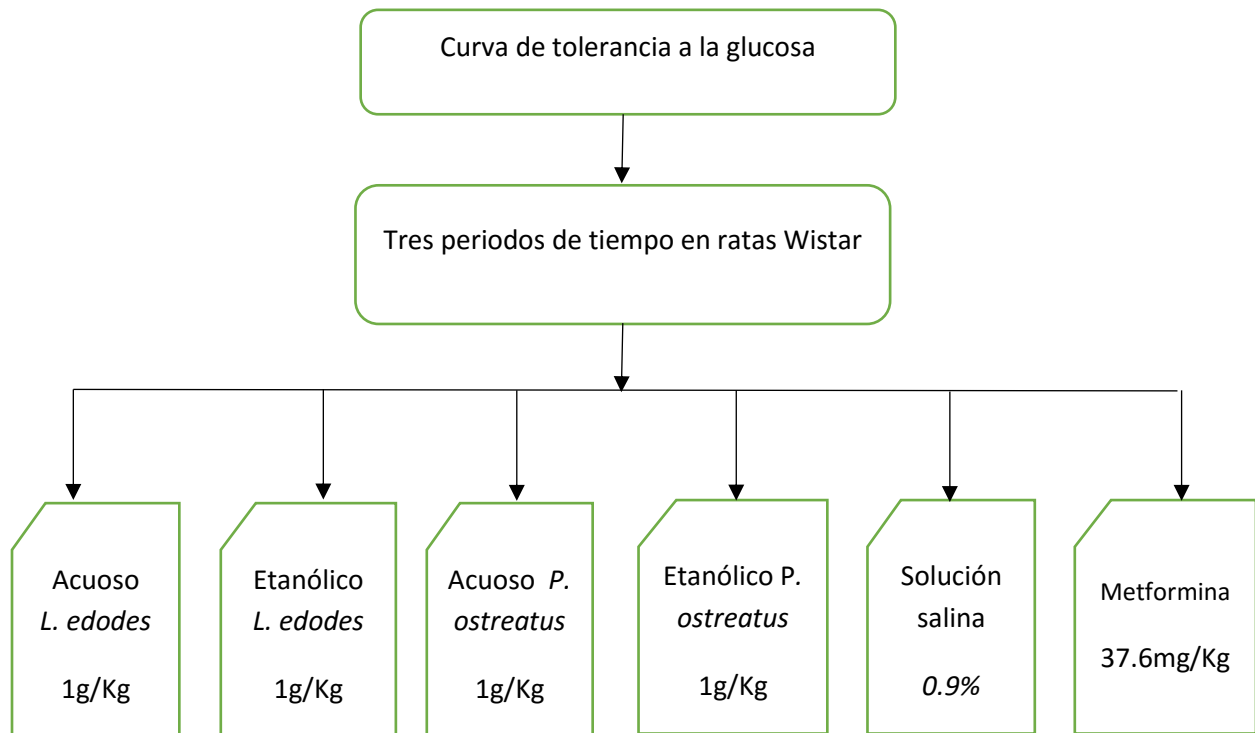


Figura 4: Curva de tolerancia a la glucosa

Propagación de micelio de *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*

Medio solido

Se obtuvieron de dos cepas madre, las colonias de *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes*, respectivamente, las cuales fueron inoculadas en un medio de cultivo sólido de agar papa-dextrosa 10 y 20 cajas por dos tratamientos de cada una de las especies de hongos. (Cuadro 1).

Cuadro 1: Tratamientos medio solido con diferencias de concentración de dextrosa

Especie	Tratamiento 1	Tratamiento 2
<i>Lentinula edodes</i>	20 cajas agar papa dextrosa. 3 g de dextrosa	10 cajas papa dextrosa. 8 g de dextrosa
<i>Pleurotus ostreatus</i>	20 cajas papa dextrosa 3 g de dextrosa	10 cajas papa dextrosa. 8 g de dextrosa

Se incubó a 23 °C el micelio de los hongos, *Pleurotus ostreatus* y *Lentinula edodes* hasta alcanzar un 100 % de crecimiento en las cajas de Petri.

Medio Líquido

Se cortaron fragmentos de 2 cm X 2 cm del micelio de las cepas y se inocularon directamente en la superficie de 10 y 20 recipientes en dos tratamientos con 250 ml de medio líquido de extracto de malta(cuadro 2), donde se pusieron a incubar hasta alcanzar el 100% de invasión en los recipientes, se realizaron tres tratamientos con la finalidad de acortar los tiempos de crecimiento del hongo (Resendiz 2015).

Cuadro 2: Tratamientos medio liquido con diferencias de concentración de glucosa

Especie	Tratamiento 1	Tratamiento 2
<i>Lentinula edodes</i>	20 Frascos extracto de malta y 3 g de dextrosa	10 cajas de extracto de malta y 8 g de dextrosa
<i>Pleurotus ostreatus</i>	20 cajas de extracto de malta y 3 g de dextrosa	10 cajas de extracto de malta y 8 g de dextrosa

Deshidratación y secado del micelio

Se extrajo el micelio de *L. edodes* y *P. Ostreatus* de cada uno de los frascos, se pesó y se deshidrato, el peso seco fue pesado para su posterior pulverización

Preparación de los extractos

Se obtuvo en total 414 g de micelio de *L. edodes* y 600.9 g de *P. ostreatus* en peso seco se pulverizó y se sometieron a extracciones sucesivas por medio del equipo Soxhlet hasta un volumen de 200 ml por cada 3 g, se realizó el proceso de extracción con los solventes etanol al 70% y agua. El contenido se filtró, se liofilizó y se mantuvo en refrigeración hasta su uso (Resendiz 2015).

Rendimiento de los extractos etanolico y acuoso de *L. edodes* y *P. Ostreatus* repsctivamente

El cálculo del rendimiento se llevara mediante la siguiente ecuación

$$R = \frac{m \text{ extracto}}{m \text{ micelio}} * 100$$

Cuantificación de carbohidratos por el método de Dubois con el reactivo H₂SO₄ al 70%

La cuantificación de polisacáridos se hizo por el método colorimétrico de Dubois (Dubois, et al. 1956) se utilizó un espectrofotómetro de UV/VIS a una longitud de onda de 490 nm y se empleó una curva de calibración de 0 µg/ml a 100 µg/ml empleando dextrosa como estándar.

Cuadro 3 : preparación de las soluciones patrones para elaborar una curva patrón

N° de tubo	Patrón de dextrosa (0.1g/1000ml)	Agua (ml)	Fenol 5%	H ₂ SO ₄ al 70%
1	0.2	0.8	1.0	5.0
2	0.4	0.6	1.0	5.0
3	0.6	0.4	1.0	5.0
4	0.8	0.2	1.0	5.0
5	1.0	0	1.0	5.0

Prueba de tolerancia a la glucosa

Con los extractos liofilizados que se obtuvieron, se realizaron tres ensayos para la evaluación de tolerancia a la glucosa.

La curva de tolerancia a la glucosa es una prueba que mide la capacidad que tiene el organismo para metabolizar la glucosa de forma que cuando existe una alteración en el metabolismo de los carbohidratos, la curva puede estar alterada (Trujillo 2007).

Se trabajó con ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) normal-glucémicas, macho de 80g en el primer ensayo a 300 g en el tercero ensayo, en las instalaciones de las Facultad de Estudios Superiores Iztacala U.N.A.M. Los procedimientos inherentes al manejo de los animales y su cuidado se basaron en la norma oficial mexicana NOM-062-ZOO-1999 de especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio.

Para la aplicación de la prueba de tolerancia a la glucosa las ratas fueron colocadas en grupos de 3 individuos, en 6 tratamientos (Metformina, solución salina, extracto etanólico de *L. edodes*, extracto acuoso de *L. edodes*, extracto etanólico de *P. ostreatus*, extracto acuoso de *P. ostreatus*), bajo condiciones de laboratorio a un temperatura de 22-24 °C, se realizaron 3 ensayos con diferencia de dos semanas cada uno.

Cuadro 4: Agrupación de los tratamientos para la curva de tolerancia a la glucosa

Ensayo	Metformina	Solución salina 0.9%	Acuoso <i>L. edodes</i>	Etanólico <i>L. edodes</i>	Acuoso <i>P. ostreatus</i>	Etanólico. <i>P. ostrea</i>
1	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi
2	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi
3	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi	3 indi

indi (individuos, unidad experimental, ratas)

Todas las administraciones de los extractos fueron suspendidas en soluciones salinas al 0.9%. Se utilizó metformina (37.6 mg/kg) (Flagg *et.al.* 2010). Los 6 tratamientos se administraron vía intra- peritoneal calculando la dosis en unción al peso, 1000 mg/ kg. (Mohammed *et al.* 2007)

Se tomaron 5 muestras sanguíneas para la glucosa a través de sangre obtenida de la vena caudal, realizando una pequeña incisión, la determinación de mg/dl de glucosa se realizó con un glucómetro (Accu- Check) la primera en tiempo 0 y enseguida se les administro una carga de glucosa de 3g /kg.(Figueroa M. *et al.* 2012).

A los tiempos 15, 30, 60 y 120 minutos se tomara el registro de glucosa plasmática en sangre.

Análisis estadístico

Los datos del crecimiento del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* en medio sólido y líquido se analizaron mediante un examen de varianza (ANOVA de un solo factor) y posteriormente una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un valor de $p < 0.05$ para establecer diferencia significativa.

Los datos para el tiempo 15 30 y 60 se analizaron individualmente mediante una prueba de varianza (ANOVA de un solo factor) y posteriormente con una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un valor de $p < 0.05$ para establecer diferencia significativa.

Los datos de la curva de tolerancia a la glucosa se analizaron mediante un examen de varianza (ANOVA por bloques) y posteriormente una prueba de comparaciones múltiples de Tukey con un valor de $p < 0.05$ para establecer diferencia significativa.

Para relacionar el contenido de carbohidratos totales con los resultados de la curva de tolerancia a la glucosa se realizó una prueba de regresión lineal simple y un análisis de correlación valor de $p < 0.05$ para establecer diferencia significativa.

Resultados y Discusión

Propagación de la cepa

La propagación de las cepas (*P. ostreatus* y *L. edodes*) en caja Petri con medio sólido papa dextrosa se incubaron en un lapso de 11 hasta 15 días dependiendo el tiempo que les tomó invadir por completo la caja Petri (100%) (Figura 5) a una temperatura promedio de 22°C, no se reportó ninguna contaminación durante el proceso de crecimiento lo cual proporcionó condiciones óptimas para el desarrollo del trabajo.

El aislamiento y crecimiento exitoso del micelio puro se debió a las condiciones nutricionales que les da el medio PDA como registro Suarez en 2010, ya que incluye todos los componentes; para que estos se desarrollen, el extracto de papa proporciona almidón, algo de lignina y otros minerales que ayudan a que los hongos crezcan e inhiban el crecimiento de las bacterias, la dextrosa por otra parte es la fuente de carbono principal para los hongos y el agar es adicionado como agente gelificante. (Recendiz 2015).



Figura 5: Invasión total de la cepa *L. edodes* y *P. ostreatus*

Se realizaron dos tratamientos con la finalidad de medir los efectos que tuvo directamente la concentración de dextrosa en el crecimiento de los hongos, (cuadro 5). El tiempo de crecimiento ha sido reportado de los 0 días de incubación hasta los 14 días para su invasión en caja (Villegas *et. al.* 2007), lo que concuerda con los resultados obtenidos, en el primer tratamiento. Sin embargo en el segundo tratamiento, que fue enriquecido con 8g de glucosa, mostró un crecimiento significativamente mayor que en los ensayos anteriores (según prueba de ANOVA de un solo factor y LSD). (Figura 6, cuadro 5). Donde se puede observar que el tiempo de crecimiento del micelio para ambas cepas se ha reducido en comparación con el otro tratamiento.

Cuadro 5 . Tiempo de invasión total del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* en medio solido medido en días

	Tratamiento 1 PDA 3 g dextrosa		Tratamiento 2 PDA 8 g dextrosa	
	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>
Promedio	15.1	14.3	12.11 *	11.3 *
S.D.	0.88	1.06	1.37 *	1.5 *

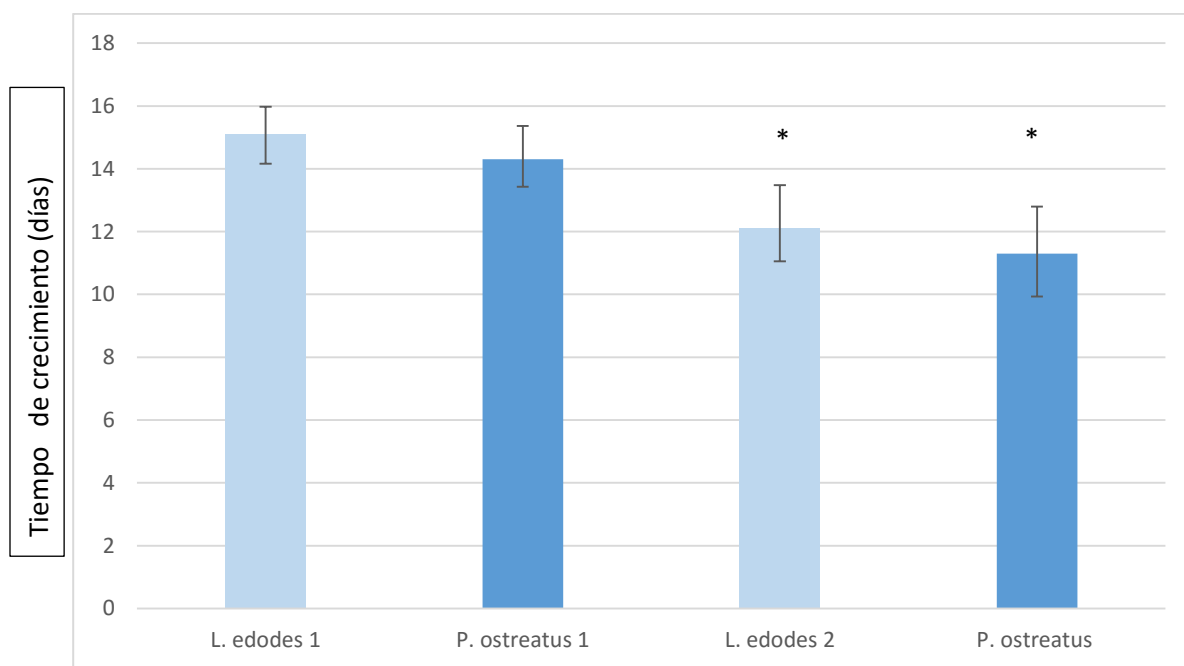


Figura 6: Tiempo de invasión total del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* en medio sólido en cajas Petri de 9 cm medido en días

Producción de micelio en medio líquido

Los medios líquidos no contienen agar y su composición además suele tener una fuente de carbono, sales minerales y, en algunas ocasiones, según las características del medio, factores de crecimiento, vitaminas, peptonas, etc. además son muy importantes para la realización de múltiples pruebas bioquímicas, como también para la realización de inóculos (Morales 2006). Se obtuvo el micelio de *P. ostreatus*, *L. edodes*, en medio líquido, el cual se adicionó con extracto seco de malta y dextrosa (figura 7), esto coincide con lo descrito por Rivera en 2010 quien señala que para el desarrollo del micelio se requieren fuentes externas de carbono: como glucosa, almidón, celulosa y lignina, además de algunos minerales y vitaminas como fósforo, hierro y timina que se encuentran presentes en la papa, sin embargo en comparación con otros medios de cultivo como el agar papa dextrosa este crecimiento suele ser más lento,

El tratamiento dos de *L. edodes*, y *P. ostreatus* se adicionó con el 8 g de dextrosa, 5 g más en comparación con el primer tratamiento, consiguiendo acortar los días de incubación de forma significativa según la prueba de (ANOVA con un solo factor y LSD) en el tiempo de invasión total del micelio en los frascos de *L. edodes* y *P. ostreatus* (cuadro 6, figura 8).

Durante las semanas en incubación del micelio, los factores físicos de crecimiento se mantuvieron a 22° C y sin incidencia de luz ya que la radiación luminosa tiene una función importante en el proceso de crecimiento del cuerpo fructífero, pero tiene un efecto inhibitorio en el desarrollo de micelio, estas condiciones caen dentro del rango reportado por García (2003) que va desde arriba de 10°C hasta 40°C, siendo la óptima alrededor de 23°C de temperatura.



Figura 7: Crecimiento micelio de *L. edodes* en medio líquido adicionado con extracto seco de malta y glucosa

Cuadro 6. Tiempo de invasión total del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* en medio líquido medido en días

	Medio líquido 3 g de dextrosa 5 g de malta		Medio líquido 8 g de dextrosa 5 g de malta	
	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>	<i>L. edodes</i>	<i>P. ostreatus</i>
Promedio de invasión total	65.8 días	55.7 días	52.1 días *	49.6 días *
S.D.	1.30	1.16	3.31*	1.43 *

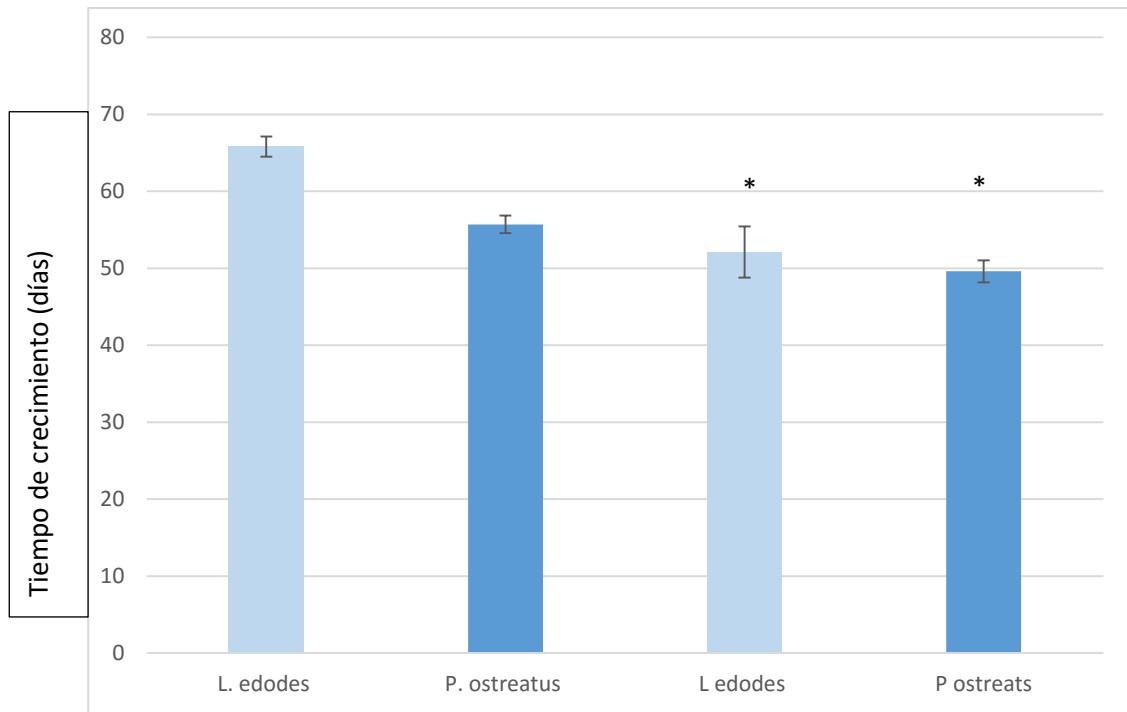


Figura 8: Tiempo de invasión total del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* en medio líquido en frascos de 600 ml medido en días

Deshidratación y secado del micelio

El micelio de *L. edodes* obtenido fue un total de 15939 g de peso húmedo y 414 g de peso seco, con una pérdida de agua promedio de 73.77% (cuadro 7) Mientras que los resultados obtenidos para el micelio de *P. ostreatus* fue de un total de 1770.9 g de peso húmedo y 60.9 g de peso seco, con una pérdida de agua promedio de 65.78 (cuadro 8). Cabe destacar que ambos tratamientos adicionados con dextrosa tanto para *L. edodes* como para *P. ostreatus* se obtuvo mayor peso seco.

Cuadro 7: Peso total, peso promedio peso seco y húmedo del micelio de *L. edodes*

Micelio <i>Lentinula edodes</i>				
Cultivo de micelio	Días de cultivo	Peso húmedo	Peso seco	Contenido de humedad %
20 frascos	66.35	49,3 g	12.9 g	73.52%
10 frascos + 5 g de dextros	51.6	60.7 g	15.6 g *	74.29%
Promedio		53.1 g	13.8 g	73.77%
Total peso		1593 g	414 g	

Cuadro 8: Peso total, peso promedio peso seco y húmedo del micelio de *P. ostreatus*

Micelio <i>Pleurotus ostreatus</i>				
Cultivo de micelio	Días de cultivo	Peso húmedo	Peso seco	Contenido de humedad %
20 frascos	55.6	56.85 g	19.65 g	65.08 %
10 frascos + 5 g de dextrosa	50.6.	63,4 g	20,8 g *	67.19 %
promedio		59,03 g	20,03 g	65.78%
total peso		1770.9 g	600.9 g	

El cultivo en medio líquido tiene dos factores fundamentales que influyen en el crecimiento del micelio; el primero es dado por la aireación, un factor ampliamente necesario, ya que influye en el crecimiento del micelio al favorecer el intercambio gaseoso de este. El otro factor de importancia es; que en los medios que se mantienen en reposo el micelio crece solamente en la superficie del recipiente, pero si el micelio es permanentemente agitado puede crecer en todo el volumen donde se encuentra el medio (Aguilar. 2007). Los resultados descritos muestran una similitud con los resultados reportados por Reséndiz en 2015 quien obtuvo un peso seco total de 41.2 g en el micelio de *L. edodes*, y además se muestra una marcada analogía entre el comportamiento de crecimiento de *L. edodes* y *P. ostreatus*

Obtención de los extractos etanólico y acuoso de *L. edodes*, *P. ostreatus* y rendimiento.

El cálculo del rendimiento consiste en relacionar la cantidad de extracto obtenido y la cantidad de micelio que alimentó al equipo Soxhlet (Badui 1997)

De cada extracto realizado en este estudio, se presentó un mayor rendimiento en los extractos etanólicos de *L. edodes* y *P. ostreatus*, (Cuadro 9), lo cual es consistente con los resultados obtenidos por Reséndiz en 2015.

Cuadro 9: Rendimiento de los extractos de micelio de los hongos *L. edodes* *P. ostreatus* por cada 3 gramos de micelio

Extracto	Peso inicial	Peso final	Rendimiento
Acuoso <i>L. edodes</i>	4 g	0.2448 mg ± 0.0012	6.12%
Etanolico <i>L. edodes</i>	4 g	0.4136 mg ± 0.0015	10.34%
Acuoso <i>P. ostreatus</i>	4 g	0.3372 mg ± 0.0009	8.43%
Etanolico <i>P. ostreatus</i>	4 g	0.4972 mg ± 0.0017	12.43%

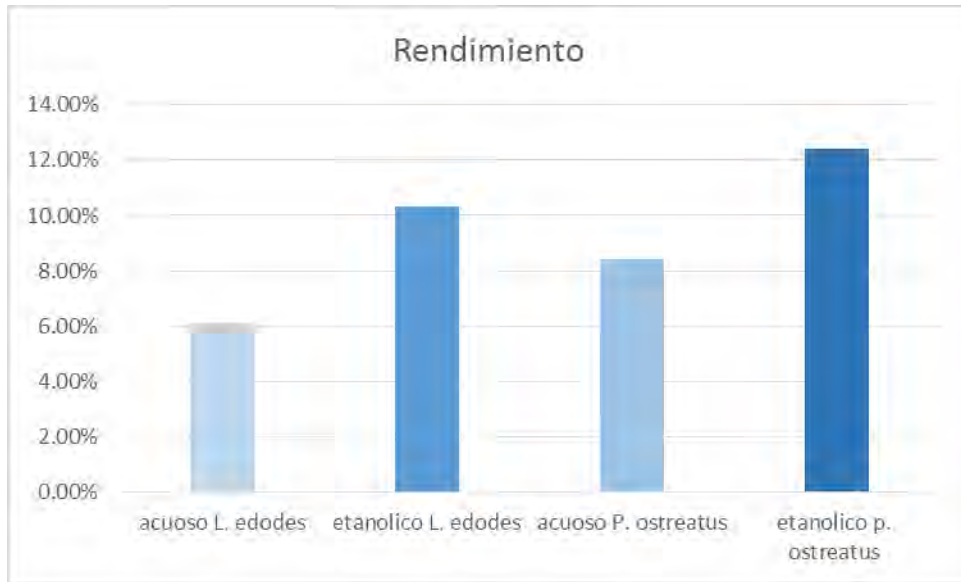


Figura 9 : comparación de rendimiento entre los extractos acuosos y etanólicos del micelio de los hongos *L. edodes* y *P. ostreatus*



Figura 10: Maceración del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus*



Figura 11- Extracción por Soxhlet

Cuantificación de carbohidratos por Espectrofotometría por el método de Dubois con el reactivo H₂SO₄ al 70%

Se elaboró una prueba espectrofotométrica en los extractos de *L. edodes*, *P. ostreatus*, con el fin de examinar las concentraciones de carbohidratos en cada uno de los extractos; ya que el micelio de los hongos posee entre un 70 y 83% de β - glucanos de los carbohidratos totales (Rojas en 2012), además se encontró que el contenido de β - glucanos es de 9.33 g / 100 g de peso seco en el estípite de *L. edodes*, (Rojas 2012)

Los β – glucanos como lo describe Monohar en 2002 son el principal principio activo al participar en la absorción de la glucosa, y muestra una acción inmunoestimuladora, antiviral y antimicrobiana (Rojas 2012) Esto coincide también con los resultados obtenidos por Reséndiz en 2015.

Como se muestra en las cuadros 10 y 11, los extractos acuosos presentan mayor concentración de carbohidratos en comparación con los etanólicos de *L. edodes* y *P. ostreatus* respectivamente, debido a la naturaleza del solvente utilizado; ya que como se sabe el agua es un solvente polar que atrae en mayor medida los carbohidratos, así mismo se encontró una mayor concentración de carbohidratos en los extractos acuosos de *L. edodes* que en *P. ostreatus*,

Cuadro 10: Curva de calibración Concentración de carbohidratos extracto etanólico

Extractos Acuoso		
	CONCENTRACIÓN (0.1g/1000ml)	ABSORBANCIA
TUBO1	0.2	0.2218
TUBO2	0.4	0.5043
TUBO3	0.6	0.9627
TUBO4	0.8	1.2532
TUBO5	1.0	1.711
<i>L.edodes</i>	0.456	0.63 ± 0.041
<i>P.ostreatus</i>	0.39	0.49 ± 0.024

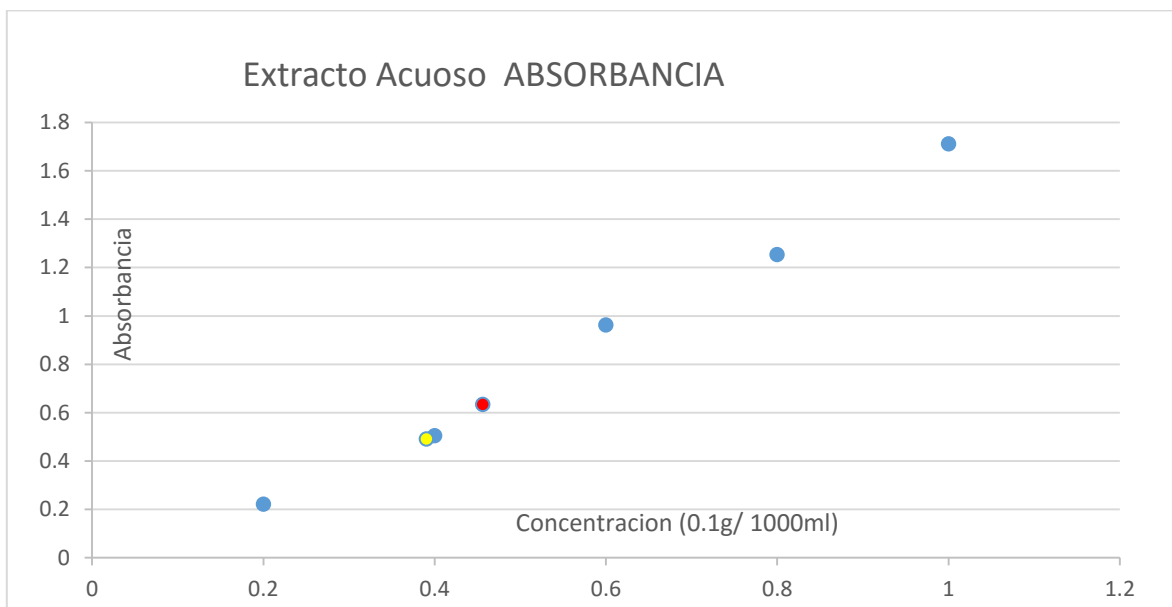


Figura 12: Grafica de concentración de carbohidratos medido por espectrofotometría por el método de Dubois con el reactivo H_2SO_4 al 70%

Extracto Acuoso
L.edodes
P.ostreatus

Cuadro11: Concentración de carbohidratos extracto acuoso

Extracto Etanólico		
	CONCENTRACIÓN (0.1g/1000ml)	ABSORBANCIA
TUBO 1	0.2	0.2147
TUBO 2	0.4	0.4836
TUBO 3	0.6	0.8871
TUBO 4	0.8	1.1954
TUBO 5	1.0	1.534
<i>L.edodes</i>	0.429	0.54 ± 0.004
<i>P.ostreatus</i>	0.361	0.43 ± 0.003

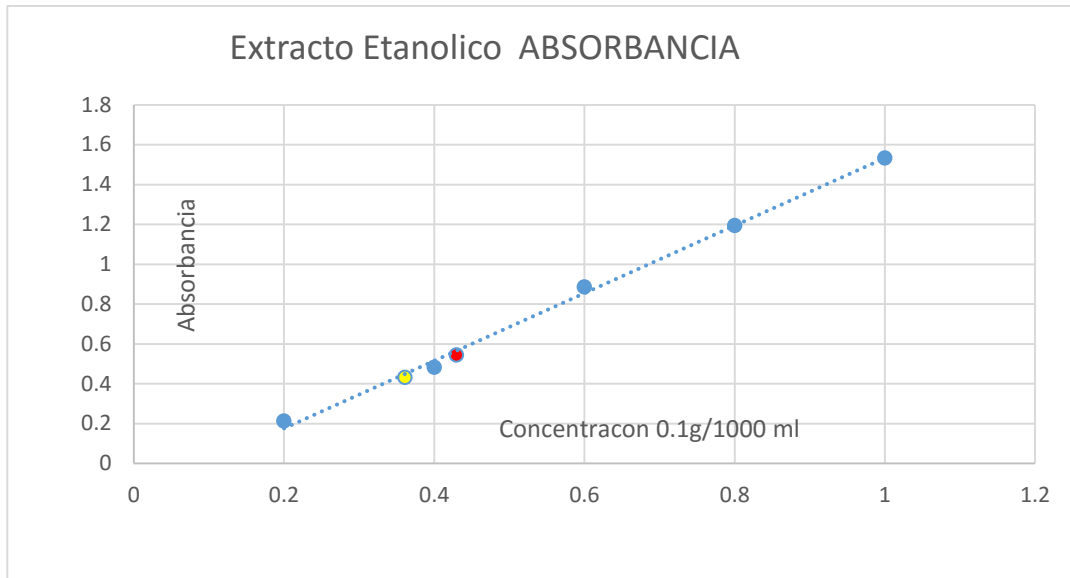


Figura 13 - Grafica de concentración de carbohidratos medidos por espectrofotometría por el método de Dubois con el reactivo H_2SO_4 al 70%

Extracto Etanolico
Ledodes
P.ostreatus

Prueba de tolerancia a la glucosa

Los resultados obtenidos en el primer ensayo de la curva de tolerancia a la glucosa en ratas se muestran en el cuadros 15 y las figuras 14 y 15 en donde se muestran los resultados de los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes*, *P. ostreatus*, metformina y solución salina al 0.9%, en relación al tiempo, y a las concentraciones de glucosa en sangre, expresadas mg/dl

Cuadro 15. Efecto de los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes* y *P. ostreatus* en las curvas de tolerancia a la glucosa. Se presenta la media y desviación estándar ($X \pm D.E$) de tres ensayos

Curva de tolerancia a la glucosa					
Tiempo	0	15	30	60	120
Metformina	78.78 \pm 3.38	129.44 \pm 5.83	115.67 \pm 4.72	96.33 \pm 7.66	77.22 \pm 3.23
Solucion salina	81.11 \pm 2.85	161.89 \pm 3.52	137.11 \pm 3.44	124.89 \pm 5.18	85.78 \pm 4.27
Etanólicos de <i>L. edodes</i>	80.67 \pm 4.77	128.22 \pm 2.77	120.11 \pm 3.86	108.56 \pm 3.91	84.67 \pm 5.68
Etanólicos de <i>P. ostreatus</i>	79.89 \pm 4.62	146.67 \pm 9.03	131.00 \pm 4.12	121.33 \pm 4.18	86.11 \pm 5.75
Acuosos de <i>L. edodes</i>	78.22 \pm 3.93	133.44 \pm 5.64	112.44 \pm 4.13	99.89 \pm 3.66	79.44 \pm 3.47
Acuosos de <i>P. ostreatus</i>	79.56 \pm 3.64	145.56 \pm 6.13	126.11 \pm 5.21	115.89 \pm 7.47	83.33 \pm 7.95

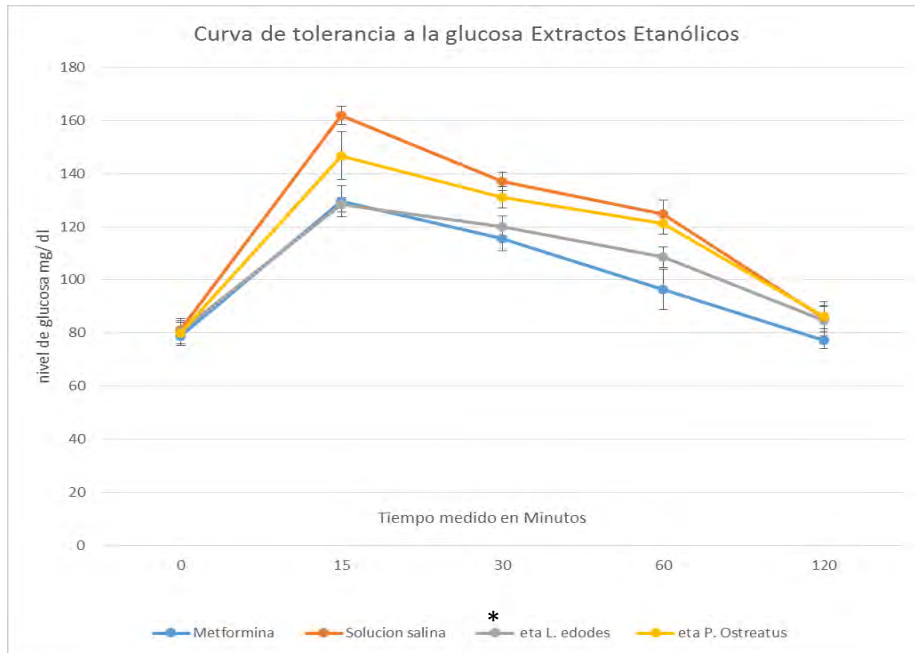


Figura 14: Efecto de los extractos etanólicos de *L. edodes* y *P. ostreatus* sobre las curvas de tolerancia a la glucosa. Se presenta la $X \pm$ de 3 ensayos

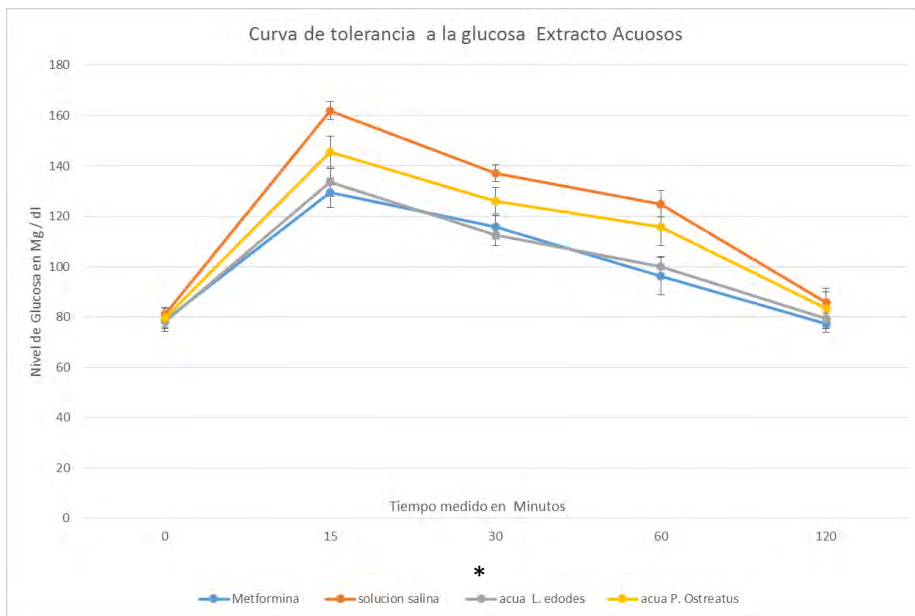


Figura 15 Efecto de los extractos acuoso de *L. edodes* y *P. ostreatus* sobre las curvas de tolerancia a la glucosa. Se presenta la $X \pm$ de 3 ensayos

Los resultados obtenidos en los ensayos de curva de tolerancia a la glucosa presentaron que los cuatro extractos *L. edodes* y *P. ostreatus*, metformina y solución salina, mostraron los valores más altos de concentración de glucosa plasmática a los 15 minutos después de la aplicación de la carga de glucosa, (Cuadro 15). Siendo el resultado del grupo con metformina el que registro los niveles estadísticamente más bajos

La metformina actúa principalmente reduciendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepática, pero también reduce la absorción de glucosa por parte del tracto gastrointestinal a la vez que incrementa la sensibilidad a la insulina por medio del aumento de la utilización de la glucosa por parte de tejidos periféricos (Flores *et. al.* 2004), lo que provoca un efecto antihiper glucémico que se pudo observar en las ratas tratadas con este fármaco a los 15 minutos (129,44 mg/dl),

Los extractos acuosos (133.44 mg/dl) y etanólicos de *L. edodes* (128.44 mg/dl) no mostraron diferencia significativa según el estadístico de ANOVA de un solo factor y la prueba de Turkey ($p > 0.05$) con las ratas tratadas con metformina. Estos resultados nos indican que los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes* tendrían un comportamiento análogo a los del fármaco metformina a los 15 minutos de la administración de la carga de glucosa, estos resultados concuerdan con los obtenidos por Byung *et.al.* en 2012 el cual señala que el hexopolimero de *L. edodes* además de tener un efecto hipoglucemiante en ratas Wistar con diabetes inducida, también provoca un aumento en la segregación de insulina, la cual sería un factor que podría causar el efecto antihiper glucemiante que se observa en este experimento, debido a que la insulina desencadena la abertura de los poros de los transportadores GLUT 2 permitiendo la introducción de la glucosa a la célula. (Díaz y Burgos. 2002). Además los resultados obtenidos en el presente trabajo coincidirían también con el efecto antihiper glucemiante descrito a su vez por Reséndiz en 2015 quien trabajo con los cuerpos fructíferos y el micelio de *L. edoes*, quien describe al extracto acuoso de micelio como un excelente regulador de la glicemia.

Los extractos acuosos y etanólicos de *P. ostreatus* a los 15 minutos, mostraron una concentración de glucosa plasmática de 145.56 mg/dl y 146.67 mg/dl respectivamente, y mostraron diferencias significativas con la concentración de glucosa en sangre de las ratas tratadas con solución salina, de acuerdo con el estadístico con ANOVA de un factor y a la prueba de LSD, ($p > 0.05$). Estos resultados coinciden con los reportados por Rushita *et.al.* en 2013 el cual estableció el efecto de *Pleurotus citrinoplileatus* como reductor de glucosa en sangre en ayunas, y además reportó un aumento significativo en el nivel de insulina en el grupo de ratas tratado. Sin embargo las ratas tratadas con los extractos etanólicos y acuosos de *P. ostreatus*, presentaron diferencias significativas en cuanto a la concentración de glucosa plasmática con respecto a los niveles de las ratas tratadas con metformina de acuerdo al análisis ANOVA de un factor ($p > 0.05$) a los 15 minutos de aplicada la carga e glucosa, esto podría indicar que existe un efecto anti-hiper glucemiante a pesar de que el efecto no es tan eficaz como el de la metformina y de los extractos acuosos y etanólicos de *L. edodes*,

El comportamiento de los resultados al minuto 30 de la prueba de tolerancia a la glucosa, señala que el fármaco metformina, (115.67 mg/dl) no muestra diferencia significativa según una prueba de ANOVA de un factor y la prueba de Turkey ($p>005$). Con los extractos etanólicos de *L. edodes* (120.11 mg/dl) y Acuosos de *L. edodes* (112.44mg/dl) sin embargo muestra diferencias significativas entre los extractos etanolicos y acuosos de *P. ostreatus*, (131.00 mg/dl) y (126.11 mg/dl). Estos resultados coinciden con el efecto anti-hiperglucemiante del extracto acuoso de *Ganoderma lucidum* descrito por Mohammed *et al*, en 2007 y los del maitake estudiado por Manohar en 2002, quienes designan a los β -glucanos como el principal mecanismo de acción, al reducir la absorción de glucosa disminuyendo el índice glicémico, mitigando un efecto de bolo de rápida absorción de glucosa.

Los resultados descritos por las ratas tratadas con solución salina y los niveles de glucosa mostrados entre de los extractos etanólicos de *P. ostreatus* (131.00 mg/dl) y acuosos de *P. ostreatus* (126.11 mg/dl) no mostraron diferencias significativas entre sí, al minuto 30

Al minuto 60 se puede apreciar que los niveles de glucosa plasmática se restablecieron a los niveles iniciales, a este tiempo se puede apreciar según una análisis ANOVA y una LSD de un solo factor ($p>005$). Que no existen diferencias significativas entre la metformina y el extracto acuoso de *L. edodes* así como la inexistencia de diferencias significativas entre las ratas tratadas únicamente con solución salina y las tratadas con el extracto etanólico de *P. ostreatus*.

Además se analizó el comportamiento de los extractos en las ratas tratadas en la regulación de la concentración de glucosa plasmática, en donde podemos observar de acuerdo al análisis ANOVA por bloques ($p>005$) que existen diferencias significativas entre los grupos tratados con extractos etanólico y acuoso de *L. edodes* en comparación con las ratas tratadas con solución salina, y en donde se puede concluir que las ratas tratadas con los extractos etanólico y acuoso de *L. edodes* fueron mejores regulando la concentración de glucosa plasmática en comparación a las ratas tratadas con los extractos de *P. ostreatus* y las ratas tratadas con solución salina. Además se observó que los extractos acuosos actuaron mejor en la regulación de la glucosa que los extractos etanólicos, y esto puede deberse a la naturaleza del solvente, que es más polar que el etanólico, este efecto regulatorio de la glicemia podría tener impactos a largo plazo como lo señala Rodriguez *et.al.* en 2009 quienes determinaron la actividad inmunomodulador de los basidiomicetos comestibles como *P. ostreatus*. Se ha establecido que tanto en la diabetes mellitus como en la obesidad aparece un estado inflamatorio crónico de bajo grado, como consecuencia del incremento en la masa del tejido adiposo y la producción de citosinas pro inflamatorias. En este proceso participan distintas células del sistema inmune. (Guzmán y López 2012) *L. edodes* podría ser un agente anti-Inflamatorio potencial como lo describe Guan y Yun en 2014 quienes probaron *L. edodes* como agente anti. Inflamatorio en modelos alérgicos de asma.

El presente trabajo también nos permitió correlacionar los resultados promedio de un análisis estadístico de regresión lineal simple ($p > 0.05$) entre la concentración de carbohidratos obtenidos con la prueba de espectrofotometría realizada previamente y el efecto de los extractos con el control de la glucemia en la curva de tolerancia a la glucosa, los cuales señalan que a mayor concentración de carbohidratos en los extractos, hay un efecto antihiper glucémico estadísticamente mayor, estos resultados coinciden con lo reportado por Handayani *et al.*, (2012). Quienes establecen la capacidad de los β -glucanos para controlar la obesidad, cuyas consecuencias están relacionadas directamente con la diabetes, y que como ya se ha establecido anteriormente el contenido de β -glucanos es de entre 70 y 83% de los carbohidratos totales de *L. edodes* y *P. ostreatus* (Rojas en 2012).

Conclusiones

- Los extractos etanólicos y acuosos de *L. edodes* presentan un efecto antihiperglucemiante significativo y análogo a la metformina.
- Los extractos etanólicos y acuosos de *P. ostreatus* disminuye significativamente los niveles de glicemia sanguínea
- El micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* puede considerarse como un coadyuvante para la disminución de glicemia en sangre.
- Existe una correlación entre el contenido de carbohidratos del micelio de *L. edodes* y *P. ostreatus* y el efecto antihiperglucémico
- La propagación de la cepa *L. edodes*, y *P. ostreatus*, es eficaz en medio sólido de Agar papa-dextrosa
- La producción de micelio en medio líquido de maltosa + glucosa favorece el crecimiento, de las cepas
- La adición de glucosa a los medios de cultivos tanto sólidos como líquidos acelera el crecimiento significativamente

Bibliografía

Aguillar D. L. y Valencia del T.G.. 2007. Producción del inocuo líquido para el cultivo de *Pleurotus* sp. Instituto Politécnico Nacional. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología.

Badui. S. 1997. Química de los alimentos.: Longman de México editores, S.A de C.V. México

Byung K. Y., Dong H. K., Sang C. J., Surajit D., Young S. C. I, Joon S. S., Sang C. L. y Hi H. S. 2002. Hypoglycemic effect of a *Lentinula edodes* exo-polymer produced from a submerged mycelial culture. Department of Biotechnology, 1Department of Food & Nutrition, Taegu University, Kyungsan, Kyungbuk 712-714, South Korea Hospital of Jaseng Oriental Medicine & Jaseng-Bio Corp., 635 Shinsa-dong, Kangnam-ku, Seoul.

Carvajal T. y Grace M. 2010. Evaluación de la producción del hongo *Pleurotus ostreatus* sobre cinco tipos de sustratos (tamo de trigo, tamo de cebada, tamo de vicia, tamo de avena y paja de támara), enriquecidos con tuza molida, afrecho de cebada y carbonato de calcio. Pontificia Universidad Católica del Ecuador. (Tesis).

De la Uña y Villamediana. 2006. Hongos Medicinales- Revista Micológico 17/4/06. página 31. Vol 23. N° 5

Díaz H. D. Y Burgos H. Luis C. 2002. ¿Cómo se transporta la glucosa a través de la membrana celular?. Iatreia / vol 15 No.3

Dubois, M.; Gilles, K. A.; Hamilton, J. K.; Rebers, P. A.; Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28: (3) pp 350-356

Escobedo de la P. J. Buitrón G. L. V., Ramírez M. J. C., Chavira M. R., Schargrotsky H. 2011. Diabetes en México; 79: pp 424- 431.

Fenglin L. Yiming Z. y Zhijian Z. 2011. Antihyperglycemic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on streptozotocin-induced diabetic mice. International Journal of Molecular Sciences:12, pp 6135-6145.

Figueroa M. C., Pérez I. H, Mejía R. 2012. Caracterización de un modelo de diabetes tipo 2 en ratas Wistar hembra. Revista MVZ Córdoba. Vol 18 (Supl 2013): pp 3699-3707.

Figlas D., Cuvetto N. 2006. Propiedades medicinales de *G. lucidum*. Laboratorio de Biotecnología de Hongos Comestibles y Medicinales Cerzos. Departamento de Agronomía Universidad de la Picia de Buenos Aires. (Tesis)

Flagg T., Enkvetchakul D., Koster J., Nichols C., 2010 Recent insights to energy sensing and myoproteccion. American physiological society. Physiological review. 90 pp 799-820

Flores J., Armijo J. Mediavilla A. 2004 Farmacología Humana 4 ta edición Eisevier. España p 396.

Gómez H. R., Díez E. J., Formiga F., Lafita T. J., Rodríguez M. L., González S., Enrique, M. E. y Sangrós J., 2012. Tratamiento de la diabetes tipo 2 en el paciente anciano. Med Clin (Barc).vol 10 pp 579- 591

Guang H. y Yun H. C. 2014. *Lentinus edodes* Allergen- Induced Airway hyperreponsiveness and inflmmation by Dowregulating Nuclear Factor-kappa B Activity in a Murine model of Allergic Asthma. KoreanJ. Phys Anthropol. Vol. 27, No 2 pp 79-90.

Guzmán G., G. Mata, D. Salmenes, C. Soto-Velazco y L. Guzmán-Dávalos. 1993. El Cultivo de hongos comestibles. Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. (Tesis).

Guzmán F, J.M., López B. S. 2012. Células de la inmunidad innata y adaptativa en la diabetes mellitus tipo 2 y obesidad. Gaceta Medica de México 148: 381-9.

Handayani D., Meyer B. J., Chen J., Tang P., Chi L. P., Hak K. K. C., Xu F. H. 2012. The comparison of the effect of oat and shiitake mushroom powder to prevent body weight gain in rats fed high fat diet. Food and Nutrition Sciences.Vol 3. Pp 1009- 1019.

Herrera T. y M. Ulloa. 1998. El Reino de los Hongos. Micología Básica y Aplicada. Segunda Edición, Fondo de Cultura Económica. México, D.F.pp 552.

Hernández Á. M., Gutiérrez J. P, Reynoso N. N. 2012. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. Salud Publica Mex 2013;55 (supl): S129-S136.

Lisson A. R. 1999, Glibenclamida en Diabetes Mellitus, Rev Farmacol Terap Lima 6 (1-2) Servicio de Endocrinología, Hospital Nacional E. Rebagliati Martinis, Instituto Peruano de Seguridad Social.

Margulis L. y K. V. Schwartz. 1985. Cinco reinos: Guía ilustrada de los Phyla de la vida en la tierra. Labor S. A. Barcelona, España.

Manohar V., Talpur N. A., Echard B.W., Lieberman S., y Preuss H. G. 2002. Effects of a water-solution extract of maitake mushroom on circulating glucose/insulin concentrations in KK mici. Diabetes Obes Metab; 4)19:43-8

Mohammed A., Adelaiye A. BAbubakar., M. S. y Abdurahman E. M. 2007. Effects of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on blood glucose levels of normoglycemic and alloxaninduced diabetic wistar rats. Journal of Medicinal Plants Research vol. 1(2) pp. 034-037.

Morales V. R. A. 2006. Medios de cultivo líquidos para el desarrollo de inóculos de hongos de pudrición blanca aplicables en biopulpaje kraft. Universidad de Chile Facultad de Ciencias Forestales Escuela de Ciencias Forestales Departamento de ingeniería de la Madera.

Oluba O. M., Chukwu O. E., Ojeh G. C e Idonije B. O. 2010. Evaluation of the hypoglycemic effect of aqueous extract of *Ganoderma lucidum* on STZ-induced diabetic wistar rats. *Annals of Biological Research*, 1 (3) : 41-49

Reséndiz A. N. E. 2015. Efecto de los extractos de *Lentinula edodes* (Berk) Pegler en la regulación de la glicemia. Universidad Nacional autónoma de México Facultad de Estudios Superiores Iztacala (Tesis).

Reyes R. M. P., Morales G. J. A., Madrigal S. E. O. 2009. Diabetes. Tratamiento nutricional *Med Int Mex* ;25(6):454-460

Rivera M. O. A. 2010. Estudio del Efecto de la adición del estipite de Shiitake (*Lentinula edodes* Berk. Pegler) y de un extracto rico en sus poli-sacaridos sobre las cualidades nutricionales del antiparásito. Programa de inter facultades Especialización y Tecnología de Alimentos. Bogotá DC.

Rodríguez M. C. M., Ramírez V. K. P., González P. N. C., Oliva F. S.L., Sánchez O. S. W. 2009. Determinación de la actividad inmunomoduladora de los basidiomicetos comestibles: *Cantharellus lateritius* Singer, *Armillariella polymyces* Laccaria *amethystina* Cooke, *Lactarius deliciosus* Gray y *Pleurotus ostreatus*. Universidad de san Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. (Tesis)

Rojas L. J. R. 2012 Estudio químico y de potencial antimicrobiano del estípite de shiitake (*Lentinula edodes*) y su factibilidad de empleo como ingrediente nutraceútico en la preparación de alimento aviar. Universidad Nacional de Colombia Facultad Ciencias, Departamento Química Bogotá D.C., Colombia. (Tesis).

Rushita S. , Vijayakumar M*, Noorlidah A. , Ameen Abdulla M. and Vikineswary S. 2013. effect of *pleurotus citrinopileatus* on blood glucose, insulin and catalase of streptozotocin-induced type 2 diabetes mellitus rats. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 23(6): 2013, Page: 1566-1571

Sanal T.S., Nair N. S., Adhikari P. 2011. Factors associated with poor control of type 2 diabetes mellitus: A systematic review and Meta-analysis. *Journal of Diabetology* 3:1

Shafiee Nick Reza, Reza P. S. M., Zokaei N., Ghorbani A. 2012 Effect of *Ganoderma lucidum* hydroalcoholic extract on insulin release in rat-isolated pancreatic islets *Avicenna Journal of Phytomedicine*

Suarez A. C. 2010. Obtención in vitro de micelio de hongos comestibles Shiitake (*Lentinula edodes*) y Orellanas (*Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*) a partir de aislamientos de cuerpos fructíferos para la producción de semilla Universidad Nacional de Colombia bogota D.C.

Ten B.S., Wang C.D., Zhang D., Wu J.S, Pan D., Pan L.F., Yang² H.J., Zhou P. 2012 Hypoglycemic effect and mechanism of a proteoglycan from *Ganoderma Lucidum* on streptozotocin-induced type 2 diabetic rats.

Velazquez M. O., Lara E. A., Tapia C. R. 2002, Metformina Síndrome Metabólico, Secretaria de Salud, paginas 3-13, 21-25.

Villegas, E. V., Pérez, A., y Arredondo, C. 2007. Evaluación del crecimiento de *Lentinula edodes* en medios de cultivos sólidos para la producción de micelio como inóculo. Revista Colombiana de Biotecnología, 9(2), 56–63.

Zarate H. M. 2012. Manual de Procedimientos Estandarizados para la Vigilancia Epidemiológica de la Diabetes Mellitus Tipo 2. Dirección General de Epidemiología, Secretaria Salud.