



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación de la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L; ensayo sub-crónico a 90 días en ratas Wistar.

T E S I S

Que para obtener el título de

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

Presenta

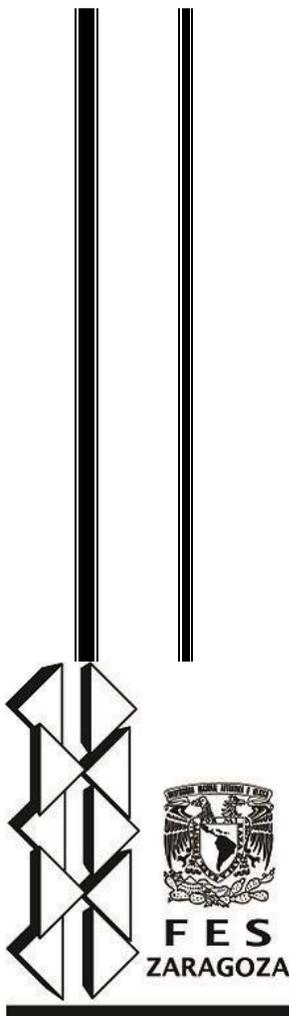
LUIS DANIEL NIEVES SÁNCHEZ

Director de tesis

Q. Carlos Salvador Valadez Sánchez

Asesor de tesis

Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez



Ciudad de México 2018



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.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México, que no solo me permitió ser parte de su comunidad, si no que me cobijo con el conocimiento que dentro y fuera de sus aulas imparte.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, mi segundo hogar, ya que dentro de sus instalaciones recibí la formación para concluir mi licenciatura.

A todos los profesores que no podre mencionar por ser demasiados pero que gracias a su dedicación con pasión y mano dura, me permitieron llevar lo mejor de cada uno de ellos para contribuir a ser el profesional en que me convertí.

Al Q. Carlos Salvador Valadez Sánchez, por brindarme parte de su tiempo y conocimiento así como de su apoyo, paciencia y confianza, pero sobre todo gracias por brindarme su amistad y consejo más allá de lo académico, le estoy infinitamente agradecido.

Al Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez, por permitirme formar parte en la realización de este proyecto, por su conocimiento compartido y su gran paciencia, pero sobre todo por su increíble amistad más allá de las aulas, le estaré agradecido siempre.

Al M. en C. Ángel García Sánchez, por su colaboración y apoyo brindado en la realización de este proyecto y por compartir un poco de su tiempo para engrandecer este trabajo con su sabios comentarios.

A la M. V. Z. Adriana Altamirano Bautista por las atenciones y facilidades brindadas durante la realización del proyecto en el bioterio de la FES Zaragoza.

Al Dr. Eloy Solano Camacho, por su valiosa contribución al proyecto en la clasificación botánica en el museo herbario de la FES Zaragoza.

A mis sinodales el M. en C. Gerardo Díaz Vázquez por sus enriquecedoras observaciones para mejorar el presente trabajo pero también por haberme recibido al llegar a esta facultad en un inicio y por ser el uno de los que me vera ir, gracias por su gran amistad. Así como a la Dra. Juana Rosado Pérez que enriqueció de igual manera el trabajo realizado con sus observaciones tan acertadas y oportunas.

Finalmente, agradezco al programa de apoyo a proyectos de investigación e innovación tecnológica (PAPIIT) de la UNAM por el apoyo recibido mediante el proyecto IA207417.

Dedicatorias

A mi papá, por su gran apoyo incondicional en todo sentido, por ser parte de este logro y porque por ti más que por mi estoy donde estoy, gracias por todo lo que has hecho por mí, mi completa admiración; nunca has mostrado una muestra de debilidad ni de cansancio por brindarnos todo lo que nos has dado, Te amo.

A mi mamá, tu mi motivación, que siempre estas a mi lado en cualquier adversidad, tu amor incondicional me hace seguir para que algún día pueda devolverte una pequeña parte de lo que tú has dado por mí, gracias por tanto. Te amo.

A mis hermanos y mi sobrino, que más que un logro mío es un logro de todos, los amo infinitamente.

A mis amigos, German, Rodrigo, Antonio, Oscar y Lupe que estuvieron durante todo ese tiempo en los buenos y malos momentos, que siendo más buenos que malos, me hicieron mi estancia en la FES y mi vida diaria más alegre, los quiero.

A Roció por abrirme las puertas de su casa, que en todo momento me hizo sentir que fue mi segundo hogar y mi segunda mamá, le estaré eternamente agradecido.

Al amor de mi vida, que a pesar que no está más a mi lado seguirá conmigo por el resto de mi vida, K.J.V.C.

INDICE

1. Introducción.....	6
2. Marco teórico.....	8
2.1 Antecedentes de la medicina tradicional.....	8
2.2 Farmacognosia.....	9
2.3 Toxicología.....	9
2.4 <i>Mangifera indica L.</i>	10
2.4.1 Usos del mango.....	11
2.4.2 Componentes de <i>Mangifera indica L.</i>	12
2.4.3 Toxicidad de <i>Mangifera indica L.</i>	12
2.4.4 Actividad Antiinflamatoria	13
2.4.5 Actividad antimicrobiana.....	15
2.4.6 Efecto hepatoprotector	16
2.4.7 Efecto antioxidante.....	17
2.4.8 Efecto inmunomodulador	19
2.4.9 Efecto antidiarreico.....	20
2.5. Actividad anticancerígena	21
3. Planteamiento del problema	23
4. Hipótesis	24
5. Objetivos.....	24
5.1 Objetivo general.....	24
5.2 Objetivos particulares	24
5.3 Objetivos secundarios.....	25
6. Material y métodos.....	26
6.1 Diseño del estudio.....	26
6.2 Extracto acuoso-etanólico	27
6.3 pruebas cuantitativas de azúcares.....	27
6.3.1. Azúcares reductores: Método volumétrico, empleando el reactivo de Fehling.....	27
6.3.2. Carbohidratos totales: Método volumétrico empleando el reactivo de Fehling.....	29
6.3.3. Sacarosa: Método refractométrico.....	29
6.4 Animales de experimentación.....	30

6.5 Ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 90 días en ratas Wistar .	30
6.6 Procedimientos experimentales	31
6.7 Análisis bioquímico y hematológico	32
6.8 Análisis estadístico	32
7. Consideraciones éticas	33
8. Resultados	34
8.1 Clasificación botánica de <i>Mangifera indica</i> L.....	34
8.2. Cuantificación de azúcares	34
8.3. Ensayo de toxicidad oral sub-crónico de dosis repetidas a 90 días en ratas Wistar.	35
8.3.1 Observaciones clínicas.....	35
8.3.2 Consumo de agua	35
8.3.3 Consumo de alimento	37
8.3.4 Peso corporal	38
8.3.5 Parámetros bioquímicos y hematológicos	40
8.3.5.1 Parámetros hematológicos	40
8.3.5.2 Parámetros bioquímicos.....	43
9. Discusión	47
10. Conclusiones	52
11. REFERENCIAS.....	53
12. Anexo 1	62

1. Introducción

La medicina tradicional es parte importante de la terapéutica en algunos países, entre ellos se encuentra México. Históricamente, las personas, principalmente de bajos recursos, la han utilizado para tratar enfermedades crónicas. En suma, la medicina tradicional es el conjunto de conocimientos y prácticas basados en las teorías y experiencias propias de diferentes culturas que han sido utilizadas para mantener la salud, prevenir, diagnosticar, mejorar o tratar enfermedades físicas y mentales.

Ejemplo del uso de la medicina tradicional es el árbol de mango (*Mangifera indica* L.), implementado comúnmente en preparaciones herbales para el tratamiento en los dolores de muelas y gastrointestinales, además ha demostrado poseer actividad antibacteriana siendo la base de uso medicinal. En el Sur de América, así como en otras partes del mundo, las cenizas de sus hojas son utilizadas para tratar quemaduras, escaldaduras, llagas, problemas respiratorios, antioxidante, antiinflamatorio, antibacteriano, antidiarreico, inmunoestimulador, hepatoprotector así como gastroprotector. El árbol de mango contiene un elevado número de componentes que se han logrado identificar a través de diferentes estudios; sustancias tales como, esteroides, flavonoides, azúcares reductores, antraquinona, taninos, flavonoides, glucósidos, además de que contiene una variedad de fitoquímicos tales como los pigmentos antioxidantes, carotenoides, polifenoles, omega-3 y los ácidos grasos poliinsaturados omega-6. También sus hojas tienen un contenido significativo de polifenoles, incluyendo xantonoides, mangiferina y ácido gálico. Estudios previos han demostrado que extractos de la

corteza de mango tienen un efecto anticancerígeno en varias líneas celulares de cáncer. Así mismo, se ha demostrado que el extracto de *Mangifera Indica L.* administrado en dosis múltiples provocó un aumento de concentraciones plasmáticas de la enzima cardíaca CK-MB y glóbulos blancos totales, así como cambios en la micro-arquitectura del corazón, lo que demuestra que el extracto de *Mangifera indica L.* administrado en dosis múltiples puede conducir a un efecto tóxico. Sin embargo, existe poca información sobre la seguridad del extracto, por tanto, el presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de Mango administrado oralmente en un ensayo subcrónico a 90 días en ratas Wistar.

2. Marco teórico

2.1 Antecedentes de la medicina tradicional

La medicina tradicional abarca una amplia diversidad de terapias y prácticas que varían entre países y regiones. En algunos países latinoamericanos, se denomina medicina alternativa o complementaria. El ser humano ha utilizado la medicina tradicional desde hace miles de años y con el paso de estos sus practicantes han contribuido enormemente a la salud humana ampliando su popularidad en todo el mundo. A partir de la década de los noventa se ha constatado un resurgimiento de su utilización en muchos países desarrollados y en desarrollo.¹

En los países subdesarrollados la mayor parte de las personas dependen de la atención médica a base de plantas. Aproximadamente, el 80% de la población mundial usa medicina herbaria para ciertos aspectos de sus necesidades sanitarias a través del uso de extractos de raíz, tallo, corteza, hojas, flores, frutos, semillas, madera y otras partes de plantas enteros, fragmentados o pulverizados; de las cuales se obtienen preparados herbarios.^{1,2}

En México, a lo largo de la historia, las plantas medicinales han constituido uno de los principales recursos terapéuticos tanto en el medio rural como en el suburbano donde los servicios de atención médica son escasos, ya que representa una opción importante de respuesta ante las necesidades de atención a la salud a pesar de su presencia subordinada en los sistemas oficiales de salud y de la situación de ilegalidad que comúnmente guardan. Pero a pesar de los dilemas en los que se encuentra, existen organizaciones que la han reconocido como una

opción viable con ciertas reservas, entre ellas la Organización Mundial de la Salud (OMS).^{3, 4}

2.2 Farmacognosia

En la actualidad, el estudio sistemático de sustancias naturales es abordado por la farmacognosia, ya que se enfoca particularmente al estudio de los principios activos de origen vegetal, animal, mineral, así como de los derivados que pudieran tener una aplicación terapéutica, comercial o industrial. Su campo de estudio abarca desde su cultivo hasta su comercialización y distribución, identificando y evaluando los componentes químicos de origen natural; proporcionando elementos necesarios para determinar su actividad farmacológica para así ayudar a mejorar la salud y el bienestar del ser humano y otros animales. La farmacognosia no sólo se enfoca al estudio de sustancias con efectos terapéuticos sino también de moléculas que sirvan como modelo estructural para la síntesis de nuevos compuestos para obtener sustancias activas como hormonas esteroides, anestésicos locales y antibióticos; para mejorar la salud y el bienestar del ser humano.⁵

2.3 Toxicología

A lo largo de la historia, el hombre ha logrado adquirir conocimiento de un gran número de sustancias de origen animal, vegetal y mineral a través del ensayo-error, las cuales pueden o no ser perjudiciales. Estas sustancias, se emplearon para distintos fines, que van desde la caza hasta su uso terapéutico; siendo las de mayor uso e importancia las de origen vegetal, pero no es hasta el siglo XV que encontramos una aproximación científica en cuanto a los usos y composición de

estas. En los siglos posteriores se fue desarrollando el conocimiento a través de todos los acontecimientos y experiencias del hombre que ha desembocado en la formulación de un concepto de lo que es la toxicología, por lo que se puede definir que la toxicología es la ciencia que se ocupa de los efectos adversos a la salud causados por agentes químicos, físicos o biológicos en los organismos vivos.⁶

2.4 *Mangifera indica L.*

La popularidad del mango en México se debe no solo por sus propiedades farmacológicas sino también por su sabor agradable y dulce, tiene una alta demanda que va desde el uso tradicional hasta el de ser un alimento altamente nutritivo. El mango es originario de las Indias Orientales, norte de India, habita en climas cálido y semicálido desde los 0 hasta los 2600 metros sobre el nivel del mar. Es cultivado en sitios con vegetación circundante de bosques tropicales caducifolios, subcaducifolio, perennifolio, así como en bosque mesófilo de montaña. El árbol de *Mangifera indica L.* es conocido también con varios sinónimos entre los cuales el más común es Mango criollo; entre sus características principales podemos decir que es un árbol de hasta 20 m de altura, con el tronco grueso compuesto por follaje denso y extendido. Tiene las hojas de 10 a 20 cm de largo, de color verde oscuro o verde pálido sin pelos. Las flores son verde-blancas o amarillentas, agrupadas en racimos muy grandes. Los frutos cuelgan en racimos carnosos de superficie lisa, jugosos de sabor dulce, olor agradable, la cáscara es delgada verdosa o amarillenta, la semilla envuelta en una cáscara tipo hueso.⁷

El mango, es uno de los frutos más populares altamente favorecidos. Se informó que la producción mundial de mango fue de 43.3 millones de toneladas métricas en 2013, previa al banano, manzana, uva y naranja. Hay miles de cultivos de mango en todo el mundo; estas variedades varían en su color de fruta, tamaño, forma, sabor, gusto, período de maduración.⁸

Las exportaciones de mango cultivado en México aumentaron en 46% durante el primer bimestre del año 2017, en comparación con el periodo del 2016, El mango se produce en 23 entidades del país, de las cuales Guerrero, Sinaloa, Nayarit, Chiapas y Oaxaca son las más importantes, ya que aportan el 74.1% de la producción nacional. Debido a la gran variedad de climas en México, puede encontrarse en una gran variedad de estados, que da como resultado que nuestro país ocupe el primer lugar a nivel mundial como exportador de mango.^{9, 10}

2.4.1 Usos del mango

El uso del mango es variado en diferentes partes del mundo, que va desde un simple alimento hasta para el tratamiento de algunas enfermedades y padecimientos; en varias partes de la república mexicana se ocupa para tratar el asma y algunas otras enfermedades respiratorias, así como en padecimientos del aparato digestivo o antiparasitario. Es recomendado contra la diarrea o diarreas crónicas en el Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana, por sus propiedades astringentes y para algunos problemas ginecobstétricos. Se utiliza en cocimiento, de manera externa o local, para aplicar en diversas lesiones como: heridas, piquetes de animales ponzoñosos, estomatitis o escoriaciones de la boca y llagas. También se usa como analgésico en el dolor de cabeza y el dolor de la

caja corporal causado por algún golpe interno, para tratar la fiebre, así como para controlar el colesterol.⁷

2.4.2 Componentes de *Mangifera indica L.*

Los principios activos que contiene la *Mangifera indica L.* son poco conocidos por las personas que consumen este tipo de extracto, entre ellos encontramos componentes que brindan la actividad terapéutica y que varían de acuerdo con el método de extracción que se utilice para su obtención como se muestran en el cuadro 1.¹¹

Cuadro 1. Detección fitoquímica de extractos de hexano, acetato de etilo y metanol de *Mangifera indica L.*¹¹

Constituyentes fitoquímicos	Resultados		
	Extracto/hexano	Extracto/acetato de etilo	extracto/metanol
Saponinas	-	-	+
Antraquinonas	-	+	-
Esteroides	+	-	+
Taninos	-	+	+
Flavonoides	+	-	+
Azucares reductores	+	+	+
Glucósidos cardiacos	+	-	+
Alcaloides	-	-	-

+ = Presente; - = ausente

2.4.3 Toxicidad de *Mangifera indica L.*

Estudios previos demuestran que el uso de extracto de la corteza de *Mangifera indica L.* es seguro al ser administrado en grupos de ratas Sprangle-Dawley y ratones OF-1, de manera oral en la dosis límite de 2000 mg/kg y de forma tópica aguda, demostrando que no produce efectos adversos o daño a nivel histopatológico y con una irritación mínima, comprobando su baja toxicidad.¹²

Así mismo, se realizó un estudio de toxicidad oral subcrónico de un extracto metanólico de la hoja de *Mangifera indica L.* en conejos chinchilla, y mostró que a una dosis mayor o igual a 1000 mg/kg provoca cambios en la microarquitectura del corazón, provocando una disminución en el peso del corazón y un aumento significativo en la concentración de suero de la creatina cinasa (CK) y el total de glóbulos blancos (WBC), mientras que en una dosis menores a 1000 mg/kg no provoca cambio alguno o afectos adversos en los animales de experimentación.¹³

2.4.4 Actividad Antiinflamatoria

En ratas Wistar, el extracto acuoso de *Mangifera indica L.* demostró inhibir eficazmente las sPLA2 (enzimas que hidrolizan los ácidos grasos de membrana llevando a la producción de derivados del ácido araquidónico, siendo una sustancia que participa en la respuesta inflamatoria), las sPLA2 se aislaron y purificaron de la cobra india de anteojos para su posterior uso. Además esta proteína se utilizó para evaluar el potencial antiinflamatorio de un extracto acuoso de *Mangifera indica L.* El resultado muestra que el grado de inhibición era >95% a 40 µg/mL de extracto utilizado.¹⁴

En ratas Wistar macho, se comprobó que el extracto de *Mangifera indica L.* tiene actividad antiinflamatoria, al administrar extracto a diferentes concentraciones, la inflamación aguda se indujo con una inyección sub-plantar de solución de carragenina en la pata trasera derecha de las ratas demostró que el extracto acuoso de *Mangifera indica L.* con dosis que van de 50 a 200 mg/kg, produjo una inhibición dosis-dependiente de la inflamación aguda en comparación con los controles. El porcentaje de inhibición de formación del edema al administrar una

dosis de 200mg/kg fue similar a la provocada por el ácido acetilsalicílico (100 mg/kg, por vía oral).¹⁵

En un estudio realizado *in vitro* e *in vivo* se comprobó el efecto antiinflamatorio del extracto de *Mangifera indica* L, llevado a cabo en líneas celulares de adenocarcinoma miofibroblástico, HT-29 de colon CCD-18Co humano y ratas Sprague-Dawley. En el estudio *in vitro* e *in vivo* se trataron con lipopolisacáridos (LPS) extraídos del mango los cuales se administraron a través de bebidas para posteriormente exponer los dos modelos a sulfato sódico de dextrano (DSS). El extracto de mango disminuyó los niveles de ARNm de NF-κB (mediador molecular en el proceso inflamatorio) y óxido nítrico sintasa (iNOS), la bebida de mango disminuyó las puntuaciones inflamatorias, los polifenoles de mango redujeron la respuesta inflamatoria asociada con la colitis *in vitro* e *in vivo*, a través de la modulación de la vía mTOR.¹⁶

Asimismo, otro ensayo realizado en ratas Wistar macho y ratones suizos; en el que se evaluó el edema provocado y la actividad mieloperoxidasa (MPO) tras la administración de carragenina en ambos grupos; posteriormente se les trató con dos aceites esenciales extraídos de las hojas de *Mangifera indica* L. (Oil1) y (Oil2) de manera oral a diferentes concentraciones para determinar si los aceites tenían actividad antiinflamatoria. A dosis orales de 100 y 300 mg/kg, los aceites esenciales redujeron significativamente la formación de edema, así como el aumento en la actividad de MPO inducida por carragenina en la pata de rata, para una dosis de 300 mg/kg Oil1, 62 ± 8% de inhibición del edema con una inhibición del edema de 51 ± 7% a una dosis de 100 mg/kg, la inhibición fue de 54 ± 9% para

Oil1 y $37 \pm 7\%$ para Oil2. Oil1 y Oil2 redujeron significativamente la actividad de MPO a dosis de 100 mg/kg (47 ± 5 y $23 \pm 8\%$, respectivamente) y 300 mg/kg ($50 \pm 9\%$ y $31 \pm 7\%$, respectivamente).¹⁷

2.4.5 Actividad antimicrobiana

El extracto etanólico de *Mangifera indica* L. demostró tener actividad antimicrobiana, la cual evaluó la concentración inhibitoria mínima (MIC) y la concentración bactericida/fungicida mínimo (MBC/MFC) en comparación con diferentes enjuagues bucales basados en povidona yodo. Los microorganismos utilizados en este estudio fueron *E. faecalis*, *S. aureus*, *S. mutans*, *E. coli* y *C. albicans in vitro*, sobre fibroblastos gingivales humanos y líneas de células de fibroblastos de pulmón de hámster chino (V79). El extracto de *Mangifera indica* L. produjo una mayor zona de inhibición frente a los patógenos de prueba. La CIM de la hoja de mango varió de 39.06 $\mu\text{g/mL}$ a 1250 $\mu\text{g/mL}$ y se observó MBC/MFC entre 78.12 $\mu\text{g/mL}$ y 2500 $\mu\text{g/mL}$. El extracto etanólico de mango mostro actividad antimicrobiana en todos los microorganismos de prueba.¹⁸

En otro estudio, se evaluaron dos extractos en distintos disolventes (metanol y n-hexano) de la corteza del tallo de *Mangifera indica* L logrando identificar a través de cromatografía en capa fina y columna, IR y GC-MS (espectroscopia cromatografía-infrarroja y cromatógrafo de gases) la presencia de fitoconstituyentes tales como triterpenoides, flavonoides y taninos; con ayuda de un bioensayo antimicrobiano in vitro, utilizando cepas de organismos patógenos tales como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Salmonella typhi* y tetraciclina como patrón positivo, se logró

mostrar una actividad antibacteriana prominente y un halo de inhibición de 16 mm contra *P. aeruginosa*. La concentración mínima de inhibición (MIC) del extracto hexano frente a la concentración variaban entre 1.25 mg/mL a 2.50 mg/mL mientras que la del extracto de metanol osciló entre 3.26 mg/mL y 4.88 mg/L. La tetraciclina estándar exhibía valores de MIC que variaban entre 0.013 mg/mL a 0.50 mg/mL comprobando que ambos extractos exhiben actividad antimicrobiana.¹⁹

2.4.6 Efecto hepatoprotector

Así mismo, la función hepatoprotectora del extracto de *Mangifera indica L.* se demostró al administrar a grupos de ratas una dieta con un alto contenido en grasas y posteriormente polvo de fruta de mango de manera oral durante diez semanas. Al término del estudio se hizo la cuantificación hepática de triglicéridos, así como los respectivos cortes histológicos en comparación con los controles. Se comprobó los efectos del polvo de mango sobre los parámetros hepáticos; hallando que el polvo de mango ejerce efectos hepatoprotectores en la acumulación de lípidos inducida por una dieta rica en grasas en ratones.²⁰

Por otro lado, en un estudio realizado se logró identificar y aislar polisacáridos contenidos en la pulpa del mango y tras ser administrado en un grupo de ratas Wistar demostró tener un efecto hepatoprotector después de la administración de fármacos con efectos secundarios que impactan directamente sobre el hígado como la ciclofosfamida (CP). La CP causa cambios en la microarquitectura del hígado, pero tras la administración oral de extracto mejoraron la arquitectura hepática. La administración del extracto de polisacáridos mostró tener efecto

protector contra la disfunción hepática inducida por la CP a través de la disminución de las actividades de las enzimas AST (aspartato aminotransferasa) y ALT (alanina aminotransferasa) y el aumento de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina (ALP), mostrando su potencial para mantener el estado funcional normal del hígado, además de traer de vuelta el nivel de albúmina cerca de los niveles normales.²¹

En contraste, el extracto de las hojas de mango ha mostrado poseer capacidad hepatoprotectora frente a sustancias tóxicas como el tetracloruro de carbono (CCL₄) en ratas Wistar. La administración a corto plazo de CCL₄ causó elevaciones en las actividades de guanosin-trifosfato (GPT), ALT, ALP, proteínas totales, colesterol total, LDL y triglicéridos, el valor de HDL disminuyó. Tras la administración del extracto de mango los valores de LDL y triglicéridos disminuyeron. El HDL aumentó y los marcadores hepáticos, así como el perfil lipídico mejoraron, mientras que la toxicidad inducida por CCl₄ disminuyó drásticamente. Las ratas que recibieron CCl₄ mostraron un hígado con degeneración y lesiones. Por otro lado, las ratas que reciben mango junto con CCl₄ tienen un papel modulador contra toxicidad de CCl₄.²²

2.4.7 Efecto antioxidante

La actividad antioxidante de las hojas de mango se debe a que contiene una gran cantidad de fenoles y flavonoides totales. Esta composición fitoquímica genera un poder de reducción elevado. Estos datos sugieren que todos ellos podrían ser utilizados potencialmente como antioxidantes naturales para aliviar la oxidación, estrés hasta algún daño celular.²²

El extracto de las hojas de *Mangifera indica* L. demostró tener actividad reno-moduladora frente al daño renal inducido por CCl₄ utilizando como modelos ratas Wistar y como agente modulador de referencia ácido ascórbico; al concluir el estudio se realizaron las respectivas pruebas para analizar el daño renal. Se comprobó que el extracto de mango posee moléculas con propiedades antioxidantes atribuidas a componentes como flavonoides y otros polifenoles; las propiedades antioxidantes de esta planta son responsables de las actividades reno-moduladoras. Con base en los resultados obtenidos en este estudio, puede declarar que la *Mangifera indica* L. tiene el potencial de prevenir daño renal reverso.²³

Además, compuestos identificados en el extracto de *Mangifera indica* L. como mangiferina, ácido gálico, galato de metilo y penta-O-galioil-glucósido representados en la figura 1, fueron utilizados en ensayos *in vitro*, donde se evaluó la actividad de eliminación de radicales libres utilizando un ensayo de hipoxantina/xantina oxidasa que permitieran analizar su capacidad antioxidante de las moléculas identificadas. Las anteriores moléculas comparadas con clásicos antioxidantes (ácido ascórbico y Trolox) *in vivo* e *in vitro*, El penta-O-galioil-glucósido demostró tener la mayor capacidad antioxidante en el ensayo, la mangiferina también cuenta con una actividad excepcionalmente alta en todos los sistemas de comparación con las demás sustancias y se encuentra en mayor proporción en la corteza y las hojas jóvenes.²⁴

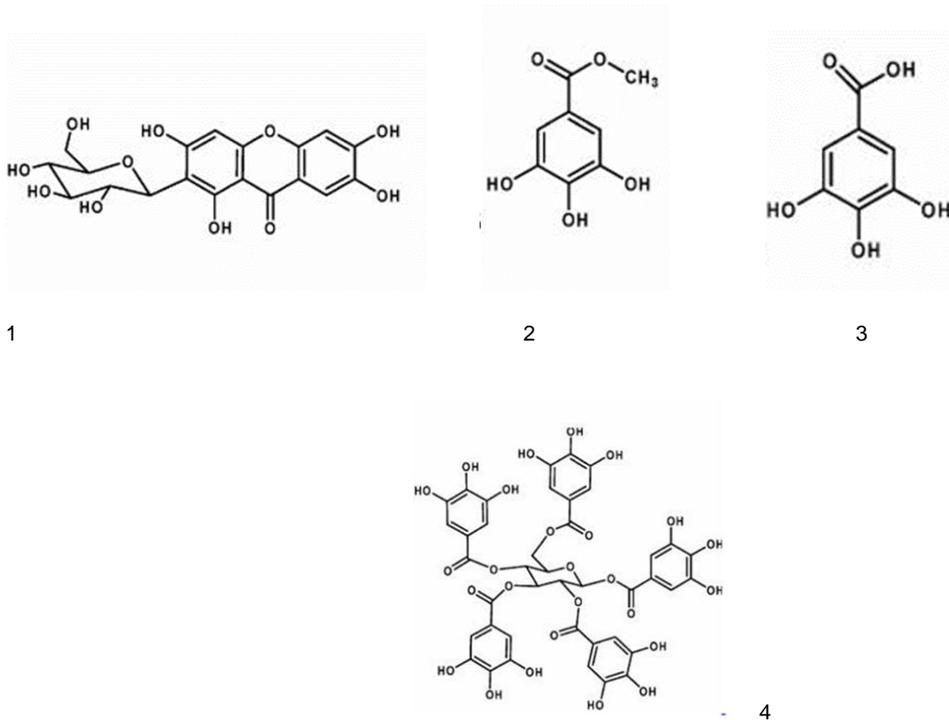


Figura 1. Estructuras de los compuestos fenólicos purificados a partir del extracto de *Mangifera indica L.*: 1, mangiferina; 2, ácido gálico/éster de galato de metilo; 3, ácido gálico; 4, penta-O-galioil-glucósido.²⁴

2.4.8 Efecto inmunomodulador

Un estudio demuestra la capacidad inmunomoduladora del extracto de *Mangifera Indica L.* como marca comercial llamado Vimang®, en el cual se comprobó la actividad farmacológica en un modelo experimental de toxocariasis; en el estudio se provocó una infección por nematodos (*Toxocara canis*), a un grupo de ratones BALB/c; La infección por *T. canis* indujo una eosinofilia significativa en la sangre (más de 15 veces mayor) en comparación con los controles. El tratamiento con el extracto de mango Vimang® administrado a los ratones infectados previamente con *T. canis* inhibió el aumento de eosinófilos en un 50%, mientras que los ratones infectados con *T. canis* junto con Vimang® disminuyeron eosinófilos en un 76%.

Además, afectó la generación de eosinófilos dependiente de IL-5; apoyando el uso potencial de Vimang® como fármaco terapéutico alternativo en la inflamación eosinofílica, como los inducidos por nematodos y enfermedades alérgicas.²⁵

Así mismo, un estudio realizado en ratones albinos, en el que se evaluó la actividad inmuno-moduladora del extracto alcohólico de la corteza de *Mangifera indica L.* al administrar ciclofosfamida, dio lugar a una disminución significativa en los anticuerpos humorales en comparación con los animales del grupo control. La administración del extracto y ciclofosfamida exhibieron diferencias en los parámetros de los anticuerpos humorales (HA) aumentándolos de manera significativa, actuando como un potente modificador biológico, se ha informado una dosis de estimulación dependiente de la proliferación de timocitos y linfocitos esplénicos después de 48 h de exposición a mangiferina. Por lo tanto, es evidente que el efecto inmunoestimulante producido por el extracto puede deberse a la mediada por anticuerpos y la activación humoral de los linfocitos T y B. Por lo tanto, el estudio concluyó que la corteza *Mangifera indica L.* en extracto alcohólico tiene propiedades inmuno-estimulantes.²⁶

2.4.9 Efecto antidiarreico

La actividad antidiarreica del extracto etanólico de *Mangifera indica L.* se pudo evaluar a través de la administración de un diarreico (aceite de ricino) y antidiarreicos de referencia (clorhidrato de loperamida y sulfato de atropina) en comparación con el extracto de *Mangifera indica L.* El extracto mostró una disminución en los parámetros fecales inhibiéndola tasa de defecación, y la

actividad antidiarreica que podría haber sido conferido por los flavonoides, saponinas, alcaloides, así como componentes fenólicos presentes en el extracto.²⁷

2.5. Actividad anticancerígena

En estudios realizados en líneas celulares de cáncer humano; carcinoma ductal (BT474, ATCC HTB20), carcinoma broncogénico (Chago K-1, ATCC HTB - 168TB), hepatoblastoma hepático (Hep - G2, ATCC HB8065), carcinoma gástrico (Kato-III, ATCC HTB103), y adenocarcinoma de colon (SW 620, ATCC CCL227), el extracto de hoja de mango, a una concentración de 200 µg/mL, mostró citotoxicidad todas las líneas celulares de cáncer probadas. Además, que la mangiferina es una xantona natural que fue extraída del mango demostrando que es uno de los compuestos responsables que inhibe líneas celulares de cáncer.²⁸

Así mismo, se probó nuevamente que el extracto metanólico de la pulpa de *Mangifera indica L.* contiene polifenoles que pueden inhibir la proliferación del cáncer de mama DCIS mediante la regulación positiva de la AMPK y la regulación la vía AKT/mTOR. Los animales de estudio fueron oralmente tratados con los polifenoles extraídos del mango, mostrando que había reducido significativamente los volúmenes de tumores a partir de la semana 3. La disminución del volumen fue analizada como resultado de una regulación negativa de mTOR, que es un regulador clave de la proliferación de células cancerígenas de mama.²⁹

De igual manera, un estudio realizado en la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, demostró que tiene efecto anticancerígeno, en el que se demuestra que

el extracto acuoso-etanólico de la corteza del árbol muestra tener actividad antiproliferativa y citotóxica en células de cáncer cérvico-uterino HeLa.³⁰

Los bioactivos que contiene el extracto etanólico de *Mangifera indica L.* probablemente responsables de los efectos tóxicos observados en células de cáncer de mama MCF-7 y MDA-MB muestra que el extracto tiene un efecto citotóxico en estas líneas celulares de una manera dependiente de la dosis. Los resultados mostraron la citotoxicidad inducida por el extracto en células MDA-MB-231 y células MCF-7 con valores IC_{50} de 30 y 15 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente. El extracto mostró toxicidad significativa hacia ambas líneas celulares, con baja toxicidad para células normales del seno.³¹

Sin embargo, cada una de las evidencias antes mencionadas que comprueban las propiedades que brinda la *Mangifera Indica L.* no responden de manera directa si el extracto es seguro al administrarse de manera continua, de ahí la importancia del presente trabajo de investigación.

3. Planteamiento del problema

En México alrededor de 4,000 especies de plantas con flores (aproximadamente 15% de la flora total) tienen atributos medicinales, sin embargo, no todos los componentes activos que contienen cada una de estas tiene la validación química, farmacológica y biomédica de los principios activos que contienen, se han llevado a cabo sólo en 5% de estas especies. Los antiguos pobladores de nuestro territorio desarrollaron una de las herbolarias más complejas del mundo, debido a la riqueza cultural y étnica que alcanzaron; así mismo, desde tiempos prehispánicos diferentes grupos étnicos han usado plantas con fines medicinales no solo en México sino a nivel mundial.

En países subdesarrollados, el uso de medicina alternativa se debe a que el costo económico de los medicamentos es más elevado en comparación con un remedio natural que podría brindar el mismo efecto terapéutico. La población en México consume remedios naturales ya sea por su arraigo al conocimiento empírico o por su preferencia por lo que para ellos representa una fuente natural más directa de beneficios en la prevención y tratamiento de enfermedades.

Los principios activos y herbolaria junto a la gran variedad de condiciones ambientales tales como el clima, la época del año, el tipo de suelo, la humedad así como muchos otros factores, en comparación con la de otros países influyen directamente en su concentración y calidad. La ausencia de datos de toxicidad no necesariamente indica que carezcan de efectos indeseables, tal es el caso de la *Mangifera indica* L. ya que esta planta cuenta con un número amplio de componentes activos que brindan el efecto terapéutico en enfermedades y

padecimientos tales como su actividad antimicrobiana, antiparasitaria, antiinflamatoria, antioxidante, así como efectos inmunomoduladores, hepatoprotectores y anticancerígenos. Dado que no existen estudios que evalúen la seguridad del extracto de *M. Indica L.* tras su administración sub-crónica, este trabajo de investigación tiene como propósito evaluar la seguridad del extracto al ser administrado de manera continua por un periodo de 90 días.

4. Hipótesis

De acuerdo con la evidencia previa sobre las propiedades farmacológicas de la *Mangifera indica L.* la administración del extracto acuoso-etanólico de la corteza no será tóxico en ratas Wistar administradas durante 90 días.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general

Evaluar la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L.* mediante un ensayo de toxicidad oral subcrónico de dosis repetidas a 90 días en ratas Wistar.

5.2 Objetivos particulares

1. Clasificar botánicamente la corteza de *Mangifera indica L.*
2. Obtener el extracto acuoso-etanólico.
3. Determinar las modificaciones conductuales.
4. Determinar parámetros bioquímicos y hematológicos.

5.3 Objetivos secundarios

1. Cuantificar el porcentaje de azúcares presentes en el extracto acuos-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L*

6. Material y métodos

6.1 Diseño del estudio

Ensayo de toxicidad oral sub-crónica a 90 días en una población de 46 ratas

Wistar divididas en 23 Machos y 23 Hembras.

Criterio de inclusión:

- Ratas Wistar sanas de 8 semanas.

Variable independiente: Tratamiento (administración del extracto).

- Grupo control – vehículo (agua destilada).
- Grupo control satélite – vehículo.
- Experimental 100 mg/kg – extracto.
- Experimental 1000 mg/kg – extracto.
- Experimental satélite 1000 mg/kg – extracto.

Variables dependientes:

- Observaciones clínicas: Cambios en la piel, cambios en los ojos, cambios en membranas mucosas, excreciones, secreciones, piloerección, respiración anómala, cambios en la marcha, cambios en la postura, respuesta a la manipulación, movimientos clónicos, tónicos y recorridos en círculos.
- Parámetros hematológicos: serie roja, serie blanca, plaquetas y marcadores de coagulación (TP y TTPa)

➤ **Bioquímicos:**

- Marcadores metabólicos: glucosa, colesterol total, triglicéridos y proteínas totales.
- Marcadores hepáticos: ALT, AST, albúmina y bilirrubina directa.
- Marcadores renales: creatinina y urea.
- Marcadores cardiacos: CK-MB y deshidrogenasa láctica.

6.2 Extracto acuoso-etanólico

La corteza fue secada al rayo del sol durante dos semanas y triturada en un molino manual. Para obtener el extracto de la corteza, se sometió a una extracción sólido-líquido con una mezcla de disolventes etanol-agua, durante 6 horas la mezcla se filtró a vacío y el líquido obtenido se concentró a sequedad hasta obtener un polvo fino. El extracto en polvo obtenido se re-suspendió en agua hasta lograr una suspensión con concentración de 440 mg/mL.

6.3 pruebas cuantitativas de azúcares

Al extracto obtenido se le realizaron pruebas cuantitativas para determinar el porcentaje de azúcares.

6.3.1. Azúcares reductores: Método volumétrico, empleando el reactivo de Fehling.

Preparación del reactivo de Fehling.³²

- Reactivo de Fehling A: disolver 69.28 g de sulfato cúprico penta-hidratado en un matraz volumétrico y aforar.

- Reactivo de Fehling B: mezclar 346 g de tartrato doble de sodio y potasio con 100 g de hidróxido de sodio (disolver primero el hidróxido de sodio) y completar el volumen a 1 litro, reposar dos días y filtrar.
- Estandarizar el reactivo de Fehling con dextrosa.

Cuatro gramos del extracto fueron macerados en un mortero con 25 mL de agua destilada hirviendo. El líquido fue filtrado, y el filtrado fue lavado con 25 mL de agua destilada hirviendo para extraer todos los azúcares del extracto. Los 50 mL de filtrado fueron transferidos a un matraz volumétrico de 250 mL, se aforo con agua destilada, y fue filtrado, posteriormente fue transferido la solución a una bureta de 50 mL. En un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se agregaron 10 mL de solución de Fehling A, 10 mL de solución de Fehling B y 20 mL de agua destilada, la mezcla fue calentada a ebullición durante 2 minutos y se le adicionó la solución problema gota a gota hasta que el color azul desapareció y se obtuvo un precipitado café rojizo.³³⁻³⁵

El porcentaje de azúcares reductores fue estimado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de azúcares reductores directos} = 250 \times 20 \times F / V \times M$$

Dónde:

F= factor de Fehling

V= mL de solución gastados de carbohidratos directos

M= gramos de la muestra

6.3.2. Carbohidratos totales: Método volumétrico empleando el reactivo de Fehling

Veinticinco mililitros del filtrado fueron transferidos a un matraz volumétrico de 100 mL y le fueron adicionados 20 mL de agua, 10 mL de HCl concentrado. La mezcla fue homogeneizada en un baño de agua caliente, se enfrió y se agregaron gotas de fenolftaleína. La mezcla fue neutralizada con hidróxido de sodio y fue aforada. La solución fue colocada en una bureta de 50 mL y se siguió el procedimiento para reductores directos.³³⁻³⁵

El porcentaje de azúcares totales fue estimado utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Carbohidratos totales} = 250 \times 20 \times 100 \times F / V \times M \times 25$$

Donde

F= factor de Fehling

V= mL de solución gastados de carbohidratos

M= gramos de la muestra

6.3.3. Sacarosa: Método refractométrico.

Cinco gramos exactamente pesados del extracto fueron macerados y fueron transferidos a un matraz volumétrico de 100 mL y fue aforado con agua destilada. La solución fue vertida en un vaso de precipitados de 250 mL y se adicionó carbón activado hasta obtener una solución clara y transparente. La solución fue filtrada y se determinó el índice de refracción, con el cual se calcula indirectamente el contenido porcentual de sacarosa en la muestra.

6.4 Animales de experimentación

Los animales de experimentación fueron criados en el bioterio de la FES Zaragoza bajo condiciones estandarizadas. Se utilizaron 46 ratas Wistar de 8 semanas de edad divididas en 23 machos y 23 hembras. Los animales de experimentación fueron mantenidos a una temperatura de 23°C±3 °C y una humedad relativa de 50% ± 10%, sin restricciones de agua ni alimento, con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. En cada jaula, se colocaron un máximo de 5 ratas del mismo sexo y grupo. Todos los animales fueron alimentados con dieta estándar para animales de laboratorio, Teklad Global Diets, (Envigo RMS Inc, Wi, Estados Unidos). El contenido nutricional que marca el marbete es de: proteína mínima 18%, Grasa mínima 5% y humedad máxima 12%.

6.5 Ensayo de toxicidad oral sub-crónico de dosis repetidas a 90 días en ratas Wistar

El ensayo se realizó siguiendo los lineamientos de la guía 408 “Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 90 días en roedores” de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE),³⁶ los animales de experimentación se asignaron aleatoriamente a cada grupo. El ensayo estuvo constituido por un grupo control (recibió solo el vehículo) denominado grupo A, un grupo que recibió una dosis del extracto (100 mg/kg) denominado grupo B y un grupo con dosis alta del extracto (1000 mg/kg) denominado grupo C. Cada semana se pesaron las ratas para evaluar su crecimiento y ajustar la cantidad de extracto a administrar.

De forma paralela a estos grupos, se formaron un grupo control satélite (solo vehículo) llamado grupo D y un grupo experimental satélite (1000 mg/kg) llamado grupo E con el fin de evaluar en el caso de que existiera reversibilidad, progresión o aparición retardada del efecto toxico. Ver figura 2

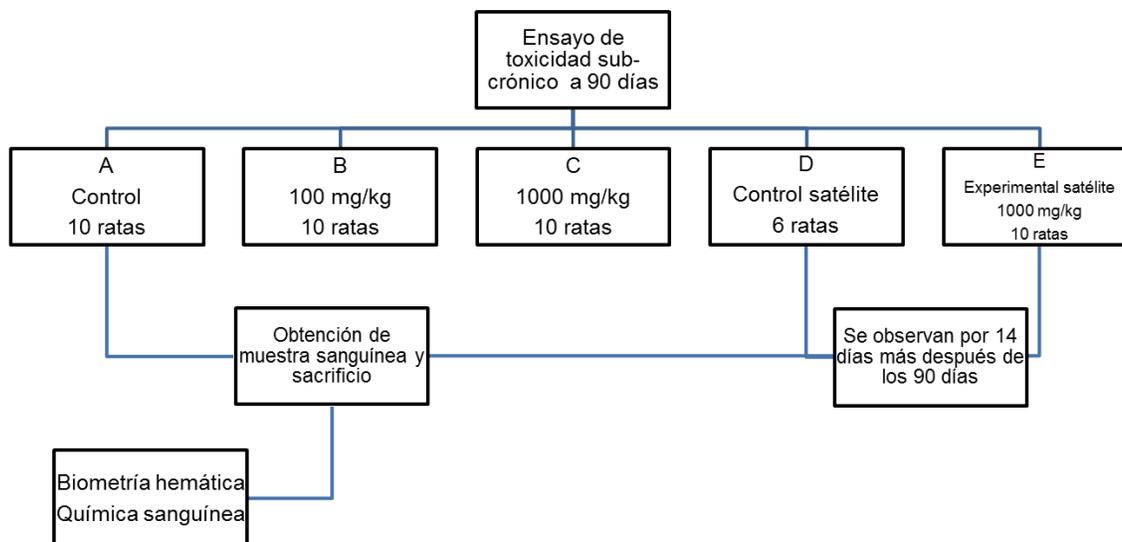


Figura 2. Diagrama general del ensayo de toxicidad.

6.6 Procedimientos experimentales

Los animales fueron observados 3 días antes de iniciar el ensayo; se pesaron cada semana con el fin de determinar la cantidad del extracto a ser administrado. Cada tercer día, se cuantifico el alimento consumido por cada jaula y el agua consumida se midió todos los días. Las ratas de los grupos experimentales fueron administradas durante 90 días con el extracto, transcurrido el tiempo las ratas de los grupos A (control), B (100mg/kg) y C (1000 mg/kg) fueron sacrificadas. Mientras que a las ratas de los grupos satélite control y satélite experimental se les suspendió la administración del extracto y del vehículo y fueron observadas por 14 días más. Al final de la observación, también fueron sacrificadas.

6.7 Análisis bioquímico y hematológico

Antes de realizar el sacrificio, una punción cardiaca fue realizada para obtener sangre y así obtener suero para medir los parámetros bioquímicos, así como se obtuvo una muestra de sangre en un tubo de muestra con anticoagulante para realizar los tiempos de coagulación y la biometría hemática.

Los parámetros bioquímicos cuantificados en la química sanguínea fueron glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales, urea, creatinina, ácido úrico, AST, ALT, bilirrubinas totales, lactato deshidrogenasa y CK-MB. Este análisis bioquímico fue realizado en la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Zaragoza (CUAS Zaragoza). Los parámetros hematológicos incluyeron: tiempo de protrombina (TP), tiempo de tromboplastina parcial activada (TTPa) y una biometría hemática que fueron realizadas en la Clínica Universitaria de Atención a la Salud Estado de México (CUAS Estado de México).

6.8 Análisis estadístico

Los resultados de los parámetros bioquímicos y hematológicos se presentaron como media y desviación estándar de los distintos grupos y fueron procesados con el programa SPSS versión 22, se aplicó una prueba para medias t de Student para muestras independientes comparando los grupos experimentales con su respectivo grupo control. Las observaciones clínicas fueron reportadas como frecuencias y porcentajes de los distintos grupos. En el caso de peso y consumo de alimento y agua se realizaron graficas en el programa Graphpad Prism versión 5.

7. Consideraciones éticas

El ensayo de toxicidad fue realizado siguiendo los lineamientos de la guía 407 “Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 90 días en roedores” de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) y de la normatividad vigente en el país como la “NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio”.³⁷ Además fue aprobado por el comité académico de carrera (CAC) con el número de registro FESZ/CACQFB/073/16 (Anexo 1).

8. Resultados

8.1 Clasificación botánica de *Mangifera indica* L.

La corteza de *Mangifera indica* L. fue recolectada en el municipio de Huauchinango localizado la sierra norte del estado de Puebla, la clasificación botánica del árbol fue realizada en el museo herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por el doctor Eloy Solano Camacho, quien confirmó que la corteza utilizada correspondía a *Mangifera indica* L. El espécimen fue añadido a la colección del museo herbario de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza con el número de registro 16961.

8.2. Cuantificación de azúcares

Los resultados de la cuantificación de los azúcares presentes en el extracto de corteza de mago se muestran en el cuadro 2.

Cuadro 2. Porcentaje de carbohidratos en la corteza de árbol de mango

Contenido de Azúcares en el Extracto de la Corteza del Árbol de Mango	
Azúcares totales	83% ± 0.25
Azúcares reductores	33% ± 0.40
Sacarosa	6% ± 0.50

8.3. Ensayo de toxicidad oral sub-crónico de dosis repetidas a 90 días en ratas Wistar.

8.3.1 Observaciones clínicas

Los animales fueron observados antes y después de la administración del extracto, los animales de prueba no presentaron señales de cambios en la piel, ojos, membranas mucosas, secreciones, piloerección, respiración anómala, cambios en la marcha y postura, respuesta a la manipulación, movimientos clónicos y tónicos y recorridos en círculos. Estas señales dieron como indicio que la administración del extracto de *Mangifera indica L.* no modificó la conducta de los animales de prueba.

8.3.2 Consumo de agua

Los animales de experimentación incorporados a los grupos de B y C consumieron un volumen mayor de agua en comparación con el grupo A ($p < 0.01$). El consumo de agua muestra que hay un patrón dosis dependiente; se puede observar que el grupo que recibió una dosis mayor de extracto de *Mangifera indica L.* (grupo C) presentó un consumo mayor de agua en comparación con el grupo de dosis intermedia (grupo B), Figura 3.

En el grupo de ratas experimental satélite (grupo E) se observa el mismo efecto antes mencionado, de igual manera hubo un mayor consumo de agua en comparación con su grupo control satélite, Figura 4.

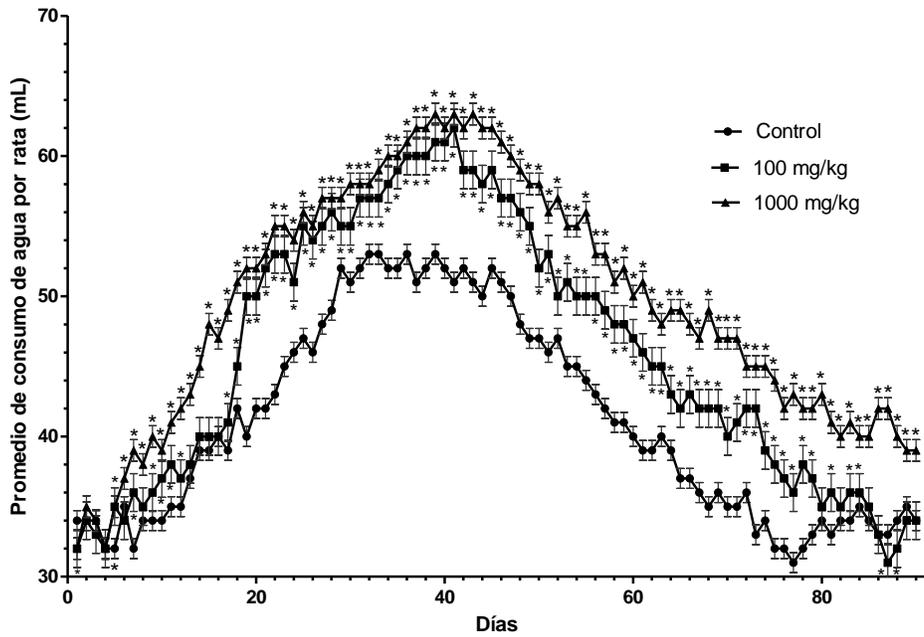


Figura 3. Gráfica que muestra el consumo de agua del grupo control, así como de los grupos experimentales a la dosis de 100 mg/kg y 1000 mg/kg. * t de Student $p < 0.001$ vs control.

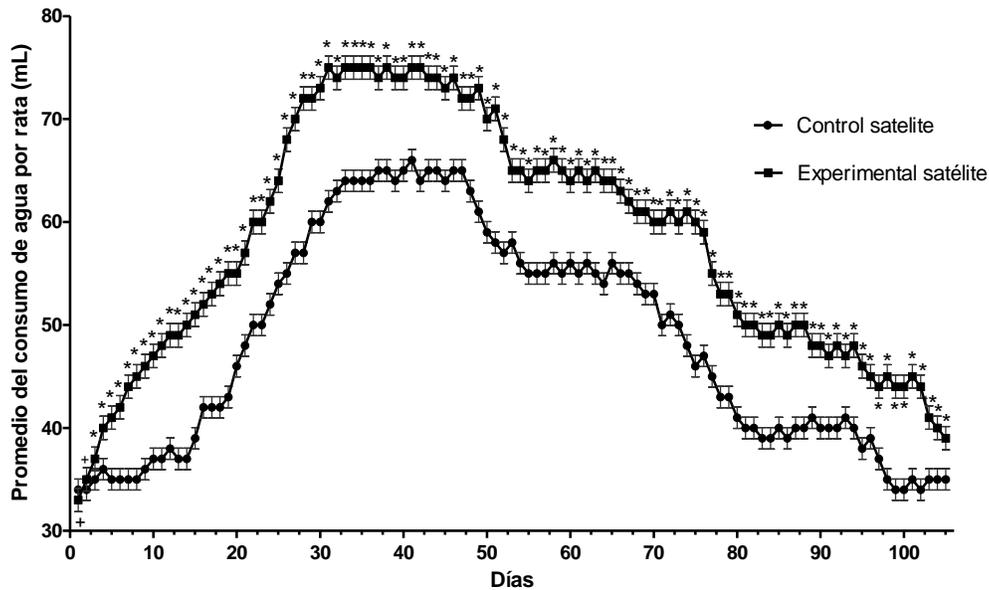


Figura 4. Gráfica que muestra el consumo de agua del grupo control satélite y experimental satélite 1000 mg/kg. + t Student $p < 0.01$ vs control satélite, * t de Student $p < 0.001$ vs control satélite.

8.3.3 Consumo de alimento

De igual manera, se puede observar un aumento en el consumo de alimento en los grupos experimentales (grupos B y C) consumieron mayor cantidad de alimento en comparación con su grupo control. De forma similar, el grupo experimental satélite mostró un aumento en el consumo de alimento en comparación con su grupo control, mostrando que tras la administración del extracto hay un mayor consumo de alimento al igual que en el consumo de agua, Figura 5 y 6.

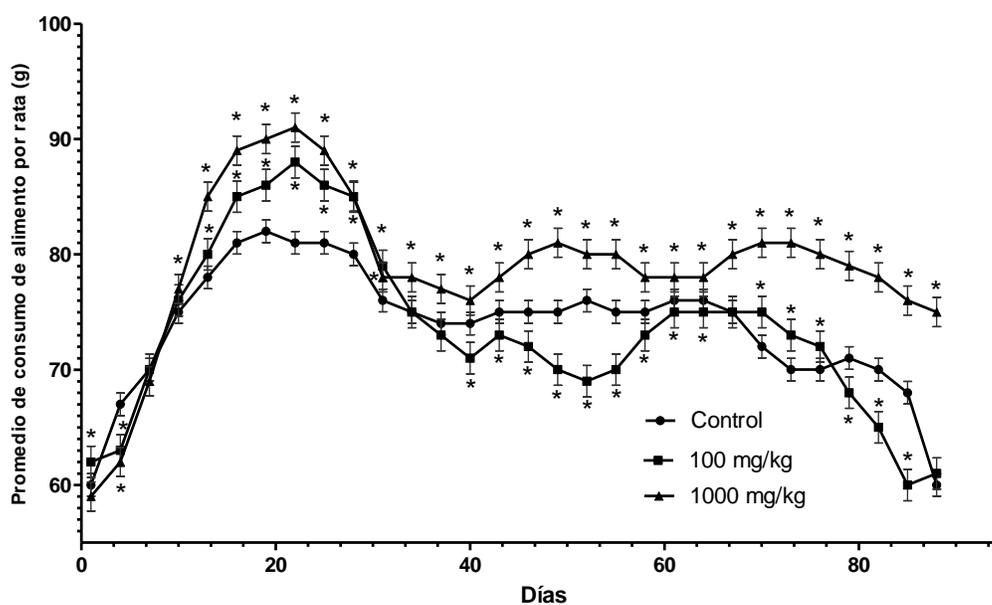


Figura 5. Gráfica que muestra el consumo de alimento del grupo control, así como de los grupos experimentales a la dosis de 100 mg/kg y 1000 mg/kg. * t de Student $p < 0.001$ vs control.

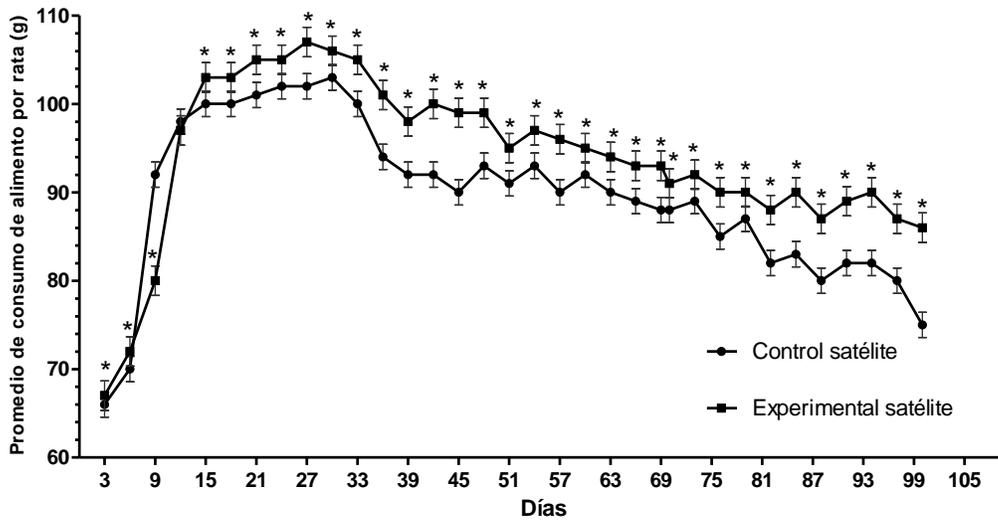


Figura 6. Gráfica que muestra el consumo de alimento del grupo control satélite y experimental satélite 1000 mg/kg. * t de Student $p < 0.001$ vs control satélite.

8.3.4 Peso corporal

En el mismo contexto, el grupo experimental "C" que recibió el extracto de *Mangifera indica L.* mostró un aumento de peso corporal en comparación con su respectivo grupo control desde la semana 4, cuya diferencia fue estadísticamente significativo. Figura 7.

En cuanto al grupo experimental satélite (grupo E) se puede observar un efecto similar, ya que, en comparación con su grupo control hay de igual manera un aumento de peso corporal desde la tercera semana de administración del extracto ($p < 0.0001$), Figura 8.

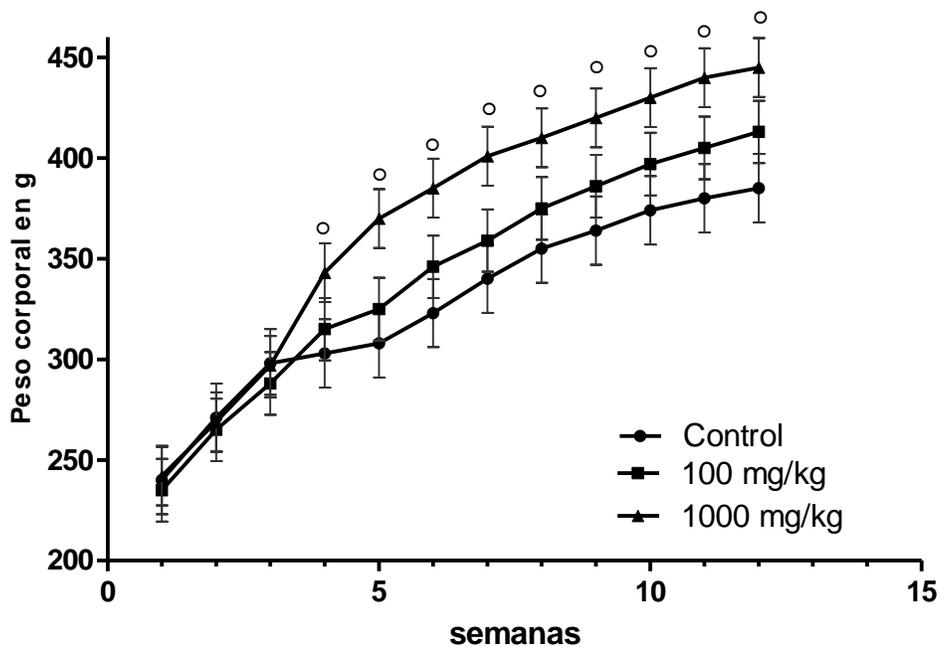


Figura 7. Gráfica que muestra el peso de los animales tanto del grupo control como de los grupos experimentales a la dosis de 100 mg/kg y 1000 mg/kg. ° t de Student $p < 0.05$ vs control.

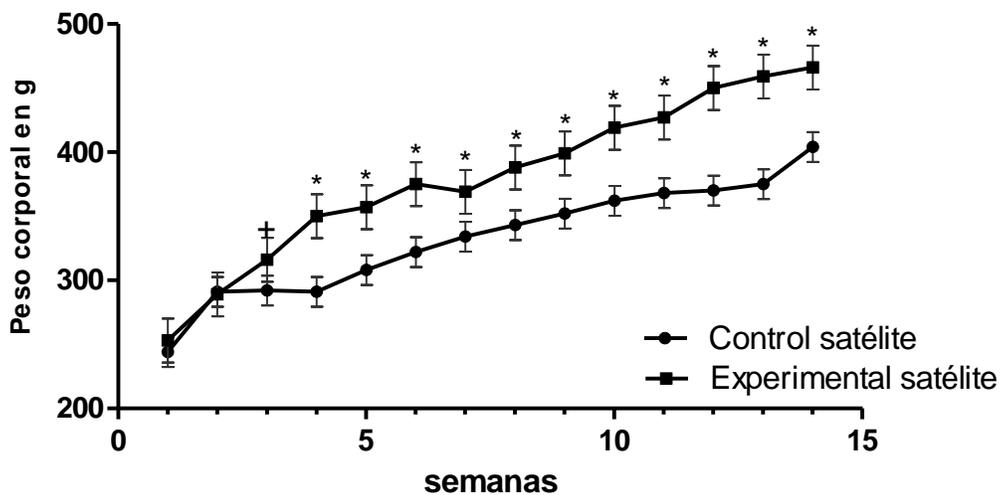


Figura 8. Gráfica que muestra el peso de los animales del grupo control satélite y experimental satélite 1000 mg/kg. + t Student $p < 0.01$ vs control satélite, * t de Student $p < 0.001$ vs control satélite.

8.3.5 Parámetros bioquímicos y hematológicos

Los resultados de los parámetros bioquímicos y hematológicos en el grupo control (A) y los grupos experimentales a 90 días (B y C) se muestran en los cuadros 3 y 5, mientras que los resultados de los grupos satélites tanto experimental como control se muestran en los cuadros 4 y 6.

8.3.5.1 Parámetros hematológicos

No se observaron diferencia en la cuenta de plaquetas tanto en los grupos experimentales a 90 días como en el grupo satélite en comparación con su grupo control. No obstante, existe una reducción en la amplitud de distribución de plaquetas para el grupo experimental C (7.25 fL vs 7.78 fL, $p < 0.05$). y el grupo E (7.43 vs 8.1, $p < 0.05$) en comparación con su respectivo grupo control.

Tanto en la serie blanca como en la serie roja para los grupos experimentales (B, C y E) no existen diferencias con su respectivo grupo control.

En cuanto a los tiempos de coagulación, hay un aumento en el TTPa en grupo experimental con la dosis de 1000 mg/kg (40.6 s vs 34.0 s, $p < 0.001$). Este aumento persistió una vez que se suspendió la administración del extracto, ya que también fue observado en el grupo experimental satélite (37.2 s vs 31.5 s, $p < 0.001$). Igualmente, se observó una diferencia estadísticamente significativa en el TP en el grupo experimental satélite, pero no así en los grupos B y C.

Cuadro 3. Parámetros hematológicos entre los diferentes grupos a 90 días

Parámetros	A	B	C
	Control	100 mg/kg	1000 mg/kg
Leucocitos, X 10 ³ µL	3.91 (2.43)	4.81 (2.03)	3.03 (1.35)
Eritrocitos, X 10 ⁶ µL	7.16 (0.38)	6.79 (1.33)	6.71 (0.56)
Hemoglobina, g/dL	14.16 (0.75)	13.45 (1.92)	3.41 (0.90)
Hematocrito, %	41.91 (2.87)	39.47 (7.49)	39.34 (3.36)
VCM, fL	58.50 (1.78)	58.19 (1.43)	58.58 (1.19)
HCM, pg	16.67 (0.92)	20.09 (1.80)	20.00 (0.62)
CHCM, G/dL	33.64 (1.24)	34.50 (2.57)	34.13 (0.79)
Plaquetas, X10 ³ µL	545.30 (164.84)	616.20 (215.07)	415.50 (186.80)
Linfocitos, %	81.61 (5.03)	77.86 (5.92)	82.67 (4.10)
Neutrófilos, %	18.39 (5.03)	22.14 (5.92)	17.42 (4.09)
ADE, fL	33.57 (1.76)	33.10 (1.68)	32.26 (1.97)
ADE, %	14.80 (1.33)	14.58 (1.57)	13.98 (1.35)
ADP, fL	7.78 (0.41)	7.34 (0.44)	7.25 (0.19) *
Tiempo de coagulación			
TP, seg	19.3 (1.16)	19.9 (0.99)	21.6 (2.27)
TTPa, seg	34.0 (3.46)	29.0 (5.10)	40.6 (1.95) ***

ADE, amplitud de la distribución de eritrocitos; ADP, amplitud de la distribución de plaqueta; CHCM, concentración de hemoglobina corpuscular media; HCM, hemoglobina corpuscular media; TP, tiempo de protrombina; TTPa, tiempo de tromboplastina parcial activada; VCM, volumen corpuscular medio. Se muestran $\bar{x} \pm DS$, prueba t de Student, significancia al 95% vs grupo control. *t de Student $p < 0.05$ vs A; ***t de Student $p < 0.001$ vs A.

Cuadro 4. Parámetros hematológicos entre los grupos satélite

Parámetros	D	E
	Control.satélite	Satélite experimental 1000 mg/kg
Leucocitos, X 10 ³ μL	3.15 (1.38)	3.36 (0.85)
Eritrocitos, X 10 ⁶ μL	6.47 (0.35)	6.55 (0.33)
Hemoglobina, g/dL	3.15 (1.38)	13.35 (0.85)
Hematocrito, %	38.88 (2.87)	39.02 (2.65)
VCM, fL	60 (0.93)	59.48 (1.99)
HCM, pg	21.05 (0.28)	21.27 (3.10)
CHCM, G/dL	35.08 (0.49)	34.30 (1.40)
Plaquetas, X10 ³ μL	571.40 (77.59)	435.78 (143.90)
Linfocitos, %	77.00 (2.47)	83.30 (4.15)
Neutrófilos, %	23.00 (2.47)	16.70 (4.15)
ADE, fL	32.38 (2.01)	33.73 (4.59)
ADE, %	13.48 (1.38)	14.02 (1.63)
ADP, fL	8.1 (0.46)	7.43 (0.18)*
Tiempo de coagulación		
TP, seg	22.0 (1.58)	19.78 (1.30) *
TTPa, seg	31.50 (2.59)	37.2 (2.04) ***

ADE, amplitud de la distribución de eritrocitos; ADP, amplitud de la distribución de plaqueta; CHCM, concentración de hemoglobina corpuscular media; HCM, hemoglobina corpuscular media; TP, tiempo de protrombina; TTPa, tiempo de tromboplastina parcial activada; VCM, volumen corpuscular medio. Se muestran $\bar{x} \pm DS$, prueba t de Student, significancia al 95% vs control satélite. *t de Student $p < 0.05$ vs D; ***t de Student $p < 0.001$ vs A.

8.3.5.2 Parámetros bioquímicos

Los resultados bioquímicos muestran una elevación en los niveles séricos de glucosa tras la administración de extracto de *Mangifera indica L.*, tanto en el grupo B (233.3 mg/dL vs 156.8 mg/dL, $p < 0.05$) como en el grupo dosis C (287.5 mg/dL vs 156.8 mg/dL, $p < 0.01$) en comparación con el grupo control que recibió vehículo. De forma similar, las ratas del grupo satélite experimental E mostraron tener hiperglicemia (361.2 mg/dL vs 175.8 mg/dL, $p < 0.01$), los resultados sugieren la persistencia y progreso de la hiperglicemia inducida por la administración del extracto.

Además, se observó un aumento en el grupo experimental satélite de los parámetros creatinina (0.53 mg/dL vs 0.39 mg/dL, $p < 0.05$), proteínas totales (6.96 mg/dL vs 6.38 mg/dL, $p < 0.05$) y bilirrubina total (0.163 mg/dL vs 0.040 mg/dL, $p < 0.05$) en comparación en grupo control satélite. Empero, las cifras no superan valores normales reportados para ratas Wistar.^{38,39}

Cuadro 5. Parámetros bioquímicos entre los grupos a 90 días

Parámetros	A	B	C
	Control	100 mg/kg	1000 mg/kg
Glucosa, mg/dL	157 (35.2)	233 (53.20) *	287 (102.77) **
Colesterol, mg/dL	84 (19.09)	90 (8.94)	75.60 (8.72)
Triglicéridos, mg/dL	112 (33.7)	117 (26.16)	105 (50.06)
Creatinina, mg/dL	0.47 (0.04)	0.42 (0.09)	0.44 (0.08)
Urea, mg/dL	37 (6.99)	36 (6.17)	40 (4.40)
PT, g/dL	6.1 (0.56)	6.6 (0.50)	6.2 (0.61)
Albúmina, mg/dL	4.4 (0.26)	4.8 (0.51)	4.4 (0.43)
AST, U/L	235 (149.30)	134 (51.93)	287 (300.01)
ALT, U/L	59 (8.08)	65 (17.81)	63 (17.66)
BT, mg/dL	0.13 (0.105)	0.08 (0.062)	0.05 (0.08)
CK-MB, U/L	525 (213.90)	454 (197.24)	529 (256.65)
LDH, U/L	551 (237.12)	483 (217.90)	613 (346.69)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; BT, bilirrubina total; CK-MB, creatina quinasa MB; LDH, lactato deshidrogenasa; PT, proteínas totales. Se muestran $\bar{x} \pm DS$, prueba t de Student, significancia al 95% vs grupo control. *t de Student $p < 0.05$ vs A. **t de Student $p < 0.01$ vs A.

Cuadro 6. Parámetros bioquímicos entre los grupos satélite.

Parámetros	D	E
	Ctrl. satélite	Satélite experimental
Glucosa, mg/dL	175 (53.50)	361 (112.64) **
Colesterol, mg/dL	97 (24.01)	88 (10.98)
Triglicéridos, mg/dL	148 (103.40)	163 (61.91)
Creatinina, mg/dL	0.39 (0.04)	0.53 (0.09) *
Urea, mg/dL	38 (3.01)	37 (3.23)
PT, g/dL	6.3 (0.20)	6.6 (0.19) *
Albúmina, mg/dL	5.5 (0.27)	4.7 (0.32)
AST, U/L	217 (144.29)	327 (247.37)
ALT, U/L	73 (20.78)	84 (22.60)
BT, mg/dL	0.04 (0.054)	0.16 (0.091) *
CK-MB, U/L	588 (408.41)	780 (336.61)
LDH, U/L	752 (558.19)	889 (357.39)

ALT, alanina aminotransferasa; AST, aspartato aminotransferasa; BT, bilirrubina total; CK-MB, creatina quinasa MB; LDH, lactato deshidrogenasa; PT, proteínas totales. Se muestran $\bar{x} \pm DS$, prueba t de Student, significancia al 95% vs control satélite. *t de Student $p < 0.05$ vs D; **t de Student $p < 0.01$ vs control satélite.

8.3.5.3 Efecto hiperglucémico

En la figura 11, se visualiza el patrón dosis dependiente de hiperglicemia inducida por el extracto: Mientras que en la figura 12, se puede apreciar la persistencia y progresión de la hiperglicemia una vez suspendida la administración del extracto.

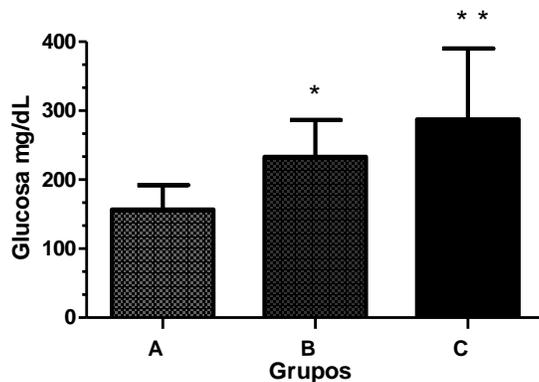


Figura 9. Gráfica que muestra los niveles de glucosa en mg/dL de los grupos A (control), B (100 mg/kg) y C (1000 mg/kg). *t de Student $p < 0.05$ vs A; **t de Student $p < 0.01$ vs A.

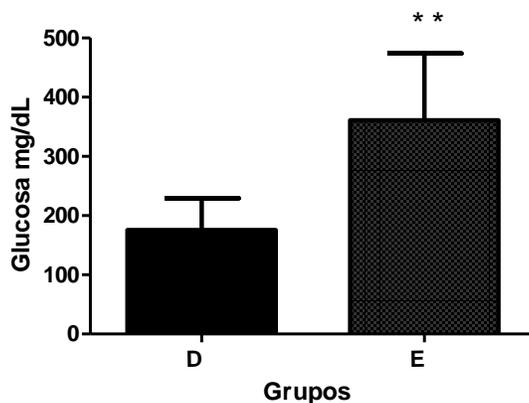


Figura 10. Gráfica que muestra los niveles de glucosa en mg/dL de los grupos D (control satélite) y E (satélite 1000 mg/kg). * t de Student $p < 0.01$ vs D.

9. Discusión

En México, hay una gran variedad en el consumo de remedios naturales, estos productos desempeñan un papel fundamental en programas de investigación y desarrollo de fármacos.^{40, 41} entre ellos se encuentra el uso de *Mangifera indica L.*, mejor conocido como mango. El uso terapéutico de este fruto va desde el tratamiento de enfermedades respiratorias, antiinflamatorias y hasta gastrointestinales. En contraste, existe poca evidencia que evalúe la seguridad de consumirlo de forma subcrónica. En el actual estudio, se evaluó la toxicidad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de árbol de mango, a través de un ensayo sub-crónico a 90 días de dosis orales repetidas en ratas Wistar.

De manera visual, la administración del extracto no produjo cambios conductuales ni muerte a lo largo del estudio. En el mismo contexto, existen estudios que reportan que tras la administración en grandes dosis de extracto de *M. indica L.* no provocan muerte en conejos con dosis que fueron de hasta 1500 mg/kg. En el mismo sentido, una administración de 5000mg/kg de extracto hecho con hojas y corteza de árbol de mango no resultó ser mortal en ratones BALB/c.^{13,42}

Nuestros resultados apoyan la hipótesis del efecto del incremento de azúcares de la dieta sobre algunos marcadores clínicos, en nuestra investigación la hiperglucemia, el aumento de peso y el aumento en la ingesta observados tras la administración oral del extracto de *Mangifera indica L.* durante un periodo de 90 días se atribuye a la gran cantidad de carbohidratos contenidos en el extracto, ya que, conforme a nuestros resultados el extracto obtenido, contiene más de un

80% de carbohidratos en su composición total. Estos resultados, coinciden con hallazgos de otros investigadores pues se ha reportado que tras la administración de una dieta enriquecida en carbohidratos a un grupo de ratas Wistar se observa un aumento en los niveles de glucosa, así como de otros parámetros metabólicos en comparación con sus grupos controles.⁴³ En nuestros resultados, en el grupo experimental C (1000 mg/kg), se observó un incremento significativo en comparación con su respectivo grupo control A en el que la ingesta de alimento, agua, peso corporal, fueron normales.

En este sentido, el consumo en los alimentos de azúcares reductores se ha asociado al desarrollo de enfermedades crónicas no transmisibles como la diabetes tipo 2,⁴⁴ los resultados apoyan esta asociación, ya que se determinó que el extracto contenía 33% de azúcares reductores que indujeron una hiperglucemia irreversible. Asimismo, el aumento de la glucosa plasmática mostró tener un patrón dosis-dependiente. Un estudio previo de nuestro grupo de investigación también demostró que tras la administración de extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. durante 28 días induce hiperglucemia dosis dependiente en ratas Wistar.⁴⁵

El hecho de que extractos de plantas tengan un efecto hiperglucémico similar ha sido observado y previamente reportado; por ejemplo en un ensayo en ratas Wistar se demostró que la administración de una infusión de corteza de raíz de *Artocarpus communis* elevó las concentraciones de glucosa en sangre^{46,47} tal efecto se asemeja al observado tras la administración del extracto de *Mangifera indica* L.

El aumento en el consumo de carbohidratos está relacionado con la incidencia de la obesidad, así como el desarrollo de diabetes tipo 2, trayendo como resultado un aumento en los niveles séricos de glucosa, triglicéridos, así como en otros parámetros bioquímicos que pueden conducir al desarrollo de enfermedades metabólicas. Araujo et al, reportaron que la administración de una solución al 20% de fructosa (un azúcar reductor) a un grupo de ratas Wistar durante 8 semanas condujo al desarrollo de obesidad en comparación con su grupo control provocando elevaciones en parámetros bioquímicos como la glucosa y en consecuencia desarrollaron hiperglucemia.^{48, 49}

Por otro lado, respecto a los parámetros hematológicos, los resultados muestran una prolongación en el TTPa que es persistente una vez que se deja de administrar el extracto. Interesantemente, existe evidencia que sugiere que los pacientes con diabetes tipo 2 presentan problemas de coagulación. Un estudio realizado en una población de pacientes diabéticos tipo 2 demostró que los inhibidores fisiológicos de la coagulación eran significativamente menores en la población diabética que en la de referencia por lo que se confirma la tendencia al estado protrombótico en los pacientes diabéticos; se encontró también que tanto la actividad coagulante como la fibrinolítica varían en forma estadísticamente significativa al comparar la población diabética con la de referencia.⁵⁰

Otro resultado del estudio, muestra una diferencia significativa en la amplitud de distribución plaquetaria (ADP), que de igual manera persiste aun después de dejar de administrar el extracto. En contraste, existen estudios que demuestran que la movilización de Ca^{2+} y la agregación plaquetaria son más elevadas en las

plaquetas de personas diabéticas que en personas sanas; estos hallazgos se han asociado con el desarrollo de aterosclerosis, trombosis y otros trastornos cardiovasculares en personas con diabetes tipo 2.⁵¹

Diversos autores han reportado que el uso de ciertas plantas inducen daño renal o nefrotoxicidad, lo cual se atribuye a el extracto metanólico de *Moringa oleífera* el cual se les administró durante 8 semanas a un grupo de ratas Wistar ocasionando niveles elevados de creatinina que sugieren daño renal.⁵² Así mismo, otro estudio demuestra que la administración de un extracto metanólico de *Pteleopsis hylodendron* en dosis orales únicas durante 28 días en ratones, provocan un aumento significativo dependiente de la dosis en los niveles de creatinina, lo que se correlacionan con daño en los riñones.⁵³ No obstante los datos sugieren que el extracto acuoso-etanólico de *Mangifera indica L.* no tiene efectos nefrotóxicos.

Respecto a las proteínas totales, diversos estudios revelan que el uso de extracto de yacón (*Smallanthus sonchifolius*) induce toxicidad al administrarse a ratas durante un período de 90 días produciendo un aumento en los niveles séricos de proteína totales.⁵⁴ En el mismo sentido, un estudio realizado en ratas BALB/c en el cual se les administró soluciones a diferentes concentraciones de *Camellia sinensis* (té verde) produjo toxicidad hepática severa, aumentando los niveles de marcadores hepáticos como son, AST, ALT y bilirrubinas totales así como daño histopatológico en comparación con sus respectivos controles, estos resultados muestran que la administración de un extracto de té verde puede inducir hepatotoxicidad severa.⁵⁵ Así mismo, un estudio hecho en ratas Wistar en el que se les administró soluciones de la planta *Mentha piperita* (menta) por 30 días,

comúnmente utilizado en el tratamiento de la pérdida de apetito, resfriado común entre otros, provocó elevaciones en los marcadores bioquímicos como la ALT y AST revelando un daño hepático leve a grave en comparación con el grupo de control.⁵⁶ En contraste, los resultados no muestran elevación de los marcadores hepáticos evaluados como ALT, AST, albúmina y bilirrubina directa, por tanto, no se observa que el extracto de *Mangifera indica L.* tenga efectos hepatotóxicos.

10. Conclusiones

- El extracto acuoso-etanólico de corteza de árbol de mango administrado durante 90 días induce mayor consumo de agua y alimento en ratas Wistar así como el aumento en el peso corporal.
- La administración vía oral del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. durante 90 días induce hiperglucemia en ratas Wistar.
- La hiperglucemia inducida por el extracto de corteza de mango progresa una vez que deja de administrarse.
- El extracto acuoso-etanólico administrado durante 90 días induce un alargamiento en el TTPa.
- La prolongación del TTPa es persistente después de suspender la administración del extracto.
- El extracto acuoso-etanólico de corteza de árbol de mango administrado durante 90 días reduce la amplitud de la distribución de las plaquetas.
- La reducción en la amplitud de la distribución de las plaquetas es persistente después de suspender el extracto.

11. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional. [citado el 1 de marzo 2017] disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js21201es/>.
2. Ngokere AA, Ezeofor PC, Okoye JO, Chukwuanukwu RC. Atheromic and lymphoplasmacytic effects of *Mangifera indica* methanolic leaf extract on the heart of chinchilla rabbits. *J Basic Clin Physiology Pharmacology*. 2015;(6):539-46.
3. Osuna L, Tapia M, Aguilar A. Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico. Edicions Universitat. Barcelona: 2005. pp. 16-17.
4. Nigenda G, Mora-Flores G, Aldama-López S, Orozco-Núñez E. La práctica de la medicina tradicional en América Latina y el Caribe: el dilema entre regulación y tolerancia. *Salud publica Méx*. 2001; 43(1):41-51.
5. Cortez-Gallardo V, Macedo-Ceja JP, Hernández-Arroyo M, Arteaga-Aureoles G, Espinosa-Galván D, Rodríguez-Landa JF. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev Biomed* 2004; 15(2):123-136
6. Repetto-Jiménez M, Repetto-Kuhn G. Desarrollo y Evolución Histórica de la Toxicología. Toxicología fundamental. 4ª ed. España: Díaz de santos; 2009. pp. 1,23.

7. Biblioteca de la medicina tradicional mexicana 2009 [citado 17 de julio 2017, disponible en: http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/intro_atlas.html].
8. Ashish B. Deshpande, Krishanpal Anamika, Vineet Jha, Hemangi G. Chidley, Pranjali, et al. Transcriptional transitions in Alphonso mango (*Mangifera indica* L.) during fruit development and ripening explain its distinct aroma and shelf life characteristics. *Scientific reports*. 2017; (7):8711.
9. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [homepage on the Internet] ciudad de México: secretaria de gobernación; 2017c [actualizada 18 julio 2017; consultado 18 julio 2017]. Disponible en: <https://www.gob.mx/sagarpa>
10. Forbes [homepage on the Internet] Estados Unidos; Steve Forbes; 2017c [consultado 18 julio 2017; consultado 18 julio 2017]. Disponible en: <https://www.forbes.com.mx/>
11. Aiyelaaybe OO, Osamudiamen PM. Phytochemical screening for active compounds in *Mangifera indica* leaves from Ibadan, Oyo State. *Plant Sci's Res*. 2009; 2(1):11-13.
12. Garrido G, Roderiro I, Hernández I, García G, Pérez G, Merino N, et al. In vivo acute toxicological studies of an antioxidant extract from *Mangifera indica* L. (Vimang). *Drug Chem. Toxicol*. 2009; 32:53-8.
13. Ngokere AA, Ezeofor PC, Okoye JO, Chukwuanukwu RC. Atheromic and lymphoplasmacytic effects of *Mangifera indica* methanolic leaf extract on the heart of chinchilla rabbits. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2015; 26: 539-46.

14. Bhadrapura LD, Sudharshan S. The anti-inflammatory activity of standard aqueous stem bark extract of *Mangifera indica* L. as evident in inhibition of Group IA sPLA2. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 2016; 88(1):197-209.
15. Oluwole OG, Esume C. Anti-inflammatory effects of aqueous extract of *Mangifera indica* in Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*. 2015; 26(3):313-5.
16. Kim H, Banerjee N, Barnes RC, Pfent CM, Talcott ST, Dashwood RH, et al. Mango polyphenolics reduce inflammation in intestinal colitis-involvement of the miR-126/PI3K/AKT/mTOR axis in vitro and in vivo. *Mol Carcinog*. 2017; 56(1):197-207.
17. Oliveira RM, Dutra TS, Simionatto E, Ré N, Kassuya CA, Cardoso CA. Anti-inflammatory effects of essential oils from *Mangifera indica*. *Genet Mol Res*. 2017; 16(1).
18. Anand G, Ravinanthan M, Basaviah R, Shetty AV. In vitro antimicrobial and cytotoxic effects of *Anacardium occidentale* and *Mangifera indica* in oral care. *J Pharm Bioallied Sci*. 2015; 7(1):69-74.
19. Singh R, Singh SK, Maharia RS, Garg AN. Identification of new phytoconstituents and antimicrobial activity in stem bark of *Mangifera indica* (L.). *J Pharm Biomed Anal*. 2015; 105:150-5.
20. Sabater AG, Ribot J, Priego T, Vazquez I, Frank S, Palou A, et al. Consumption of a Mango Fruit Powder Protects Mice from High-Fat Induced Insulin Resistance and Hepatic Fat Accumulation. *Cell Physiol Biochem*. 2017; 42(2):564-78.

21. Fahmy SR, Amien AI, Abd-Elgleel FM, Elaskalany SM. Antihepatotoxic efficacy of *Mangifera indica* L. polysaccharides against cyclophosphamide in rats. *Chem Biol Interact.* 2016; 244:113-20.
22. Ebeid HM, Gibriel AA, Al-Sayed HM, Elbehairy SA, Motawe EH. Hepatoprotective and antioxidant effects of wheat, carrot, and mango as nutraceutical agents against CCl₄-induced hepatocellular toxicity. *J Am Coll Nutr.* 2015; 34(3):228-31.
23. Awodele O, Adeneye AA, Aiyeola SA, Benebo AS. Modulatory effect of *Mangifera indica* against carbon tetrachloride induced kidney damage in rats. *Interdiscip Toxicol.* 2015; 8(4):175-83.
24. Barreto JC, Trevisan MT, Hull WE, Erben G, de Brito ES, Pfundstein B, et al. Characterization and quantitation of polyphenolic compounds in bark, kernel, leaves, and peel of mango (*Mangifera indica* L.). *J Agric Food Chem.* 2008; 56(14):5599-610.
25. Sá-Nunes A, Rogerio AP, Medeiros AI, Fabris VE, Andreu GP, Rivera DG, et al. Modulation of eosinophil generation and migration by *Mangifera indica* L. extract (Vimang). *Int Immunopharmacol.* 2006; 6(9):1515-23.
26. Makare N, Bodhankar S, Rangari V. Immunomodulatory activity of alcoholic extract of *Mangifera indica* L. in mice. *J Ethnopharmacol.* 2001; 78(2-3):133-7.
27. Yakubu MT, Salimon SS. Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of *Mangifera indica* L. leaves in female albino rats. *J Ethnopharmacol.* 2015; 163:135-41.

28. Ganogpichayagrai A, Palanuvej C, Ruangrunsi N. Antidiabetic and anticancer activities of *Mangifera indica* cv. Okrong leaves. *J Adv Pharm Technol Res.* 2017; 8(1):19-24.
29. Nemeč MJ, Kim H, Marciante AB, Barnes RC, Hendrick ED, Bisson WH, et al. Polyphenolics from mango (*Mangifera indica* L.) suppress breast cancer ductal carcinoma in situ proliferation through activation of AMPK pathway and suppression of mTOR in athymic nude mice. *J Nutr Biochem.* 2017; 41:12-19.
30. Castro-Pantaleón KY. Determinación de la actividad antiproliferativa y citotóxica del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L. En células de cáncer cervicouterino Hela: Universidad Nacional Autónoma de México; 2014.
31. Abdullah AS, Mohammed AS, Abdullah R, Mirghani ME, Al-Qubaisi M. Cytotoxic effects of *Mangifera indica* L. kernel extract on human breast cancer (MCF-7 and MDA-MB-231 cell lines) and bioactive constituents in the crude extract. *BMC Complement Altern Med.* 2014; 14:199.
32. R. Lees. Contenido en azúcares reductores, Análisis de los alimentos, métodos analíticos y de control de calidad. 3^a edición, Gran Bretaña: ACRIBIA. pp. 116-17.
33. KIRK RS., Sawyer, R y Egan H. "Composición y Análisis de Alimentos de Pearson". Segunda edición. Editorial CECOSA. México 1996. pp. 50-51.
34. NMX-F-217. Determinación de Dextrosa Equivalente en Glucosa de Maíz. NMX Dirección General de Normas [en línea].1975. [consultado el 25 de septiembre de 2017]. URL disponible

en:<https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-217-1975.PDF>.

35. NMX-F-496-SCFI. Industria Azucarera y Alcohólica - Determinación de Reductores Totales en Azúcares y Materiales Azucarados norma mexicana. NMX Dirección General de Normas [en línea]. 2011. [consultado el 25 de septiembre de 2017]. URL disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/114868/NMX-f-496-SCFI-2011.pdf>.
36. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico. Guía 408 Ensayo de toxicidad oral de dosis repetidas a 90 días en roedores. 2008. [citado 27 de enero 2017], disponible en: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-408-repeated-dose-90-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070707-en.htm.
37. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio.
38. Laboratories. Baseline Hematology and Clinical Chemistry Values for Charles River Wistar Rats. [En línea]. 1998. [consultado 19 de marzo de 2017]. URL disponible en: <https://www.criver.com/sites/default/files/resources/BaselineHematologyandClinicalChemistryValuesforCharlesRiverWistarRats%5BCrIWIBR%5DasaFunctionofSexandAgeSpring1998.pdf>
39. León A, Blanco D, Peña A, Ronda M, González B, Arteaga M et al. Hematological and biochemical parameters in Sprague Dawley laboratory rats breed in CENPALAB, Cen: SPRD. *Rev electrón vet.* 2011; 12 (11).

40. Raja I, Ghani M, Abdullah N. An analysis of application of health informatic in Traditional Medicine: a review of four Traditional Medicine systems, International Journal of Medical Informatics. *Int J Med Inform.* 2015; 84(11):988-96.
41. Haidan Yuan, Qianqian Ma, Li Ye, Guangchun Piao. The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. *Molecules.* 2016, 21(5).
42. Tarkang PA, Okalebo FA, Ayong LS, agbor GA, Guantai AN. Anti-malarial activity of a polyherbal product (nefang) during early and established plasmodium infection in rodent models. *Malar J.* 2014; 13:456-67.
43. Serván P. Obesity and Diabetes. *Nutr Hosp* 2013; 28(Supl. 5):138-43.
44. López V, López J, Vázquez M. Fernández ML. Hidratos de carbono: actualización de su papel en la diabetes mellitus y la enfermedad metabólica. *Nutr Hosp.* 2014; 30(5):1020-31.
45. Jiménez Respardo E. Evaluación de la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica* L; ensayo sub-crónico a 28 días en ratas Wistar. [tesis de licenciatura]. México: Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México; 2017.
46. Adewole SO, Ojewole JA. Hyperglycaemic effect of *Artocarpus communis* Forst (Moraceae) root bark aqueous extract in Wistar rats. *Cardiovasc J Afr.* 2007; 18(4):221-27.
47. Chan SC, Ko HH, Lin CN. New Prenylflavonoids From *Artocarpus communis*. *J Nat Prod.* 2003; 66:427-30.

48. Mamikutty N, Thent Z, Ridzwan S, Sahrudin N, Yusof M, Suhaimi F. The Establishment of Metabolic Syndrome Model by Induction of Fructose Drinking Water in Male Wistar Rats. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:263897.
49. Araujo IC, Andrade RP, Santos F, Soares ES, Yokota R, Mostarda C, et al. Early developmental exposure to high fructose intake in rats with NaCl stimulation causes cardiac damage. *Eur J Nutr.* 2016; 55(1):83-91.
50. Lena A, Raymondo S. Evaluación de inhibidores fisiológicos de la coagulación en pacientes diabéticos tipo 2. *Acta Bioquím Clínic Latinoam.* 2007; 41(2):213-18.
51. Alexandru N, Jardin L, Popov D, Simionescu M, García J, Salido M, et al. Effect of homocysteine on calcium mobilization and platelet function in type 2 diabetes mellitus. *J Cell Mol Med.* 2008; 12(6b): 2586–97.
52. Ademola A. Oyagbemi, Temitayo O. Omobowale, Ibraheem O. Azeez, et al. Toxicological evaluations of methanolic extract of Moringa oleifera leaves in liver and kidney of male Wistar rats. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2013; 24(4):307–12.
53. Nana HM, Ngane RA, Kuate JR, Mogtomo LM, Tamokou JD, Ndifor F, et al. Acute and sub-acute toxicity of the methanolic extract of Pteleopsis hylodendron stem bark. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 137(1):70–6.
54. Oliveira R, Paula D, Rochaa B, Francoa J, Netoa L, Uyemuraa S, et al. Renal toxicity caused by oral use of medicinal plants: The yacon example. *J. Ethnopharmacol.* 2011; 133(2):434–41.

55. Emoto Y, Yoshizawa K, Kinoshita Y, Yuki M, Yuri T, Yoshikawa Y. Green Tea Extract-induced Acute Hepatotoxicity in Rats. *J Toxicol Pathol.* 2014; 27:163–74.
56. Akdogan M, Ozguner M, Aydin G, Gokalp O. Investigation of biochemical and histopathological effects of *Mentha piperita* Labiatae and *Mentha spicata* Labiatae on liver tissue in rats. *Hum Exp Toxicol.* 2004; 23(1):21-28

12. Anexo 1



FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES "ZARAGOZA"
JEFATURA DE LA CARRERA DE Q.F.B.
OF. No. FESZ/CACQFB/073/16



Dr. Osvaldo Daniel Castelán Martínez
Q. Carlos Salvador Valadés Sánchez
QFB Ángel García Sánchez
Dra. Jazmín De Anda González.
PRESENTE.

En la sesión del 29 de abril de 2016, este Comité aprobó el proyecto de investigación **Evaluación de la seguridad del extracto acuoso-etanólico de la corteza de *Mangifera indica L*: Ensayo de toxicidad oral subcrónica a 28 y 90 días en ratas Wistar.**

Sin otro particular por el momento, estoy a sus órdenes para cualquier aclaración al respecto.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
México, Ciudad de México, 18 de mayo del 2016.

DRA. RAQUEL RETANA UGALDE
PRESIDENTA DEL COMITÉ ACADÉMICO
DE CARRERA
retanara@unam.mx
56230766

