

Comparación del efecto hipoglucémico de *Cucurbita ficifolia* Bouché en diferentes estados de desarrollo.

Moya Hernández A^{a,*}, Bosquez Molina E^a, Blancas Flores G^b, Verde Calvo J R^a

a Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, Avenida San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, C.P. 09340, Iztapalapa, Ciudad de México, México. *aramoyahdez@gmail.com

b Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Ciencias de la Salud, Avenida San Rafael Atlixco 186, Colonia Vicentina, C.P. 09340, Iztapalapa, Ciudad de México, México.

RESUMEN:

La Diabetes es la primera causa de muerte en México. Debido a que los medicamentos utilizados para su tratamiento provocan efectos adversos además su alto costo, se han buscado alternativas como el consumo de alimentos que ayuden a combatir dicha enfermedad. Se ha demostrado que los frutos de *C. ficifolia* poseen importantes propiedades hipoglucémicas, sin embargo, no se conoce si dicho efecto es mejor en alguna etapa de desarrollo. El objetivo fue comparar el efecto hipoglucémico de dicho fruto en diferentes estados de desarrollo. Se cosecharon frutos de *C. ficifolia* a los 10, 15, 25, 30, 40 y 45 después de anthesis. Se obtuvo el extracto acuoso, se extrajo el jugo y se dejó secar. Se administraron 500 mg de cada extracto/kg de peso corporal a ratones sanos CD-1, se utilizó glibenclamida como control positivo y solución salina isotónica como control. Los extractos de todas las etapas del desarrollo mostraron un efecto hipoglucémico similar a la glibenclamida, teniendo un mejor efecto a los 15 días después de anthesis. Al conocer la etapa de desarrollo exacta en donde es mejor este efecto, se puede promover su consumo en dicha etapa con la seguridad de tener un mejor efecto hipoglucémico..

Palabras clave:

Chilacayote, efecto hipoglucemiante, diabetes mellitus

ABSTRACT:

Diabetes is the leading cause of death in Mexico. Because the medications used for its treatment cause adverse effects in addition to its high cost, alternatives have been sought such as the consumption of foods that help to fight said disease. It has been shown that the fruits of *C. ficifolia* have important hypoglycemic properties, however, it is not known if this effect is better at some stage of development. The aim was to compare the hypoglycemic effect of said fruit in different stages of development. For this, fruits of *C. ficifolia* were harvested at 10, 15, 25, 30, 40 and 45 after anthesis. The aqueous extract was obtained, the juice was extracted and allowed to dry. 500 mg of each extract / kg of body weight were administered to healthy CD-1 mice, glibenclamide was used as a positive control and isotonic saline as control. The extracts of all stages of development showed a hypoglycemic effect similar to glibenclamide, having a better effect at 15 days after anthesis. By knowing the exact stage of development where this effect is best, you can promote its consumption at that stage with the assurance of having a better hypoglycemic effect..

Key words:

Chilacayote, hypoglycemic effect, diabetes mellitus

Área: Alimentos funcionales

INTRODUCCIÓN

El estilo de vida ha generado grandes e importantes cambios en la alimentación a nivel mundial ya que se han adquirido hábitos alimenticios poco saludables. Esto, en conjunto con el sedentarismo y el estrés, conducen al incremento de diversas enfermedades que conducen a un problema de salud pública en muchos países, entre estas enfermedades esta la diabetes mellitus (Sarmiento Rubiano 2006).

La diabetes mellitus (DM) se define como el conjunto de alteraciones metabólicas (López Luengo 2006) y se caracteriza por la hiperglicemia crónica causada por una deficiencia absoluta o relativa de insulina (Martínez-Gamboa & Sánchez-Díaz 2013). Esto último clasifica a la DM en: Tipo 1-insulino-dependiente, deficiencia total de secreción de insulina y tipo 2-no insulino-dependiente, el organismo no produce suficiente insulina y hay una resistencia a la acción de esta (Alfaro et al. 2000; López Luengo 2006; Martínez-Gamboa & Sánchez-Díaz 2013). Esta enfermedad es la sexta causa de muerte en el mundo (OMS 2017) y la primera en México (INEGI 2017), por ello es el mayor reto que enfrenta el sistema de salud mexicano en términos de salud pública y atención médica. Se estima que el 90% de los casos son del tipo 2 (García Luján et al. 2009).

Tratamientos para la DM

El tratamiento para la DM tipo 1 se basa en dieta y administración de insulina, mientras que para la DM tipo 2 existen cuatro factores: la educación del paciente respecto a la enfermedad, el ejercicio físico, dieta e hipoglucemiantes, que pueden ser sulfonilureas, biguanidas, inhibidores de la alfa-glucosidasa y glinidas (Alfaro et al. 2000; López Luengo 2006; García Luján et al. 2009; Villarreal-Ibarra et al. 2015). Sin embargo, estos fármacos tienen múltiples efectos adversos además de un alto costo. Esto ha llevado a la búsqueda de opciones como el consumo de alimentos que además de una nutrición básica aporten beneficios adicionales para la salud y el bienestar de la población, ya que estos no tendrán efectos secundarios, serán eficaces e inocuos (Sarmiento Rubiano 2006; García Luján et al. 2009; Villarreal-Ibarra et al. 2015).

Alternativas para el control de la DM tipo 2

Actualmente se estima que hay más de 300 especies vegetales con actividad hipoglucemiante. Algunas de ellas están siendo ampliamente estudiadas y los resultados de los trabajos realizados han sido positivos dada su eficacia y por la escasa toxicidad, por lo que podrían utilizarse durante largos períodos (López Luengo 2006; Villarreal-Ibarra et al. 2015). Estas especies pueden utilizarse de diferente manera: infusiones de hojas, raíces o tallos, jugo o infusión de frutos o simplemente ingerir los frutos o bulbos sin tratamiento.

Efecto hipoglucémico del *C. ficifolia*

Diversos investigadores han demostrado el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* o chilacayote, como es conocido en México. En una de las primeras investigaciones se comparó el efecto del extracto de este fruto con otras especies utilizadas para disminuir la glucosa, siendo más efectivo el extracto de chilacayote, incluso mejor que la tolbutamida, medicamento utilizado para el tratamiento de esta enfermedad (Román-Ramos et al. 1995). Esto motivo a otros investigadores para comprobar dicho efecto, en dichos estudios se realizaron pruebas *in vivo* e *in vitro* y se realizaron de manera crónica y aguda por diferentes vías de administración y se comparó el efecto con otros medicamentos como pioglitazona y glibenclamida. En todos los estudios se encontró que el chilacayote tiene un importante efecto hipoglucémico, además en uno de ellos se reporta que tiene propiedades antioxidantes y anti-

inflamatorias (Acosta-Patiño et al. 2001; Alarcón-Aguilar et al. 2002; Xia & Wang 2006a; Xia & Wang 2006b; Roman-Ramos et al. 2012; Banderas-Dorantes et al. 2012; Díaz-Flores et al. 2012; Fortis-Barrera et al. 2013). En un estudio más reciente (Moya-Hernández et al. 2018) se comparó el efecto hipoglucémico de frutos provenientes de diferentes y regiones de México y se encontró que todos poseen dichas propiedades.

A pesar de las evidencias científicas mencionadas sobre la notable propiedad hipoglucemiante de *C. ficifolia*, en ninguna de ellas se menciona el estado de desarrollo preciso, información que resulta relevante para determinar si las respuestas encontradas se pueden atribuir a dicha característica.

Hipótesis: el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* está asociado al estado de desarrollo del fruto.

Objetivo: comparar el efecto hipoglucémico de *C. ficifolia* en diferentes estados de desarrollo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de frutos *C. ficifolia*

Se seleccionaron y sembraron 144 semillas en un semillero dentro del laboratorio de Tecnología y Poscosecha de frutas y hortalizas, después de 15 días se trasplantaron a una parcela dentro de la UAM Iztapalapa y se marcaron las flores con fecha de antesis y a partir de ese momento se tomaron muestras por triplicado a los 10, 15, 25, 30, 40 y 45 días posteriores a antesis.

Obtención del extracto acuoso

Se lavaron los frutos y se enjuagaron con agua potable, se eliminó el exocarpo y las semillas. Se extrajo el jugo usando un extractor de jugos marca Breville JE95XL y se filtró al vacío utilizando papel filtro de 70 mm de diámetro. Posteriormente se colocó en refractarios (solo cubriendo el fondo de estos) dejando secar en campana de flujo laminar a temperatura ambiente por 48 h.

Se retiró el extracto de los refractarios y se colocó en frascos de color ámbar los cuales se almacenaron a temperatura ambiente.

Preparación de las dosis de las diferentes muestras

Se pesaron 500 mg de extracto por cada kg de peso corporal de los ratones y se disolvieron con 4 mL de H₂O estéril/kg peso corporal.

Se utilizó glibenclamida como control positivo en una dosis de 10 mg de glibenclamida/ kg peso corporal y se disolvieron en 4 mL de H₂O estéril/kg peso corporal. Como control se utilizó solución salina isotónica (SSI) en una dosis de 4 mL de SSI/kg peso corporal.

Se realizó el cálculo correspondiente para cada uno de los diferentes tratamientos y para cada ratón como se muestra a continuación Ec. (1).

mg de extracto necesario para un ratón de 36 g = 18 mg

$$mg = \left(\frac{500 \text{ mg de extracto}}{1000 \text{ g peso}} \right) * 36g \text{ peso}$$

Preparación de los ratones

Se utilizaron 40 ratones machos sanos de la cepa CD-1 con un peso promedio de 35-39 g, nacidos en el Banco Genético de la UPEAL-Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco con número de verificación BOO.02.03.02 .01.281/07 de la SAGARPA

Administración de los tratamientos

Se formaron 8 grupos de cinco ratones, se pesaron, se marcaron y se dejaron en un ayuno de 12 h con acceso libre de agua. A los grupos 1-6 se les administró un extracto diferente, al grupo siete glibenclamida y al grupo ocho SSI. La administración tanto de los extractos como de los controles se realizó vía intraperitoneal.

Medición de glucosa

Con el glucómetro ACCU-CHEK® Performa Test se midió la glucosa a los ratones al tiempo cero (antes de administrar los extractos y las soluciones control), posteriormente se tomaron las muestras a los 120, 240 y 360 min. Estas mediciones se realizaron tomando las muestras de sangre por la vena caudal (cola del ratón).

Análisis estadístico

Los datos de glucosa en sangre se corrigieron restando el valor del tiempo inicial a los 120, 240 y 360 min (para cada ratón), esto a fin de eliminar las variaciones entre los individuos y reflejar el efecto real de cada tratamiento. Por lo tanto, la variable de respuesta se definió como $\Delta G = \text{Glucosa en sangre en } t_i - \text{Glucosa en sangre en } t_0$, donde t_i es cualquiera de los niveles de tiempo del estudio y t_0 es el tiempo inicial del experimento.

Se utilizó el programa Statgraphics para realizar un ANOVA a $p \leq 0.05$ de importancia y una prueba complementaria de Tukey-Kramer para determinar las diferencias significativas entre las concentraciones medias de ΔG de todos los grupos tratados. Se realizó un ANOVA para cada uno de los tiempos experimentales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de medir la glucosa con el glucómetro ACCU-CHEK® Performa al tiempo cero, a los 120, 240 y 360 min se construyó una gráfica con los valores de ΔG , Fig. 1. En ésta gráfica se puede observar que todos los extractos que se probaron disminuyeron la glucosa, siendo estos valores menores a los de la SSI.

Se puede observar que los extractos de los 10, 15, 25 y 30 días después de anéctis son los que tienen un mejor efecto hipoglucémico ya que su disminución fue similar a la de la glibenclamida. Siendo el de los 15 días el que muestra un comportamiento casi igual al medicamento (en la gráfica, línea amarilla y anaranjada respectivamente). Mientras que los frutos a los 40 y 45 días aunque sí presentaron una disminución de glucosa, dicha disminución fue menor y su comportamiento no es similar al medicamento. Este efecto hipoglucémico del chilacayote ha sido corroborado por diferentes grupos de investigadores (Román-Ramos et al. 1995; Acosta-Patiño et al. 2001; Alarcón-Aguilar et al. 2002) y en un trabajo más reciente se comparó dicho efecto en frutos provenientes de diferentes regiones de

México (Moya-Hernández et al. 2018) sin embargo en ninguno de ellos se había comparado este efecto en los diferentes estados desarrollo de este fruto como es el caso.

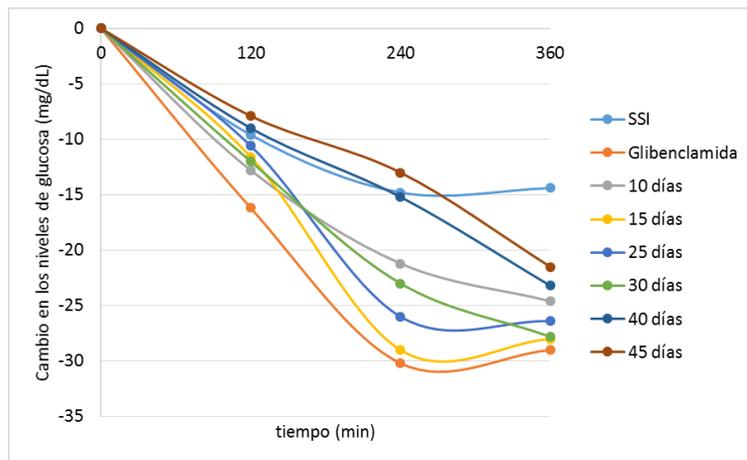


Figura 1. Disminución de glucosa después de administrar los diferentes tratamientos de *C. ficifolia*.

En la tabla 1 se muestra el análisis estadístico y se puede observar que los extractos de los días 10, 15, 25 y 30 no presentan diferencia significativa con la glibenclamida en ninguno de los tres tiempos en que se midió la glucosa, es decir, su efecto hipoglucémico es el mismo que el medicamento, mientras que en los extractos de 40 y 45 días solo se presentó este comportamiento a los 360 min.

Cabe destacar que el extracto de los frutos a los 15 días de desarrollo fue el único que presentó diferencia significativa con la solución salina isotónica en los tres tiempos, en el extracto de 25 días solo fue a los 120 y 240 min ya que a los 360 min aunque presentó comportamiento similar a la glibenclamida, no presentó una diferencia significativa con la SSI y el extracto a los 30 días, únicamente presentó diferencia significativa con la SSI a los 360 min.

Aunque ningún extracto presentó diferencia significativa con la glibenclamida como en otros estudios en donde se reporta que el extracto fue mejor que el medicamento (Román-Ramos et al. 1995; Alarcón-Aguilar et al. 2002), esto puede deberse a que el medicamento utilizado en esas investigaciones fue la tolbutamida, siendo esta de primera generación mientras que la glibenclamida es de segunda generación, además la glibenclamida es 100 veces más potente que la tolbutamida (Moreno Pérez et al. 2008). Por lo tanto se podría decir que el chilacayote también es 100 veces más potente que la tolbutamida, además este fruto no tiene efectos secundarios como el medicamento.

Tabla 1. Efecto hipoglucémico de los extractos en diferentes estados de desarrollo de *C. ficifolia*

$\Delta G = \text{Glucosa en sangre en } t_i - \text{Glucosa en sangre en } t_0$			
	$t_i = 120 \text{ min}$	$t_i = 240 \text{ min}$	$t_i = 360 \text{ min}$
SSI	$-9,6 \pm 1,3^b$	$-14,8 \pm 4,1^b$	$-14,4 \pm 3,8^b$
Glibenclamida	$-16,2 \pm 6,8^a$	$-30,2 \pm 7,4^a$	$-29,0 \pm 4,9^a$

10 días	-12,8 ± 3,7 ^{ab}	-21,2 ± 2,3 ^{ab}	-24,6 ± 5,9 ^{ab}
15 días	-11,6 ± 6,9 ^a	-29,0 ± 9,7 ^a	-28,0 ± 8,7 ^a
25 días	-10,6 ± 5,0 ^a	-26,0 ± 1,9 ^a	-26,4 ± 4,5 ^{ab}
30 días	-12,0 ± 4,5 ^{ab}	-23,0 ± 3,3 ^{ab}	-27,8 ± 4,3 ^a

40 días	-9,0 ± 4,6 ^b	-15,2 ± 4,3 ^b	-23,2 ± 6,6 ^{ab}
45 días	-7,9 ± 4,6 ^b	-13,0 ± 4,1 ^b	-21,5 ± 9,4 ^{ab}

Letras diferentes significa que hay una diferencia significativa entre los tratamientos (p<0.05)

CONCLUSIÓN

El único extracto que presentó diferencias significativas en los tres tiempos después de la administración de los tratamientos con respecto a la SSI fue el de los frutos de 15 días después de anéctis. Sin embargo en los extractos de 25 y 30 días también se observó un comportamiento similar.

Estos resultados muestran que aunque algunos extractos presentaron un mayor efecto que otros, el chilacayote disminuye los niveles de glucosa en sus diferentes estados de desarrollo. Aunque se tiene corroborado el importante efecto hipoglucémico del chilacayote, con estos resultados se conoce el estado de desarrollo preciso en donde este efecto es mayor y así se puede promover el consumo de este fruto en dicho estado. También al conocer estos datos se sabe que frutos utilizar para la elaboración de un nutraceutico.

BIBLIOGRAFÍA

Acosta-Patiño, J.L. et al., 2001. Hypoglycemic action of *Cucurbita ficifolia* on Type 2 diabetic patients with moderately high blood glucose levels. *Journal of Ethnopharmacology*, 77, pp.99–101.

Alarcón-Aguilar, F.J. et al., 2002. Evaluation of the hypoglycemic effect of *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae) in different experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 82, pp.185–189. Available at: www.elsevier.com/locate/jethpharm.

Alfaro, J., Simal, A. & Botella, F., 2000. Tratamiento de la diabetes mellitus. *Sistema Nacional de Salud*, 24(2), pp.33–43.

Banderas-Dorantes, T.R. et al., 2012. Influence of two hypoglycemic Cucurbitaceae (*Cucurbita ficifolia* Bouché and *Ibervillea sonora* Greene) on ATP-sensitive potassium channels in rat aortic rings. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 11(6), pp.510–519.

Díaz-Flores, M. et al., 2012. Effect of an aqueous extract of *Cucurbita ficifolia* Bouché on the glutathione redox cycle in mice with STZ-induced diabetes. *Journal of Ethnopharmacology*, 144(1), pp.101–108. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.036>.

Fortis-Barrera, Á. et al., 2013. *Cucurbita ficifolia* Bouché (Cucurbitaceae) and D-chiro-inositol modulate the redox state and inflammation in 3T3-L1 adipocytes. *Pharmacy and pharmacology*, 65, pp.1563–1576.

García Luján, C. et al., 2009. Uso de plantas medicinales y suplementos dietéticos para el control glucémico de la diabetes. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*, 8, pp.229–239.

INEGI, 2017. *Estadísticas a Propósito Del Día De Muertos*, México. Available at: http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2017/muertos2017_Nal.pdf.

López Luengo, M.T., 2006. Plantas medicinales con actividad hipoglucemiante. *Ambito farmacéutico Fitoterapia*, 25, pp.82–88.

Martínez-Gamboa, M. & Sánchez-Díaz, M. de los R., 2013. Importancia de algunas frutas, verduras y hortalizas en la prevención de la diabetes mellitus tipo II. *Revista Iberoamericana para la investigación y el Desarrollo Educativo*, 3, pp.186–202.

Moreno Pérez, O. et al., 2008. Glinidas. Revisión de su uso terapéutico en la diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinología y Nutrición*, 55(2), pp.26–33. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575092208762600>.

Moya-Hernández, A. et al., 2018. Analysis of genetic diversity of *Cucurbita ficifolia* Bouché from different regions of Mexico, using AFLP markers and study of its hypoglycemic effect in mice. *South African Journal of Botany*, 116, pp.110–115. Available at: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S025462991731596X> [Accessed March 20, 2018].

Moya-Hernández, A., 2015. *Caracterización Molecular de Frutos de Chilacayote (Cucurbita ficifolia Bouché) Mediante la Técnica AFLP*. Universidad Autónoma Metropolitana.

OMS, 2017. Las 10 principales causas de defunción. , p.3. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/> [Accessed March 4, 2018].

Roman-Ramos, R. et al., 2012. Antioxidant and anti-inflammatory effects of a hypoglycemic fraction from *Cucurbita ficifolia* Bouché in streptozotocin-induced diabetes mice. *The American journal of Chinese medicine*, 40(1), pp.97–110. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22298451>.

Román-Ramos, R., Flores-Sáenz, J.L. & Alarcón-Aguilar, F.J., 1995. Anti-hyperglycemic effect of some edible plants. *Ethno pharmacology*, 48, pp.25–32.

Sarmiento Rubiano, L.A., 2006. Alimentos funcionales, una nueva alternativa de alimentación. *Revista Orinoquia*, 10(1), pp.16–23.

Villarreal-Ibarra, E.C. et al., 2015. Evaluación etnofarmacológica de plantas con propiedades hipoglucémicas usadas en la medicina tradicional del sureste de México. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 14(2), pp.99–112.

Xia, T. & Wang, Q., 2006a. Antihyperglycemic effect of *Cucurbita ficifolia* fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Fitoterapia*, 77, pp.530–533. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2012.08.036>.

Xia, T. & Wang, Q., 2006b. D-chiro-Inositol found in *Cucurbita ficifolia* (Cucurbitaceae) fruit extracts plays the hypoglycaemic role in streptozotocin-diabetic rats. *Pharmacy and pharmacology*, 58, pp.1527–1532.

