

## Efecto del extracto etanólico de *Swietenia humilis* (caobilla) sobre el desarrollo embrionario en ratas diabéticas

Chirino Galindo Gladys\*, Palma Ríos Enrique, Palomar Morales Martín

UNAM, Facultad de Estudios Superiores Iztacala, Departamento de Biología. Avenida de los Barrios No. 1, Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México, C.P. 54090, México.

\*Autor para correspondencia: ggmchpp@gmail.com

### Recibido:

19/julio/2021

### Aceptado:

23/octubre/2021

### Palabras clave:

Teratogénesis,  
*Swietenia humilis*,  
embrioprotección

### Keywords:

Teratogenesis,  
*Swietenia humilis*,  
embryoprotection

### RESUMEN

La coexistencia de diabetes mellitus y embarazo provoca pérdida de gestación, retraso de desarrollo y malformaciones. Frecuentemente, la población utiliza herbolaria para tratar problemas de salud, por lo que el propósito de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto etanólico de *Swietenia humilis* sobre el desarrollo embrionario. Ratas hembra preñadas fueron inducidas a diabetes química el día 4 de gestación, o consideradas control, y durante la gestación se trataron con extracto etanólico de la planta o vehículo. A término, las ratas se sacrificaron y se obtuvieron los fetos, que se sometieron a análisis morfológico, y de algunos órganos, se realizó análisis histológico. En suero sanguíneo se determinó la concentración de colesterol, glucosa y triglicéridos. El extracto de *S. humilis* reduce el porcentaje y severidad de las malformaciones producidas por la diabetes inducida en ratas preñadas, así como los niveles de colesterol, glucosa y triglicéridos en suero sanguíneo materno.

### ABSTRACT

The coexistence of diabetes mellitus and pregnancy causes loss of pregnancy, developmental delay and malformations. Frequently, the population uses herbalism to treat several health problems; for this reason, the purpose of this work was to evaluate the effect of ethanolic extract of *Swietenia humilis* over embryonic development. Pregnant female rats were induced to chemical diabetes on day 4 of gestation, or considered control; and along pregnancy they were treated with the ethanolic extract from the plant or vehicle. At term, the rats were sacrificed and fetuses were obtained, which were subject of morphological analysis, and in some organs, histological analysis was performed. In blood serum, the concentration of cholesterol, glucose and triglycerides was determined. It was found that *S. humilis* extract reduces the percentage and severity of malformations caused by induced diabetes in pregnant rats as well as cholesterol, glucose and triglyceride levels in maternal blood serum.

## Introducción

La diabetes es reconocida como un problema sanitario grave, ya que a menudo resulta en incremento de la morbimortalidad. La diabetes es la cuarta causa de muerte en la mayoría de los países desarrollados, pero también es una nueva epidemia para los países en vías de desarrollo y aquellas naciones recientemente industrializadas. Se ha estimado que la esperanza de vida de individuos con diabetes se reduce entre 5 y 10 años (Barba, 2018).

En México, un problema de salud como la diabetes se puede atribuir, entre otros factores, a las condiciones socioeconómicas de las personas. Sin embargo, en las políticas de salud han predominado las soluciones centradas en el tratamiento de la enfermedad, sin incorporar adecuadamente intervenciones dirigidas a las "causas de las causas", tales como, las acciones sobre el entorno social (López y Avalos, 2013).

La diabetes pregestacional o franca es aquella diabetes conocida previamente a la gestación, ya sea DM1, DM2 o intolerancia a los carbohidratos. Durante el embarazo normal se producen cambios metabólicos por un aumento de la resistencia a la insulina, probablemente debido al lactógeno placentario. Se produce una hiperinsulinemia compensadora, a pesar de la cual los niveles de glucemia posprandial aumentan de forma significativa a lo largo del embarazo. Hacia el tercer trimestre, la glucemia en ayunas desciende por aumento del consumo de glucosa por la placenta y el feto. En la paciente con diabetes mellitus pregestacional puede aparecer cetoacidosis, si no ajusta su dosis de insulina conforme suben los requerimientos de esta, particularmente en la DM1 (Contreras-Zúñiga et al., 2008).

Las alteraciones en los hijos de madres diabéticas dependen de la gravedad de la diabetes, el grado de descontrol metabólico y el momento de la gestación en la que se inicia la diabetes. Cuando la madre es diabética antes de la gestación existe mayor incidencia de abortos espontáneos, mortalidad perinatal y malformaciones congénitas (Polanco et al., 2005).

Las malformaciones congénitas son de 2 a 4 veces más frecuentes en mujeres gestantes con DM. Un pobre control metabólico en las primeras semanas de gestación se ha relacionado con la presencia de malformaciones. La mayor parte de las malformaciones congénitas en hijos de madres diabéticas ocurre entre la cuarta y séptima semanas de gestación, un periodo crítico en el desarrollo (Contreras-Zúñiga et al., 2008).

En general es importante considerar que tanto la diabetes como la gestación pueden producir estrés

oxidativo. La interacción de estas situaciones de adaptación metabólica pudiera estar relacionada con algunas de las complicaciones que aparecen durante la gestación en las mujeres con diabetes pregestacional como son: preeclampsia, alteraciones de la placenta y malformaciones en la descendencia (Nazer et al., 2005).

Varios estudios han aportado evidencias de que un exceso de glucosa puede causar efectos embriotóxicos a través de la generación de ERO, o a través de la liberación o catabolismo del ácido araquidónico, prostaglandinas o mio-inositol (Clapés, 2000).

Debido a que incluso el tratamiento insulínico y un adecuado control glicémico durante la gestación no garantizan la ausencia de dificultades durante el embarazo, se han buscado otras alternativas, por ello es que recientemente se han buscado tratamientos complementarios al uso de insulina para revertir o evitar las malformaciones y defectos en los fetos de mujeres con este padecimiento (Nazer et al., 2005).

Una de esas opciones es el uso de extractos, infusiones, pomadas, etc., de plantas tradicionalmente empleadas por algunos grupos poblacionales de origen indígena, para el alivio de los síntomas y signos de varias enfermedades, entre las que se encuentra la diabetes. Particularmente, la semilla de *Sweetenia humilis* (conocida comúnmente como caobilla, cóbano, gateado, venadillo y zapatón, entre otros nombres) se usa comúnmente en la medicina tradicional y se le atribuyen propiedades astringentes, antitumorales, hipoglucemiantes y anticancerígenas (Vázquez, 2011). Dicha semilla tiene un alto contenido de saponinas, isoflavonas y flavonoides, además de su uso tradicional como un auxiliar en el tratamiento de la diabetes mellitus.

El propósito de este trabajo fue utilizar el extracto etanólico de *S. humilis* con el fin de encontrar una alternativa segura que reduzca los problemas causados por la DM presente en la gestación, ya que se espera que debido a su composición química, pueda contrarrestar algunos efectos nocivos que la inducción química de diabetes produce sobre el desarrollo embrionario, en roedores de laboratorio.

## Metodología

### Colecta y tratamiento de las semillas

Se obtuvo 1 kg de semillas de *S. humilis* en el mercado de Sonora de la Ciudad de México, y se llevaron al laboratorio de metabolismo de diabetes mellitus de la FES Iztacala. Las semillas se pelaron y secaron a la sombra durante 15 días, transcurrido el tiempo se pesaron; y se obtuvieron 300 g de semillas deshidratadas.

### Obtención del extracto

Una vez secas, las semillas, se sometieron a maceración, de acuerdo con el método descrito por Angulo-Escalante et al. (2009). Se molieron los 300 g de semillas deshidratadas en una licuadora comercial; del pulverizado obtenido se pesaron 150 g y se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 2 L. Se adicionaron 1.5 L de etanol/agua (7:3, v:v) y se mantuvieron en reposo, en ausencia de luz, y a temperatura ambiente por una semana. El macerado se filtró con papel filtro Whatman No 5, y se evaporó en un rotavapor Buchi a presión reducida y temperatura controlada, no mayor a 50°C.

### Análisis fitoquímico

Se realizaron pruebas cualitativas con el propósito de verificar la presencia de algunos metabolitos secundarios en el extracto, con objeto de verificar la presencia de alcaloides, saponinas, triterpenos y flavonoides en el extracto, las pruebas se realizaron de acuerdo al Manual de Introducción al análisis de productos naturales publicado por Barba (1997).

### Prueba biológica en animales

Se obtuvieron del Bioterio General de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala 30 ratas hembras, sanas, de la cepa *Wistar*, de 10-11 semanas de edad, con un peso de 250-300 g, y se aclimataron en el mismo bioterio a condiciones ambientales (temperatura, humedad, ciclo periodo, etc.) controladas, con agua y alimentación (nutricubos Enviro S2018) *ad libitum*. Las hembras fueron alojadas con ratas macho de la misma cepa, fértiles, toda la noche, con la finalidad de promover el coito. A la mañana siguiente se realizó un frotis vaginal en el cual la presencia de espermatozoides determinó el día 0 de gestación.

Las ratas preñadas se asignaron al azar en 6 grupos de 5 individuos cada uno. El grupo control (Ctr) fue tratado con una inyección i.p. de amortiguador de citratos 100 mM, pH 4.5 en el día 4 de gestación, y a partir del día 5 hasta el día 18 del sacrificio se les administró solución salina por vía intragástrica. El segundo grupo (DM) fue inducido a manifestar diabetes química con estreptozotocina (STZ) a dosis de 60mg/kg de peso, disuelta en amortiguador de citratos en el día 4 de gestación por vía i.p., y a partir del día 5 hasta el día 18 se les administró solución salina por vía intragástrica. Los dos grupos con tratamiento fueron tratados i.p. con STZ 60 mg/kg en amortiguador de citratos en el día 4 de gestación y a partir del día 5 hasta el día 18 se les administró el extracto de *S. humilis* en dosis de 100 y 200 mg/kg por vía intragástrica, respectivamente, y fueron llamados DM+100 y DM+200. A los dos últimos grupos se les administró amortiguador de citratos i.p. en el día 4 de

gestación, posteriormente para verificar que el extracto no producía ningún tipo de toxicidad, desde el día 5 hasta el día 18 se les administraron respectivamente las dosis de 100 y 200 mg/kg de extracto, igualmente por vía intragástrica, y se denominaron Ext100 y Ext200.

### Sacrificio y obtención de muestras

Las hembras fueron anestesiadas en el día 19 de gestación por sobredosis de pentobarbital sódico (50 mg/kg i.p.), y se obtuvo la mayor cantidad de sangre por punción cardiaca; posteriormente se sacrificaron por dislocación cervical. Se extrajeron los dos cuernos uterinos con los ovarios mediante laparotomía, y fueron colocados en solución salina en frío. Los cuernos uterinos se abrieron longitudinalmente, y se obtuvieron los fetos, los cuales se contaron, se pesaron en una balanza semi analítica, se midieron con una regleta Vernier y fueron fijados en solución Bouin. Se registraron posibles reabsorciones, y fetos con anomalías morfológicas evidentes.

### Pruebas bioquímicas

La sangre obtenida se centrifugó durante 5 minutos a 3000 rpm para la obtención de suero, el cual se congeló a -20°C, para posteriormente realizar la determinación de los siguientes parámetros, que se llevaron a cabo con ayuda de estuches comerciales: glucosa (Spinreact 1001150), colesterol total (EliTech CHSL-5505), y triglicéridos (EliTech TGML-5414), respectivamente, de acuerdo a los instructivos insertos en los estuches. Las reacciones de color fueron monitoreadas en un espectrofotómetro Jenway 6305 (glucosa) o en un lector de microplacas Sunrise Tecan (colesterol y triglicéridos).

### Observación de fetos y determinación de malformaciones

Dos días después de fijados, los fetos fueron recuperados del fluido de Bouin, y se enjuagaron con agua corriente, se transfirieron a alcohol al 70% y fueron analizados mediante cortes gruesos a nivel cefálico y torácico, por la técnica de Wilson, modificada por Barrow y Taylor (1969) para posteriormente ser observados al microscopio estereoscópico Leica L2, y se tomaron fotografías, con una cámara Moticam 5.

### Preparación y observación de cortes histológicos

Una tercera parte de los fetos extraídos en día 19 de cada grupo fueron almacenados en formol durante una semana para realizarles las técnicas histológicas correspondientes. Los órganos fijados fueron sometidos a deshidratación con concentraciones crecientes de alcohol etílico, después a aclaramiento con alcohol amílico, y por último se embebieron en parafina, y se incluyeron.

Los cubos de parafina posteriormente fueron cortados en un microtomo de rotación Leica RM2125 RTS a 5-6  $\mu\text{m}$ , y las secciones se colectaron y colocaron en portaobjetos gelatinizados. Las laminillas se tiñeron por la técnica de tinción de hematoxilina y eosina (H y E) de rutina. Una vez seca la resina con la que se fijó el cubreobjetos, se observaron en el microscopio óptico Leica DM500, y se tomaron fotos con una cámara digital Leica EC3 acoplada al microscopio. Las fotografías se analizaron con el software Las EZ Leica.

### Consideraciones éticas

Todos los procedimientos realizados se llevaron a cabo de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999; el Proyecto fue evaluado y aprobado por el personal académico del bioterio de la FES Iztacala.

### Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de tamaño de camada, peso, talla y parámetros bioquímico-clínicos se analizaron mediante ANOVA simple, seguido de prueba de Tukey cuando fue necesario; en Excel para Windows 2010.

## Resultados y discusión

### Análisis fitoquímico

Se realizaron pruebas fitoquímicas para detectar metabolitos secundarios en el extracto, los resultados se pueden ver en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Resumen de los resultados de las pruebas fitoquímicas realizadas en el extracto.

Prueba realizada	Resultado	Interpretación
Alcaloides	No hubo cambio	Negativo
Saponinas	Espuma estable	Positivo
Triterpenos	Color rojizo	Positivo
Flavonoides	Color amarillento	Positivo

La semilla de *S. humilis* se ha usado durante años como remedio natural contra la diabetes por su efecto hipoglucemiante. En este trabajo se demostró presencia de saponinas, triterpenos y flavonoides en el extracto, pero no de alcaloides, como lo menciona Lobato (2016). Debido a la presencia de flavonoides en la semilla se puede atribuir al extracto un efecto antioxidante, ya que es una de las características de estos metabolitos. Estos resultados están de acuerdo con lo reportado por autores como Lobato (2016) y Flores et al., en (2017), los cuales midieron el efecto antioxidante mediante el método de DPPH, demostrando que la semilla de *S. humilis* presenta actividad antioxidante, aunque ésta es baja (Dra. Elizabeth Guzmán, comunicación personal).

### Efecto del extracto de *S. humilis* en el desarrollo embrionario de la rata

El día del sacrificio, se determinó el tamaño de camada simplemente contando los fetos de cada hembra, así como la presencia de reabsorciones y de malformaciones gruesas.

El tamaño de camada en las ratas tratadas con STZ fue menor que en los demás grupos, pero no hubo diferencia estadística. Los fetos obtenidos de las madres diabéticas presentaron malformaciones y en la camada hubo un mayor número de reabsorciones (Tabla 2). En cuanto a las malformaciones, las cinco ratas del grupo DM presentaron crías con anomalías.

Entre éstas, se encuentran hidramnios (afección que ocurre cuando se acumula mucho líquido amniótico durante el embarazo) con 8 crías, seguido de exencefalia (malformación en la cual el cerebro está situado fuera del cráneo) con 4 y finalmente protrusión de lengua en 3 crías (figura 1). Por otra parte, las reabsorciones se presentaron mayormente en el grupo DM (todas las ratas preñadas de este grupo presentaron reabsorciones) con un promedio de 3.8 reabsorciones por rata, también se observaron reabsorciones en los grupos DM+100 mg/kg y en el ST+200 mg/kg (en ambos solo se presentaron en una rata).

**Tabla 2.** Tamaño de camada y porcentaje de reabsorciones y malformaciones en ratas preñadas y tratadas con STZ y extracto de *S. humilis*. Promedio  $\pm$  E.E.M. de al menos cinco camadas por grupo. \*P < 0.05 con respecto al control.

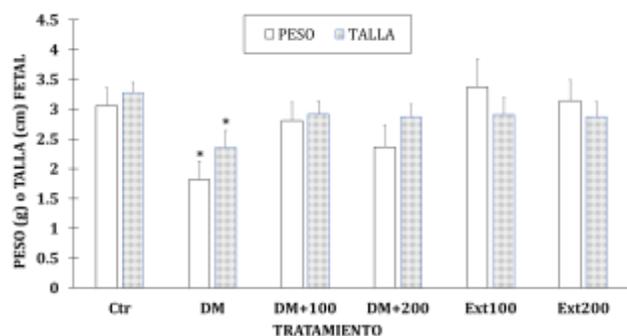
	Tamaño de camada	Porcentaje de reabsorciones	Porcentaje de malformaciones
Control	9.0 $\pm$ 1.0	0.0	0.0
DM	7.0 $\pm$ 1.5	44.5 $\pm$ 2.2*	39.5 $\pm$ 3.02*
DM+100	8.4 $\pm$ 0.5	5.0 $\pm$ 1.0*	0.0
DM+200	9.6 $\pm$ 2.0	0.0	0.0
ST+100	11.8 $\pm$ 1.2	0.0	0.0
ST+200	11.0 $\pm$ 1.4	2.0 $\pm$ 0.5	0.0

En cuanto a la morfología de los fetos obtenidos, se pudo observar un posible efecto protector ya que a los grupos que se les administró el tratamiento, ninguno de ellos presentó malformaciones ni cambios en su morfología interna, concordando con el efecto protector que presenta Lobato (2016), sólo los fetos del grupo diabético presentaron malformaciones como hidramnios, exencefalia y protrusión de lengua, todas estas anomalías están asociadas a la diabetes como lo describe Clapés (2000).



**Figura 1.** Algunas malformaciones gruesas encontradas en fetos con DM inducida químicamente. De izquierda a derecha, un feto de grupo control con apariencia morfológica normal, un feto de grupo DM con exencefalia, un feto de grupo DM con exencefalia y protrusión de lengua, y un feto de grupo Ext100 con peso y talla normal.

Se midió la longitud y peso de cada uno de los fetos de cada camada extraídos, se obtuvieron los promedios correspondientes a peso y talla de cada grupo. El peso de los fetos del grupo diabético tratado sólo con STZ es mucho menor que los demás grupos, contrario a los que se le suministró el extracto, ya que éstos presentaron un peso más cercano al obtenido en el grupo control. Por otro lado, las ratas preñadas que fueron tratadas sólo con el extracto en dosis de 100 y 200 mg/kg mostraron un peso incluso mayor al del grupo control, pero no fue diferente estadísticamente (figura 2).



**Figura 2.** Peso y talla de los fetos obtenidos de ratas gestantes tratadas con STZ y/o extracto de *S. humilis*. Promedio  $\pm$  EEM de los fetos obtenidos de cinco camadas (34-57 fetos). \* $P < 0.05$  con respecto al grupo control.

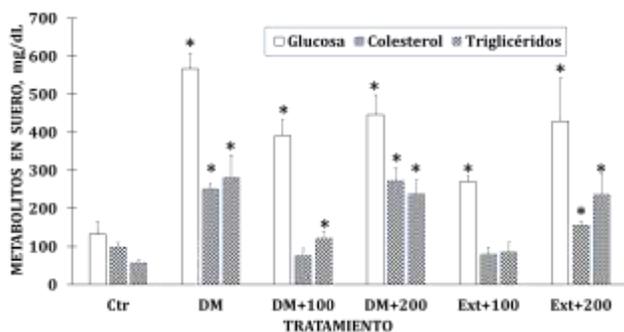
En cuanto a la longitud, se observó igualmente que el grupo diabético tratado solo con STZ presentó una longitud menor en comparación con los demás grupos (Figura 2), cabe resaltar que nuevamente el grupo control presentó una longitud mayor, pero cuando se comparó con los grupos a los que se le administró tratamiento no se presentó una diferencia tan notoria. Al

igual que en el peso, éste fue significativamente menor en los fetos del grupo DM con respecto al control, pero no entre los grupos diabéticos o controles tratados con el extracto, comparados al control.

Al igual que en los humanos, la diabetes materna afecta al desarrollo de los fetos de rata, ya que produce un aumento en la frecuencia de reabsorciones, disminución del número de crías por camada, disminución en su peso y talla y aumento en la frecuencia de malformaciones congénitas (Palomino et al., 1998). De manera similar, en este trabajo, las ratas diabéticas presentaron las mismas características, en comparación con las ratas a las que se les administró el tratamiento, ya que se observaron cifras en cuanto a talla y peso más cercanas a las del grupo control, e incluso los grupos a los que solo se les administró tratamiento en dosis de 100 y 200 tuvieron un peso mayor a los del grupo control. Este aumento de peso concuerda con lo publicado por Reynoso-Orozco y cols. (2017), en el cual menciona también un aumento de peso en sus ratas, que podría deberse al alto contenido de proteínas lípidos carbohidratos y minerales que contiene la semilla de *S. humilis*.

Por otra parte, de los parámetros bioquímico-clínicos evaluados, el grupo diabético mostró una mayor cantidad de glucosa comparada tanto con el grupo control como con los demás grupos; los grupos diabéticos a los que se les administró tratamiento tuvieron menores concentraciones de glucosa, siendo el tratamiento de 100 mg/kg de extracto el que mostró mejores resultados al disminuir más la concentración de glucosa en suero materno, pero es de destacar que aunque los disminuyó aún son más elevados que el grupo control (figura 3), por lo cual se podría indicar que el extracto etanólico de *S. humilis* tiene un efecto hipoglucemiante en ratas. Cabe resaltar que los grupos a los que solo se les administró el tratamiento, también mostraron niveles más altos de glucosa que el control, lo cual podría deberse a los cambios propios de la gestación.

El colesterol en suero sanguíneo de ratas preñadas, como se observa en la Figura 3, mostró niveles más altos en el grupo DM en comparación a los demás tratamientos, el grupo con tratamiento en dosis de 100 mg/kg redujo los niveles de colesterol manteniéndolos en rangos normales, mientras que la dosis de 200 mg/kg los elevó aún más que al Grupo Diabético, por otro lado los grupos a los que solo se les administró tratamiento mostraron niveles normales de colesterol en ratas, aunque nuevamente el grupo de 200 mg/kg tuvo concentraciones más elevadas. Por lo cual se podría indicar que el tratamiento de 100 mg/kg de extracto etanólico de *S. humilis* es el que mostró mejores resultados ya que pudo disminuir los niveles de colesterol hasta un rango normal.



**Figura 3.** Parámetros bioquímico-clínicos determinados en suero de ratas preñadas, inducidas a diabetes química y tratadas con extracto de *S. humilis*. Promedio  $\pm$  EEM de 5 determinaciones individuales. \* $P < 0.05$  con respecto al grupo control.

Por otro lado, los niveles de triglicéridos del grupo diabético también son mayores en comparación con los demás grupos, como se puede observar en la figura 3, mientras que los grupos diabéticos con tratamiento de 100 y 200 redujeron los niveles, cabe resaltar que los grupos DM, DM+200 y Ext200 muestran niveles altos, esto podría deberse a la dosis de 200 mg/kg del extracto ya que las dosis de 100 mg/kg tanto el grupo DM+100 como el Ext100 presentaron buenos resultados, manteniendo los rangos en un estatus óptimo aunque aun así ligeramente más altos que el grupo control. Por lo cual se podría indicar que nuevamente el tratamiento de 100 mg/kg de extracto etanólico de *S. humilis* obtuvo mejores resultados debido a que disminuyó los niveles de triglicéridos en suero sanguíneo manteniéndolos en un estatus normal.

La semilla de *S. humilis* se ha usado durante años como remedio contra la diabetes, esto debido a su contenido de metabolitos secundarios como los flavonoides, esto se explica por la habilidad de interactuar con los radicales libres y acoplarse a ellos, como lo menciona Lobato (2016), aunque actualmente no se sabe si son los flavonoides o una interacción con otros metabolitos secundarios los responsables de dicho efecto. Comparando con lo realizado por Lobato en 2016 su extracto presentó también un efecto hipoglucemiante aunque cabe resaltar que las concentraciones usadas en su trabajo fueron mayores, por otro lado lo publicado por Reynoso-Orozco et al. (2017), fue contrario ya que él indica que el extracto de *S. humilis* no tiene ningún efecto hipoglucemiante; el efecto hipoglucemiante aún se encuentra en discusión por lo cual sería importante seguir con investigaciones con respecto a este efecto. La concentración del extracto que mostró mayor efectividad fue el de 100 mg/kg.

En cuanto a los niveles de triglicéridos nuevamente el extracto de 100 mg/kg fue el más efectivo, pues bajó los

niveles de triglicéridos de las ratas diabéticas en tratamiento a niveles normales, al igual que lo presentado por Lobato (2016), donde también presento este efecto. Con respecto a los niveles de colesterol igualmente bajaron los grupos a los que se les administro tratamiento a niveles normales. Igualmente, la dosis de 100 mg/kg fue la que presento mejores resultados. La dislipidemia es la elevación anormal de concentración de grasas en la sangre (colesterol, triglicéridos, colesterol HDL y LDL), este trastorno es un padecimiento común en pacientes diabéticos.

En caso de mal control metabólico, los pacientes con DM1 pueden presentar incremento en triglicéridos plasmáticos, debido al aumento en la producción de lipoproteína de muy baja densidad (very low-density lipoprotein-VLDL), promovida por la mayor concentración de ácidos grasos libres circulantes, secundario a la deficiencia relativa de insulina. Estos pacientes también presentan niveles de colesterol de la lipoproteína de baja densidad (low-density lipoprotein-cLDL) elevados comparados con individuos no diabéticos y con pacientes con DM1 con buen control metabólico, sobre todo las mujeres (Pollak et al., 2007). Como lo menciona Villalta (2017) los pacientes con niveles altos de triglicéridos y colesterol tienen mayor probabilidad de desarrollar afecciones cardiovasculares, cerebrales, vasculares, pancreatitis. En la actualidad, como menciona Pollak et al. (2007) dos tercios de los pacientes portadores de DM fallecen por enfermedad coronaria, cerebrovasculares o por una complicación asociada a enfermedad vascular periférica.

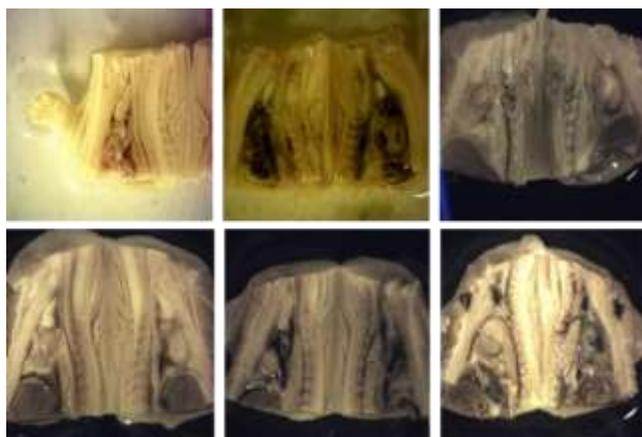
### Determinación morfológica e histológica del efecto del extracto de *S. humilis*

Para el estudio morfológico se realizaron los cortes morfológicos como se describieron anteriormente. En la Figura 4 se muestran los cortes de paladar de los diferentes grupos. En los cortes del grupo control se puede observar el paladar intacto, en buenas condiciones, sin embargo en el grupo con DM se observan algunos fetos con daño en paladar y regiones cerebrales, mientras que en los demás grupos se observan paladares sin afecciones aparentes.

En la zona del corazón y pulmones, se muestra que el grupo control mostro corazón y pulmones en buen estado, sin daños aparentes, mientras que en el grupo DM se observan daños tanto en la zona del corazón como en los pulmones, por otro lado, los demás grupos DM+100 y DM+200 se observan sin daños aparentes, mientras que los grupos Ext100 y Ext200 se observan ligeros daños en la zona, pero estos daños pueden ser por efecto del corte o tratamiento de las muestras y no por efecto de la diabetes o el extracto. Los cortes se observan en la fig. 5.

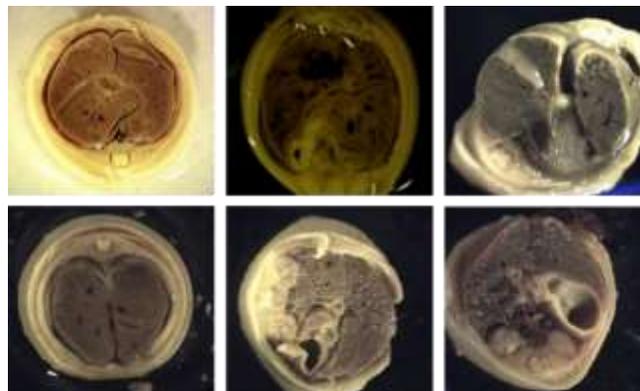


**Figura 4.** Paladar de fetos. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. Se observa daño solamente en paladar de fetos de ratas DM; mientras que en los otros grupos con tratamiento (DM y/o extracto) no se observa daño.



**Figura 5.** Zona del corazón y pulmones de fetos. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. Se observa daño solamente en los fetos de ratas DM; mientras que en los otros grupos no se observa daño.

Finalmente, en la Figura 6 se pueden observar los cortes de hígado, donde se muestra que los grupos control, DM+100, DM+200, Ext+100 y Ext+200 muestran órganos aparentemente sanos y sin daños aparentes, a diferencia del grupo DM donde se muestran daños causados en el hígado, una probable esteatosis (daños causados por hígado graso), mostrando una posible protección del extracto en ambas dosis ante los daños causados por la diabetes.

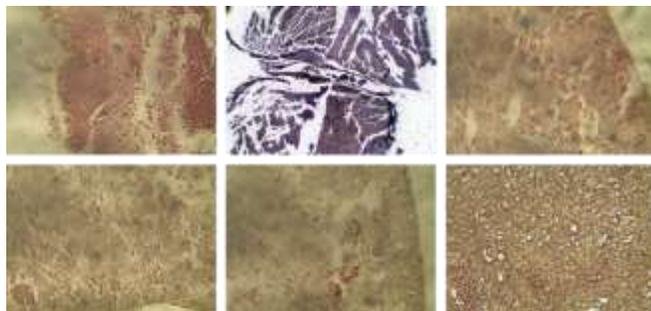


**Figura 6.** Hígado fetal. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. Se observa daño solamente en hígado fetal de ratas DM; mientras que en los otros grupos no se observa daño.

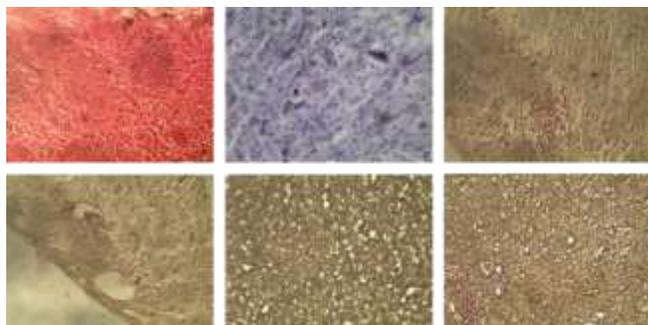
Los resultados encontrados no son tan esperanzadores como cabría esperar, ya que indican que el extracto, a pesar de revertir los daños morfológicos gruesos e internos, no protege completamente de los efectos nocivos causados por la diabetes, a diferencia de otros extractos con los que nuestro grupo ha trabajado, como el de *Buddleja cordata* (tepezán), del cual se encontró que no solamente revierte el daño morfológico, sino que mejora parcialmente la alteración causada por la diabetes sobre la bioquímica clínica, además de que protege a los órganos (corazón, hígado, cerebro) de los daños causados por la DM (López, 2017).

En cuanto a la ultraestructura histológica del cerebro, se encontró, que los fetos del grupo control como los fetos de los grupos a los que se les administro extracto, presentan estructura normal, las neuronas y células de la glía muestran apariencia normal; por otra parte, en cortes histológicos de fetos de ratas de los grupos con DM, con o sin extracto, se observa menor número de neuronas y células de la glía, así como una mayor cantidad de edema provocado por la hiperglucemia, siendo más notorio en el grupo diabético sin tratamiento (grupo DM).

En corazón, los fetos del grupo control, a nivel histológico se presenta una apariencia normal, las células conservan sus núcleos, al igual que a los grupos que se trataron únicamente con extracto de *S. humilis* en dosis de 100 y 200 mg/kg, en cambio en los grupos DM, DM+100 y DM+200 se observa lo que podría ser depósitos de lípidos y colesterol, lo que más adelante hubiera desencadenado ciertas cardiopatías asociadas con la diabetes como miocardiopatías, hipertensión arterial y problemas en el nacimiento, cabe resaltar que en el grupo diabético con dosis de 100 mg/kg son menos evidentes.

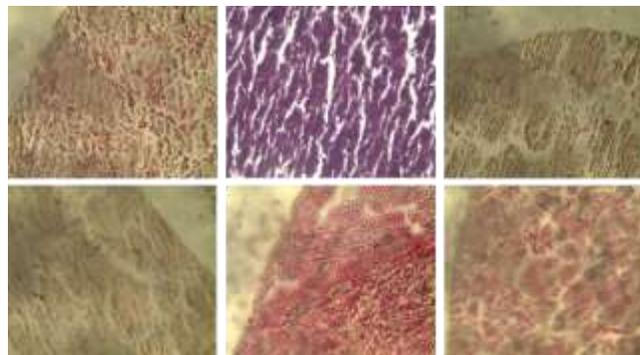


**Figura 7.** Cortes histológicos de cerebro de fetos de rata teñidos mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. En los cerebros fetales del grupo control se muestran neuronas y células de la glía de apariencia normal así como tejido conectivo, todo en apariencia normal, mientras que en los fetos del grupo DM, DM+100 y DM+200 se muestra disminución de células de la glía y axones así como presencia de edema, comparados con fetos control. En los fetos de los grupos Ext+100 y Ext+200 se observa tejido conectivo, células de la glía y neuronas de apariencia normal.



**Figura 8.** Cortes histológicos de corazón de fetos de rata teñidos mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. En los corazones de los fetos del grupo control se muestra parte del miocardio, además de células y parte del tejido muscular, todo de apariencia normal. En el corazón de fetos de los grupos DM, DM+100 y DM+200 se muestra parte del miocardio con depósitos de lípidos y colesterol. En corazones de fetos de los grupos Ext100 y Ext200 se observa una apariencia histológica normal.

Por último, en el hígado, tanto el grupo control como a los que solo se les administro el extracto, presentan condiciones normales, se observan hepatocitos nucleados y teñidos, de apariencia normal, mientras que los grupos DM, DM+100 y DM+200, se puede observar tejido graso, esto debido a una probable esteatosis, lo que podría desencadenar en un futuro un funcionamiento inadecuado del hígado, pudiendo provocar hígado graso o cáncer de hígado, cabe resaltar que al igual que con los otros órganos en el grupo de DM+100 mg/kg el posible daño es menor en comparación con el grupo de DM+200 mg/kg.



**Figura 9.** Cortes histológicos de hígado fetal de rata teñidos mediante la técnica de Hematoxilina y Eosina. Fila superior: Ctr, DM, DM+100; fila inferior: DM+200, Ext+100, Ext+200. En el hígado fetal control se observa la ultraestructura hepática normal, hepatocitos de apariencia sana. En los grupos DM, DM+100, DM+200, se observa apariencia de hígado graso (esteatosis), y en los grupos Ext100 y Ext200 se observa apariencia normal.

El daño de la diabetes materna sobre la economía embrio-fetal no ha sido determinado del todo. En modelos animales, muchos tratamientos a base de moléculas antioxidantes han sido empleados con éxito (vitaminas C y E, poliaminas, resveratrol, ácido alfa-linoleico, glicina, verbascósido, etc.); aunque el efecto de la diabetes mellitus inducida químicamente y/o de dichas moléculas antioxidantes sobre la histología neural, cardíaca y hepática fetal no ha sido estudiado del todo.

## Conclusiones

En base a lo anterior podemos deducir que el extracto etanólico de *S. humilis* metabolitos tiene presencia de metabolitos secundarios como alcaloides, saponinas, triterpenos y flavonoides; la administración de extracto etanólico de *S. humilis* a ratas sanas o con DM no causa efectos apreciables sobre la bioquímica clínica. Se descarta toxicidad del extracto, ya que no provocó daño en ratas sanas. La aplicación del extracto a ratas DM preñadas mejoró el pronóstico del desarrollo embrionario y previno la aparición de malformaciones, sin afectar el desarrollo embrionario en ratas sanas.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer al personal del bioterio, M.V.Z. Olga Leticia Flores Sánchez, Biól. Tomás Ernesto Villamar Duque y M. en C. Fernando Barrón Moreno, las facilidades para la elaboración del proyecto.



## Referencias

- Angulo-Escalante M.A., Armenta-Reyes E., García-Estrada R.S., Carrillo-Fasio J.A., Salazar-Villa E., Valdéz-Torres J.B. (2009). Extractos de la semilla *Swietenia humilis* Zucc. con actividad antifúngica en *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.; Fr.) Vuill. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 27, 84-92.
- Barba C.J.M. (1997). Introducción al análisis de los productos naturales: Laboratorio de fitoquímica. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa. México. DF. 216 pp.
- Barba E.J.R. (2018). Diabetes: ¿epidemia o pandemia? *Rev. Latinoam. Patol. Clín.* 65 (4): 211-221.
- Barrow M., Taylor W. (1969) A rapid method for detecting malformations in rat fetuses. *J. Morphol.*, 127, 291-306.
- Clapés H.S. (2000). Diabetes mellitus, estrés oxidativo y embarazo. *Rev. Cub. Invest. Bioméd.*, 19, 191-195.
- Contreras-Zúñiga E., Arango L.G., Zuluaga-Martínez S.X., Ocampo V. (2008). Diabetes y embarazo. *Rev. Colomb. Ginecol. Obstet.*, 59, 38-45.
- Flores L.Z.Y., Campos D.A.P., Gutierrez G.Y., Salas O.E., Cuéllar C.A., Delgado, R.L. (2017). Potencial antioxidante de la semilla de *Swietenia humilis* Zuccarini. *Rev. Cub. Farm.*, 51, 1-8.
- Lobato T.J.G (2016). Evaluación de la actividad farmacológica de *Swietenia humilis* Zucc en un modelo de diabetes en ratón. Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico Industrial. Instituto Politécnico Nacional. Ciudad de México. 51 pp.
- López Q.I.V. (2017). Efecto del extracto de *Buddleja cordata* en el desarrollo embrionario en ratas diabéticas. Tesis para obtener el título de Biólogo. FES Iztacala, UNAM. 42 pp.
- López R.M.C, Avalos G.M.I. (2013). Diabetes mellitus hacia una perspectiva social. *Rev. Cub. Salud Pub.*, 39, 331-345.
- Nazer H.J., Garcia H.M., Cifuentes. O.L. (2005). Malformaciones congénitas en hijos de madres con diabetes gestacional. *Rev. Méd. Chile*, 133, 547-554.
- Palomino G.M.A., Revilla M.M.C., Cárdenas S.A., Polanco P.A.C., Islas, A.S.A. (1998). Efecto de la diabetes inducida sobre la reproducción y el desarrollo. *Rev Ginecol. Obstet. Méx.*, 66, 403-406.
- Polanco P.A.C., Revilla M.M.C., Palomino G.M.A., Islas A.S. (2005). Efecto de la diabetes materna en el desarrollo fetal de humanos y ratas. *Ginecol. Obstet. Méx.*, 73, 544-452.
- Pollak F., Arteaga A., Serrano V. (2007). Dislipidemia y diabetes mellitus tipo 2. *Rev. ALAD.*, 15, 17-21.
- Reynoso-Orozco R., Elizondo-García O.F., Bañuelos-Pineda Ramos-Ibarra M.L., Noa-Pérez M., Jiménez-Plascencia C., Puebla-Pérez A.M. (2017). Caracterización fisicoquímica y fitoquímica de la semilla de *Swietenia humilis* Zucc (caoba) y su efecto sobre la concentración de glucosa sanguínea en el modelo de diabetes inducida con estreptozotocina en ratas. *Majorensis*, 13, 1-10.
- Vázquez A.B.A. (2011). Estudio Etnobotánico de la flora medicinal utilizada en el control de la diabetes tipo 2 en la comunidad de Agua de Perro, Municipio de Acapulco de Juárez, Guerrero, México. Tesis para obtener el grado de Maestra en Biología. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. Ciudad de México.
- Villalta D., Briceño Y., Miranda T., Abbate M., Hernández G., Paoli N. (2017). Dislipidemia en Diabetes Mellitus Tipo 1: Características y factores de riesgo asociados en pacientes del Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela. *Rev. Venez. Endocrinol. Metab.*, 15, 6-10.