



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA.

PROYECTO DE TESIS.

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA CORTEZA DE *Tabebuia obscura* EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALLOXANO – IMET 2012.

Presentado por:

Bach. ANGEL CHRISTIAN RAMIREZ

Bach. PAULETT VILLANUEVA MENDOZA

Asesores:

Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

Q. F. WILFREDO OSWALDO GUTIERREZ ALVARADO.

BIOLOGO. FELIPE RIOS ISERN

IQUITOS – PERÚ

2013

COLABORADORES: Bachiller: Ivonny Rodríguez Fernández.
Bachiller: Glendy Mildreth Marin Sisley.

INSTITUCIONES COMPROMETIDAS:

Laboratorio de Farmacología y Toxicología Experimental, Laboratorio de Fitoquímica
Instituto de Medicina Tradicional (**IMET**) – **ESSALUD**.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales Antiparasitarios **LIPNAA-UNAP**.

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA CORTEZA DE *Tabebuia obscura* EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALLOXANO – IMET 2012.



Bachiller: Ángel Christian Ramírez Arana.



Bachiller: Paulett Villanueva Mendoza.

RESUMEN

El propósito de la presente investigación fue determinar el efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, sobre la hiperglicemia inducida en ratas albinas machos de la cepa de Holtzmann. Se utilizó la corteza de *Tabebuia obscura*, se utilizó 40 ratas (peso promedio de 160 – 200g) que fueron asignadas aleatoriamente en 4 grupos (2 grupos recibieron las dosis del extracto (25mg/Kg y 50mg/Kg); el 3^{ro} grupo recibió solución salina al 0.9% y el 4^{to} recibió por vía oral la solución de Glibenclamida 0.25mg.); Método: la inducción de hiperglicemia en ratas fue por vía intraperitoneal con solución de Alloxano al 5% a dosis de 135mg/kg de peso corporal. El extracto se administró por vía oral después de 48 horas de la inducción de diabetes experimental, previo ayuno de 12 horas. Después de administrar las respectivas sustancias, se cuantificó la glicemia por el método de Glucosa Oxidasa a las 1, 3, 6, 12 y 24 horas. Según los resultados del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura* disminuye los niveles de glicemia en un 42.5%; encontrándose disminución y aumento estadístico significativo ($p < 0.05$) de la glicemia respectivamente, comparado con el basal hiperglicémico y los grupos controles (positivo y negativo); dando como mejor resultado hipoglicémico a grupo control *Tabebuia obscura* de 50mg/Kg

Palabras claves: *Tabebuia obscura*, efecto hipoglicemiante, tahuari, ratas albinas.

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA CORTEZA DE *Tabebuia obscura* EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALLOXANO – IMET 2012.



Bachiller: Ángel Christian Ramírez Arana.



Bachiller: Paulett Villanueva Mendoza.

SUMMARY

The intention of the investigation was to determine the effect hipoglicemiant of the watery extract lyophilized of *Tabebuia obscura*, on the hiperblood sugar induced in albino rates males of Holtzmann's vine stock. The was in use the bark of *Tabebuia obscura*, one used 40 rates (average weight of 160 ± 200 g), that were assigned secuensy in 4 groups (2 groups received the dose of the extract (25mg/Kg and 50mg/Kg); the 3rd group received saline solution to 0.9% and 4th it got for oral route Glibenclamida's solution 0.25mg); method: the induction of hyperblood sugar in rates went for route intraperitoneal with Alloxan's solution to 5% to dose of 135mg/Kg of corporal weight. The extract managed the affairs for oral route 48 hours of the induction of experimental diabetes, previously 12-hour fast. After administering the respective substances, glycaemia was quantified by the glucose oxidase method at 1, 3, 6, 12 and 24 hours. According to the results of the dried aqueous extract from the bark of *Tabebuia obscura*, lowers blood glucose levels by 42.5% and decreased finding statistically significant increase ($p < 0.05$) of blood glucose, respectively, compared with baseline hyperglycemic and control groups (positive and negative), giving best result to control group hypoglycemic *Tabebuia obscura* 50mg/kg.

Key words: *Tabebuia obscura*, effect hipoglicemiant, tahuari, albino rates.

AGRADECIMIENTOS

Al **Biólogo Felipe Ríos Isern**, Asesor de tesis, por su valiosa instrucción y por ofrecernos sus conocimientos, para desarrollar nuestro proyecto de tesis. Muchas gracias.

Al **Q.F Henry Vladimir Delgado Wong**, Asesor de tesis por su continuo apoyo y por compartir su valioso conocimiento durante todo el proceso de nuestro proyecto de tesis. Muchas gracias.

Al **Q.F Wilfredo Oswaldo Gutiérrez Alvarado**, Asesor de tesis, por su apoyo oportuno durante el proceso de realización de nuestra tesis. Muchas gracias.

Al **Instituto de Medicina Tradicional (IMET-ESSalud)**; por facilitarnos sus instalaciones, equipos, animales de experimentación y materiales necesarios, para así poder desarrollar nuestra tesis.

A la **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA-UNAP** y a LA **FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA** por ser nuestra casa de formación y desarrollarnos como profesionales.

Al **LIPNAA**, por brindarnos sus instalaciones, equipos necesarios para el desarrollo de nuestra tesis.

A los miembros del **Jurado Calificador**, por sus exigencias en la redacción y revisión del proyecto de tesis.

A **nuestro Colaboradores**, compañeros de internado que de una u otra manera colaboraron en la realización de nuestra tesis.

Al **Personal administrativo** de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, que nos facilitaron en eficiencia en los trámites respectivo.

D

EDICATORIAS.

ANGEL CHRISTIAN RAMIREZ ARANA

A Dios.

Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mi madre Jenny.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi padre a Artidoro.

Por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis Familiares.

A mi hermano Kenny Riker, por sus palabras de aliento, por ser un buen hermano; a mi tía Yara, a mi prima Mariana y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis. ¡Gracias a Ustedes!

A mis profesores.

Q.F Henry Vladimir Delgado Wong, por su apoyo y motivación para la elaboración y culminación de esta tesis, al Q.F Wilfredo Oswaldo Gutiérrez Alvarado, por su apoyo ofrecido en este trabajo, a la Ingeniera Gladis Cárdenas de Reátegui, por su tiempo compartido y por impulsar el desarrollo de nuestra formación profesional.

A mis amigos.

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos. Paulett Villanueva, Filly Max, Staphani Ferreyra, Glendy Marin, Romel Juesta, Cesar López, Neo Vergara, Neisser Ríos, por haberme ayudado a realizar este trabajo.

PAULETT VILLANUEVA MENDOZA.

Al Dios por sobre todo.

Por proveernos de la hermosa diversidad de flora que tenemos del cual es parte nuestro extracto (Jahuari negro).

Al mis padres y mi hermana.

Juana Villanueva Mendoza por sus incondicionales apoyo moral y económico antes, durante y después de la realización de este trabajo.

Al nuestros asesores

Q.F Henry Delgado Wong, Wilfredo Gutiérrez; Blgo. Felipe Usetn y para concluir el Ing. Jorge Villacrez quienes con su asesoría y constante seguimiento hicieron posible la buena realización de este proyecto.

Al QM.FJ

Por albergarnos en sus instalaciones y facilitarnos los quipos y materiales necesarios para la elaboración de este proyecto.

Al los jurados

Q.F Nonato, Q.F Hugo Pinto y Dr. Charles Ocampo, por su minucioso trabajo en la corrección de este proyecto y sus sabios consejos que nos sirvieron para poder mejorarlo cada vez más.

Y por último y no menos importante al Q.F César López Rojas por su orientación y apoyo con sus experiencias y consejos durante el desarrollo del proyecto

INDICE DE CONTENIDO

	PAG
RESUMEN	
SUMMARY	
AGRADECIMIENTOS	
DEDICATORIAS	
❖ CAPITULO I	
I. Introducción	21
II. Problema de investigación	23
III. Objetivos	24
3.1. General	24
3.2. Especifico	24
❖ CAPITULO II	
I. Marco teórico	25
1.1. Clasificación taxonómica	26
1.1.1. Sinonimia vulgar	26
1.1.2. Descripción	27
1.1.3. Observación para el reconocimiento de la especie	27
1.1.4. Habidad	27
1.1.5. Fenología, polinización y dispersión	28
1.1.6. Usos etnobotánicos	28
1.1.7. Composición química	28
1.1.7.1. Flavonoides	28
1.1.7.2. Taninos	29
1.1.7.3. Triterpenos	29
1.1.7.4. Lapachol	30
1.1.7.5. Naftoquinonas	30

1.1.7.6. Azucares reductores	31
1.1.7.7. Saponinas	32
1.2. Actividades biológicas	33
1.2.1. Estudios fitoquímicos	33
1.2.2. Estudios farmacológicos	33
1.3. Diabetes Mellitus	36
1.3.1. Diabetes mellitus tipo 1	37
1.3.2. Diabetes mellitus tipo 2	37
1.3.3. Prediabetes	38
a) Glicemia en ayunas alterada	38
b) Intolerancia a los carbohidratos	38
1.3.4. Detección de la diabetes tipo 2	38
1.3.5. Diagnóstico de la diabetes mellitus tipo 2	40
1.3.6. Historia clínica	42
1.3.7. Duración y evolución	42
1.3.7.1. Hemoglobina glicosilada	42
a) Asociación con alteración cardiovasculares renales	43
b) Diagnóstico nutricional	43
1.3.8. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2	44
a) Recomendaciones	47
b) Tratamiento médico nutricional	47
c) Balance calórico, sobrepeso, obesidad	47
d) Recomendaciones para la prevención primaria de diabetes	47
e) Recomendaciones para el manejo de la diabetes, macronutrientes en el manejo de la diabetes	48
f) Actividad física	49
g) Evaluación y atención psicosocial	49
1.3.9. Complicaciones	50
1.4. Glibenclamida 5mg	51

1.4.1.	Mecanismo de acción	51
1.4.2.	Efectos adversos	51
1.4.3.	Contraindicaciones	52
1.4.4.	Precauciones especiales	52
1.5.	Alloxano	53
1.6.	Animales de experimentación	53
1.6.1.	Modelos de diabetes mellitus tipo 2	53
1.6.2.	Biomodelos espontáneos	53
1.6.3.	Dm2 con hiperglicemia severa	54
1.6.4.	Dm2 con hiperglicemia moderada	55
1.6.5.	Disminución de la tolerancia a la glucosa	55
1.6.6.	Administración de sustancias Químicas y métodos quirúrgicos	56
II.	Hipótesis	57
III.	Definiciones operacionales	58
3.1.	Variables	58
3.1.1.	Variable independiente	58
3.1.2.	Variable dependiente	58
3.2.	Operacionalización de variables	58
❖	CAPITULO III.	
I.	Método	62
1.1.	Tipo de investigación	62
1.1.1.	Tipo de estudio	62
1.2.	Diseño experimental	62
1.3.	Población y muestra	63
1.3.1.	Población vegetal	63
1.3.1.1.	Muestra	64
1.3.1.2.	Criterios de inclusión de la muestra vegetal	64

1.3.2. Población animal	64
1.3.2.1. Muestra animal	64
1.3.2.2. Criterios de inclusión de la muestra animal	65
1.4. Procedimiento experimental	65
1.4.1.1. Recolección del material vegetal	65
1.4.1.2. Obtención del extracto acuoso liofilizado de la corteza de <i>Tabebuia obscura</i>	66
1.4.1.3. Animales de ensayo	67
a) Inducción experimental de hiperglicemia	67
b) Tratamiento de los grupos experimentales	67
1.4.2. Evaluación	68
a) Bioquímica clínica	68
b) Sacrificio de animales	68
1.5. Materiales	69
1.5.1. Material vegetal	69
1.5.2. Material animal	69
1.5.3. Materiales de laboratorio	69
1.5.4. Equipos e instrumentos	70
1.5.5. Drogas e insumos químicos	70
1.6. Técnicas usadas para la recolección de datos	71
1.6.1. Peso corporal	71
1.6.2. Bioquímica clínica	71
1.6.2.1. Toma de muestra	71
1.6.3. Procesamiento de las muestras	71
1.6.4. Método para la determinación enzimática de glicemia	72
1.7. Análisis e interpretación de datos	72
1.8. Protección de los derechos de los animales	73

❖ **CAPITULO IV**

I.	Resultados	75
1.	Niveles de glicemia	75
2.	Niveles séricos de glicemia en ratas albinas en todos los grupos experimentales	77
2.1.	Grupo control positivo	78
2.2.	Grupo control positivo	79
2.3.	Grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	80
2.4.	Grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	81
3.	Comparación del efecto hipoglicemiante del grupo control positivo en relación al grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 25 y 50mg/Kg	82
3.1.	Comparación del efecto hipoglicemiante del grupo control positivo en relación al grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	82
3.2.	Comparación del efecto hipoglicemiante del grupo control positivo en relación al grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	84
3.3.	Comparación del efecto hipoglicemiante del grupo Control <i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg, respecto al grupo Control <i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	86
4.	Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia	88
II.	Discusión	91
III.	Conclusiones	95
IV.	Recomendaciones	96
❖	CAPITULO V	
I.	Referencias bibliográficas	98
II.	Definición de términos	105

III. Anexos	108
--------------------	-----

INDICE DE ANEXOS.

	Pag
ANEXO N° 01: Certificado sanitario de los animales de experimentación	107
ANEXO N° 02: Certificado de identificación taxonómica de <i>Tabebuia obscura</i>	108
ANEXO N° 03: Esquema de la metodología para el ensayo de Hipoglicemiantes	109
ANEXO N° 04: Ficha de recolección de datos para los niveles de glucosa pre y post tratamiento	110
ANEXO N° 05: Método para determinar el nivel de glucosa en el suero de la sangre de ratas albinas	111
ANEXO N° 06: Tabla de dosificación	113
ANEXO N° 07: Fórmulas para calcular la cantidad de soluto para la preparación del extracto acuoso liofilizado	114
ANEXO N° 08: Fotos	116

INDICE DE FOTOS.

	Pag
FOTOS N° 01:	
Tabebuia obscura enjardínbotánico. IMET-ESsalud	116
FOTOS N° 02:	
Proceso de secado de la corteza en el salón de desecación	116
FOTOS N° 03:	
Proceso de liofilización	117
FOTOS N° 04:	
Marcado y pesado de los animales de experimentación	117
FOTOS N° 05:	
Toma de muestra sanguínea de la vena caudal	118
FOTOS N° 06:	
Administración por vía oral	118
FOTOS N° 07:	
Centrifugación de los capilares heparinizados	118
FOTOS N° 08:	
Procesamiento de lasmuestras	119
FOTOS N° 09:	
Incubación de las muestras en baño maría	119
FOTOS N° 10:	
Lectura en el espectrofotómetro	120
FOTOS N° 11:	
Sacrificio por dislocación cervical	120

INDICE DE CUADROS

	Pag
Cuadro N° 01:	
Estructura de un Flavonoide	29
Cuadro N° 02:	
Estructura de un Tanino	29
Cuadro N° 03:	
Estructura de un Triterpeno tipo Cicloartanol. Quinonas	30
Cuadro N° 04:	
Estructura del Lapachol	30
Cuadro N° 05:	
Estructura del Naftaleno 1,4 y 1,2-Naftoquinona	31
Cuadro N° 06:	
Estructura de un azúcar reductor	32
Cuadro N° 07:	
Estructura de una α -saponina	32

INDICE DE TABLAS

	Pag
Tabla N° 01: Clasificación de acuerdo a los niveles de glicemia (sangre venosa)	41
Tabla N° 02: Metas para el control de los parámetros glicémicos a la luz de la evidencia actual	44
Tabla N° 03: Fármacos para el tratamiento de la diabetes tipo 2	45
Tabla N° 04: Algunos modelos animales que desarrollen DM2 y severa hiperglicemia	54
Tabla N° 05: Algunos modelos animales que desarrollen DM2 y moderada hiperglicemia	55
Tabla N° 06: Algunos modelos animales que desarrollen DM2 e intolerancia a la glucosa	56
Tabla N° 07: Operacionalización de las variables independientes	59
Tabla N° 08: Operacionalización de las variables dependientes	60
Tabla N° 09: Distribución de los grupos experimentales	63
Tabla N° 10: Niveles de glicemia sérica post administración de Alloxano al 5% en todos los grupos experimentales	75

Tabla N° 11:

Niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos,
en todos los grupos experimentales y durante todo el experimento 77

Tabla N° 12:

Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de
Glibenclamida 0.25mg, respecto a *Tabebuia obscura* 25mg/Kg 82

Tabla N° 13:

Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de
Glibenclamida 0.25mg, respecto a *Tabebuia obscura* 50mg/Kg 84

Tabla N° 14:

Comparación del efecto sobre los niveles de
glicemia de *Tabebuia obscura* 25mg/Kg, respecto a
Tabebuia obscura a dosis de 50mg/Kg 86

Tabla N° 15:

Porcentaje de disminución de los niveles de
glicemia sérica en ratas albinas, en todos los grupos experimentales 88

INDICE DE GRAFICOS

	Pag
GRAFICO N° 01:	
Niveles séricos de glicemia post administración de Alloxano al 5% en todos los grupos experimentales	76
GRAFICO N° 02:	
Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado, según el grupo control negativo	78
GRAFICO N° 03:	
Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado, según el grupo control positivo	79
GRAFICO N° 04:	
Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado, según el grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	80
GRAFICO N° 05:	
Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado, según el grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	81
GRAFICO N° 06:	
Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 0.25mg, respecto al grupo control <i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	83

GRAFICO N° 07:

Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida
0.25mg, respecto al grupo control *Tabebuia obscura* 50mg/Kg

85

GRAFICO N° 08:

Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia del grupo
control *Tabebuia obscura* 25mg/Kg, respecto a grupo control
Tabebuia obscura 50mg/Kg

87

GRAFICO N° 09:

Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia según
grupos experimentales y tiempo de tratamiento

89

GRAFICO N° 10:

Porcentajes mayores de disminución de los niveles séricos de glicemia de
todos los grupos experimentales a las 24 horas en ratas albinas diabéticas

90



CAPITULO I

I. INTRODUCCIÓN.

En el mundo hay más de 346 millones de personas con diabetes. Se calcula que en el 2004 fallecieron 3,4 millones de personas como consecuencia del exceso de glucosa en la sangre. Más del 80% de las muertes por diabetes se registran en países de ingresos bajos y medios. Casi la mitad de esas muertes corresponden a personas de menos de 70 años, y un 55% a mujeres. La Organización Mundial de la Salud calcula que las muertes por diabetes se multipliquen por dos entre 2005 y 2030. ⁽¹⁾

Esto se debe, explica la Federación Internacional de Diabetes (FID), a que un número creciente de personas en el mundo no ha tomado conciencia sobre la enfermedad, aunado a otros factores complejos que tienen que ver además con los cambios socioeconómicos y la industrialización de los países en vías de desarrollo. ⁽²⁾

Los tratamientos médicos no incluyen la cura, sin embargo existen tratamientos para controlar los niveles de glucosa en la sangre los cuales resultan poco accesibles por su alto costo, es por ello que la población inicia un tratamiento con plantas o hierbas medicinales. ⁽³⁾

En América Latina se hicieron estudios de plantas con efecto hipoglicemiante, presentados en la Jornada de Medicinas complementarias y su respaldo científico que tuvo como objetivo fundamental presentar a la comunidad médica, a los demás profesionales de la salud y al pueblo en general, que las Medicinas Complementarias poseen una fuerte base científica y que, ejercidas con conocimiento y calidad, pueden ser un pilar fundamental en la consulta particular, así como en los programas nacionales y regionales de prevención y asistencia social en materia de Salud. ⁽⁴⁾

En nuestro país afecta a casi 2 millones de personas según datos oficiales del Ministerio de Salud. Lo peor es que esta cifra va en aumento y se calcula que la mitad de los afectados ignora su condición. Es la décimo quinta causa de mortalidad en el Perú, según informes de la Oficina de Estadística e Informática del Ministerio de Salud. Además según estudios realizados el año pasado por la Universidad Cayetano Heredia, la prevalencia en Lima es mayor que en cualquier otro departamento del Perú (7.6%) debido al desordenado estilo de vida en las poblaciones urbanas.⁽⁵⁾

Nuestra amazonia peruana, cuenta con especies vegetales de reconocida actividad medicinal entre ellos *Tabebuia obscura*, que según la medicina tradicional tiene efecto hipoglicemiante, anticancerígena e inmunoestimulante, sin embargo no existe información pre-clínica ni clínica que valide este posible efecto farmacológico. Por ello existe la necesidad de contar con nuevas alternativas de tratamiento y a través de técnicas científicas modernas de investigación, evaluar científicamente los productos naturales procedentes de plantas medicinales para una mejor calidad de vida para los que padecen esta enfermedad.⁽⁶⁾

II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

¿Tendrá efecto hipoglicemiante el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, en ratas albinas con diabetes inducida por Alloxano – IMET 2012?

III. OBJETIVOS.

3.1.GENERAL:

- ❖ Evaluar el efecto hipoglicemiente del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, en ratas albinas con diabetes inducida por Alloxano. IMET – 2012.

3.2.ESPECÍFICO:

- ❖ Inducir hiperglicemia experimental con Alloxano en ratas albinas.
- ❖ Determinar con el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, a dosis de 25mg/kg y 50mg/kg de peso corporal por vía oral, el efecto sobre los niveles de glicemia en ratas diabéticas inducidas por Alloxano.
- ❖ Comparar el efecto hipoglicemiente de *Tabebuia obscura*, en relación a las dosis establecidas.
- ❖ Comparar los niveles de glicemia en ratas albinas diabéticas al administrar el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, a dosis de 25 y 50mg/Kg de peso corporal en relación al control positivo.



I. MARCO TEORICO.

Tabebuia obscura.

1.1. CLASIFICACION TAXONOMICA.

DIVISION	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
ORDEN	:	LAMIALES
FAMILIA	:	BIGNONACEAE
GENERO	:	Tabebuia
ESPECIE	:	<i>Tabebuia obscura</i>

1.1.1. Sinonimia vulgar: nichol, tahuari, tahuari negro, paliperro⁽⁷⁾

1.1.2. DESCRIPCION

Árbol de 25-90 cm de diámetro y 20-30 m de alto, con la ramificación en el segundo tercio, el fuste cilíndrico, la base del fuste recta.

Corteza externa agrietada, color marrón claro a amarillento, las grietas separadas 2-5 cm entre sí.

Corteza interna exfoliable en láminas delgadas de color blanquecino amarillento, con tenue sabor dulce.

Ramitas terminales con sección circular, color marrón rojizo cuando secas, de 3-5 mm de diámetro, glabras.

Hojas compuestas digitadas, opuestas, 5-7-folioladas, el peciolo de 8-12 cm de longitud, los folíolos elípticos a ovado-alargados, de 5-16 cm de longitud por 2-7 cm de

ancho, enteros o apicalmente aserrados, el ápice agudo, cortamente acuminado, la base aguda, los nervios secundarios 9-11 pares, impresos en la haz, las hojas glabras.

Inflorescencias panículas terminales corimbosas, multifloras.

Flores vistosas, hermafroditas, con cáliz y corola presentes, el cáliz campanulado, vagamente 3-5-lobulado, de 8-11 mm de longitud, con pubescencia esparcida de pelos simples y estrellados, la corola acampanado-alargada, violeta, de 8-12 cm de longitud, resuelta en 5 lóbulos, glabrada, el androceo con estambres didínamos, las tecas de 3 mm de longitud, el pistilo de 3.5-4 cm de longitud con ovario súpero, estrechamente oblongoide, el estilo alargado, el estigma bilabiado.

Frutos cápsulas (silicuas) lineares de 10-40 cm de longitud y 1.5-2.5 cm de ancho, con la superficie lisa a verrucosa, glabra o glabrada, las semillas numerosas, bialadas, de 2.5-3.5 x 0.8-1.1 cm, las alas membranosas.

1.1.3.OBSERVACIONES PARA EL RECONOCIMIENTO DE LA ESPECIE

Se reconoce por el fuste cilíndrico, corteza externa agrietada, corteza interna exfoliable en láminas delgadas y de tenue sabor dulce; también por sus hojas compuestas digitadas y opuestas, glabras o casi glabras, y sus vistosas flores amarillas.

1.1.4.HABITAT

Sudamérica desde Colombia, Venezuela y Guayanas a Brasil, Ecuador, Perú y Bolivia, en bosques húmedos a subhúmedos, mayormente debajo de 1000 msnm.

Se le observa en ámbitos con pluviosidad elevada y constante, pero también en zonas con una estación seca marcada. Es una especie esciófita, característica en bosques primarios, en suelos bien drenados, de diferente textura, niveles de acidez y fertilidad, a veces con pedregosidad elevada. ⁽⁸⁾

1.1.5. FENOLOGIA, POLINIZACION Y DISPERSION.

Registros de floración durante la estación seca, mayormente en el mes de Agosto y frutos maduros inmediatamente luego. El árbol deja caer sus hojas antes de la floración y ésta es relativamente breve y sincrónica. Las semillas son dispersadas por el viento.⁽⁹⁾

1.1.6. USOS ETNOBOTÁNICOS.

El cocimiento de sus hojas por vía externa como astringente vulnerario y antiséptico en úlceras, ecsemas, psoriasis, hemorroides y tumores de piel. La corteza por vía interna como astringente, antianémico, hipotensor, revitalizante, hipoglicemiante, abortivo, antiséptico urinario, en enfermedades de vías respiratorias (tos convulsiva) y como antitumoral (leucemia). En casos de algias reumáticas emplea el cocimiento de trozos o astillas de la corteza en agua. Las flores también se emplean como béquicas y expectorantes. En infecciones urinarias. Afecciones reumáticas y como revitalizante se prepara 30 gr. De corteza por 1 litro de agua, a razón de tres tazas diarias.⁽¹⁰⁾

1.1.7. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

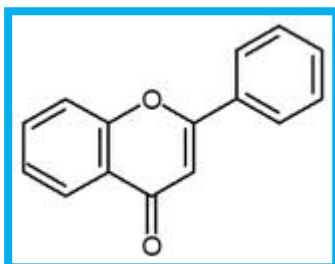
La corteza de *Tabebuia obscura*, contiene en mayor cantidad, Naftoquinona, como taninos, esteroides, flavonoides, antocianinas, antracenos, también compuestos reductores, celulosa, almidón, alcaloides; quinonas, lapachol; catequinas, fenoles, heterósidoscianogénicos, resinas, saponinas, triperpenos y xantonas.⁽¹¹⁾

1.1.7.1. Flavonoides

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo

humanono puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos.

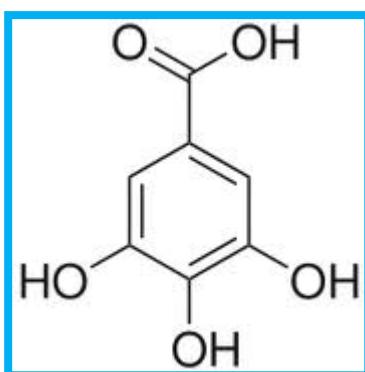
Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante.



Cuadro N° 01: Estructura de un Flavonoide.

1.1.7.2. Taninos.

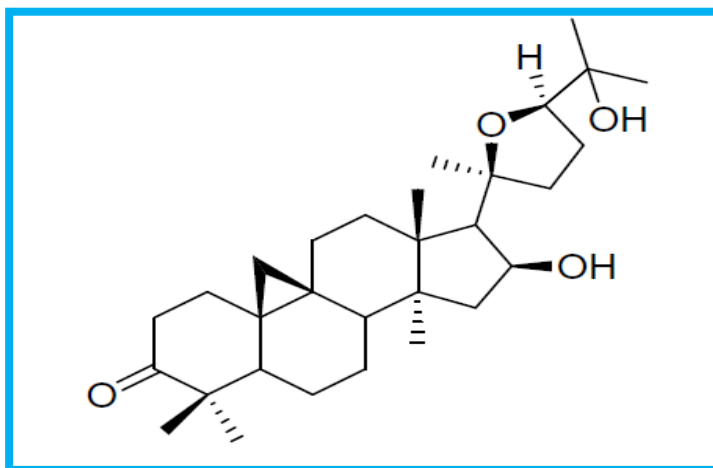
Los Taninos son sustancias polifenolicas presentes en gran número de plantas de producto del metabolismo secundario. Su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción y de utilidad en diversos usos en la industria química y farmacéutica. Son de composición química variable distinguiéndose por la característica común de ser astringente. Las plantas que contienen taninos poseen propiedades astringentes, hemostáticas, asépticas y tonificantes.



Cuadro N° 02: Estructura de una Tanino

1.1.7.3. Triterpenos.

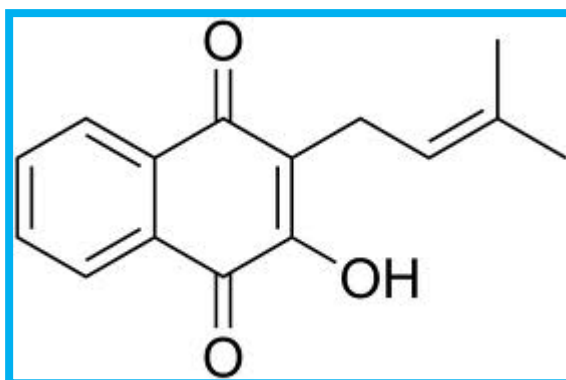
Constituyen uno de los grupos más extensos de terpenoides, encontrándose ampliamente distribuidos en plantas, animales y microorganismos. Son sustancias generalmente lipófilicas, que incluyen a sustancias no-volátiles pigmentadas.⁽¹²⁾



Cuadro N° 03: Triterpeno tipo cicloartanol. Quinonas

1.1.7.4. Lapachol.

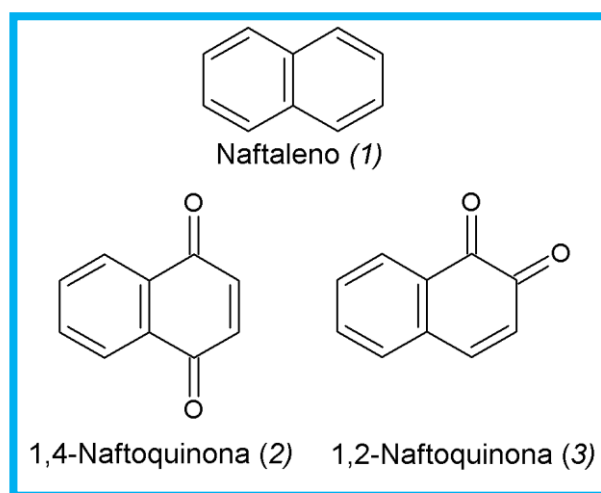
Se encuentra en concentración alta en la corteza de la madera de las especies *Tabebuia* por extracción con una solución acuosa de hidróxido de sodio, a continuación el extracto obtenido se filtra. La solución alcalina se acidula, el lapachol precipitado se separa y recristaliza en alcohol.⁽¹³⁾



Cuadro N° 04: Estructura del Lapachol.

1.1.7.5. Las Naftoquinonas

Son compuestos orgánicos de origen natural altamente reactivos, se han utilizan como colorantes y pigmentos cuyos tonos van desde el amarillo al rojo. Las naftoquinonas y sus derivados pertenecen al tipo de compuestos carbonílicos α,β -insaturados. Estructuralmente, son compuestos cíclicos derivados del naftaleno (*1*) (cuya estructura consiste en dos anillos aromáticos hexagonales fusionados que comparten un par de átomos de carbono), y se caracterizan por tener dos grupos funcionales carbonilo en uno de los anillos aromáticos en posición 1,4 nombrados como 1,4-naftoquinonas y 1,2 llamados 1,2-naftoquinonas ⁽¹⁴⁾



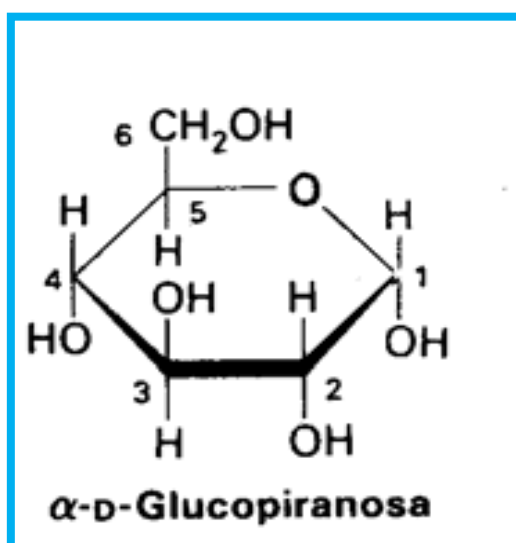
Cuadro N° 05: Estructura química del naftaleno y 1,4 y 1,2-naftoquinona.

1.1.7.6. Azúcares reductores

Son aquellos azúcares que poseen su grupo carbonilo (grupo funcional) intacto, y que a través del mismo pueden reaccionar con otras moléculas. Los azúcares reductores provocan la alteración de las proteínas mediante la reacción de glucosilación no enzimática. Esta reacción se produce en varias etapas: las iniciales son reversibles y se completan en tiempos relativamente cortos, mientras que las posteriores transcurren más lentamente y son irreversibles. Se postula que tanto las etapas iniciales como las finales

de la glucosilación están implicadas en los procesos de envejecimiento celular y en el desarrollo de las complicaciones crónicas de la diabetes.

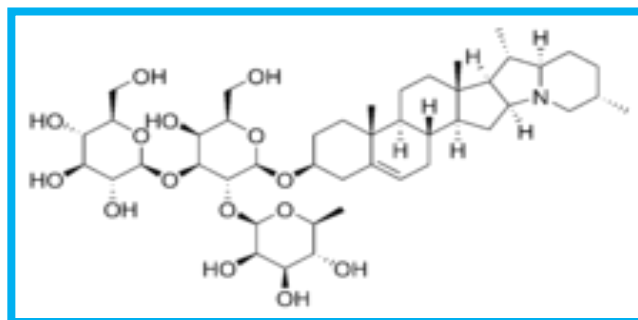
La glucosa es el azúcar reductor más abundante en el organismo. Su concentración en la sangre está sometida a un cuidadoso mecanismo de regulación en individuos sanos y, en personas que padecen diabetes, aumenta sustancialmente. Esto lleva a que éste sea el azúcar reductor generalmente considerado en las reacciones de glucosilación no enzimática de interés biológico.⁽¹⁵⁾



Cuadro N° 06: Estructura de un azúcar reductor

1.1.7.7. Las saponinas

Son glucósidos de esteroides o de triterpenoides, llamadas así por sus propiedades semejantes a las del jabón: cada molécula está constituida por un elemento soluble en lípidos (el esteroide o el triterpenoide) y un elemento soluble en agua (el azúcar), y forman una espuma cuando se las agita en agua. Las saponinas son tóxicas, y se cree que su toxicidad proviene de su habilidad para formar complejos con esteroides, por lo que podrían interferir en la asimilación de estos por el sistema digestivo, o romper las membranas de las células tras ser absorbidas hacia la corriente sanguínea.⁽¹⁶⁾



Cuadro N° 07: Estructura química de una α -saponina

1.2. ACTIVIDADES BIOLÓGICAS.

1.2.1. Estudios fitoquímicos.

Se determinó los compuestos fitoquímicos presentes en la corteza de *Tabebuia obscura* **Delgado W. Henry; Villacrez V. Isaac (2012)**. Tamizaje Fitoquímico de las especies del Plan Operativo IMET-ESSALUD. Realizaron un estudio Fitoquímico, obteniendo alcaloides que han sido aislados de *Tabebuia obscura*. Alcaloides, triterpenos y esteroides, Quinonas, Taninos y Fenoles, Flavonoides, Saponinas, Aceites esenciales y Azucares reductores. ⁽¹⁷⁾

1.2.2. Estudios farmacológicos.

En este estudio farmacológico, determinaron que la *Tabebuia obscura* presenta la siguiente actividad:

Grandes R. Maritza. (2010). Actividad hipoglicemiante y toxicidad aguda de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (tahuari) y evaluación fitoquímica; al realizar este estudio, con los resultados obtenidos se determinó la eficacia y seguridad de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (tahuari amarillo) para controlar los altos índices de glucosa en la sangre. Sus efectos funcionan mejor para controlar la diabetes mellitus tipo 2. ⁽¹⁸⁾

Arroyo Jorge, et al. (2009). Efecto hipoglicemiante del extracto etanolico de hojas de *Annona muricata L.* en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de Glibenclamida. Se determinó la eficacia y seguridad del uso del extracto etanólico para un mejor control de los niveles de glicemia comprobado con la administración de Glibenclamida. Concluye que el uso del extracto etanolico asociado a la Glibenclamida produce una mayor disminución en los niveles de glicemia en diabetes tipo 2. ⁽¹⁹⁾

Núñez., B. Cesar. (2008). Efectos del *Capsicum pubescens* (rocoto) en la glicemia e insulina de ratas con diabetes experimental. En el 100 % de los grupos en estudio, el rocoto produjo disminución de la glucosa en sangre, luego de lo cual los valores en sangre retornaron a su nivel inicial. Al parecer las ratas que desarrollaron glicemias bastante altas mostraron una respuesta casi inmediata de disminución de la glicemia, para comenzar a descender tardíamente. El nivel de glicemia en el grupo control no varió luego de la ingesta de rocoto, por lo que afirma que el rocoto solo actúa frente a estados diabéticos. ⁽²⁰⁾

Tasayco, Y. Nesquen (2007). En la tesis titulada: actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. Para el grupo de diabetes tipo 1 el estudio consistió con un control negativo, tres dosis de 250; 500 y 1000 mg/kg y para una mejor control de la glicemia en sangre comparado con un grupo administrado con Glibenclamida (control positivo) los resultados fueron favorables para las tres dosis y el control positivo. Para la diabetes tipo 2 se comparó el control positivo con dosis de 1000 mg/kg. Los dos grupos dieron resultados hipoglicemiante. ⁽²¹⁾

Isaza M. Gustavo, et al (2006). Efectos de la *Senna reticulata* en la glicemia de ratones normoglicémicos e hiperglicémicos. Se demostró que la administración del extracto en ratones normoglicémicos no produce una disminución estadísticamente significativa de los niveles de glucosa sanguínea; sólo la Glibenclamida tuvo este efecto a la hora 24. En ratones hiperglicémicos se observó una disminución con significancia estadística ($p < 0,016$) de los niveles de glicemia con la administración de *Senna reticulata* y Glibenclamida a la hora 6 de la medición.⁽²²⁾

Alonso. R., Jorge Dr. (2006). Jornada “**Medicinas complementarias y su respaldo científico**”. Reporto la presencia de Cromo, oligoelemento indispensable para el correcto funcionamiento del organismo, demostrando que regula el metabolismo de los azúcares (actúa sobre la secreción de insulina y la absorción de glucosa), como sobre el metabolismo de los lípidos. También demostró la presencia de especies ricas en polisacáridos: se distinguen dos grupos. Plantas con elevado contenido de mucilagos y otros con elevados contenido de azúcares reductores. Las plantas ricas en mucilagos presentan efecto hipoglicemiante e hipocolesterolemiante ya que tras su ingesta y en contacto de agua cambian las características físicas del contenido intestinal y por ello disminuyen la velocidad de absorción de diferentes sustancias, entre las que se encuentran los hidratos de carbono. El retardo en la absorción de glúcidos baja los picos de glicemia, evitándose la estimulación exógena de la secreción de insulina que provoca un aumento del depósito de grasas en los adipocitos. Además, son hipocolesterolemiantes, ya que forman complejos y eliminan las sales biliares interfiriendo en la absorción del colesterol.⁽²³⁾

Solgorre Enrique (2005). Se determinó el efecto hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas y flores de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes, en la hiperglicemia experimental inducida por Alloxano en ratas albinas. Se demostró que la administración de 500mg/kg peso corporal, durante 33 días de tratamiento, redujo significativamente los niveles de glicemia de 390 a 223 mg/dl. ⁽²⁴⁾

Utia. Patricia. (2005). Refiere que para la evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Pseudelephanto pusspiralis* (Less) Cronquist “mata pasto” a la dosis de 100 mg/Kg a 0.5% mediante el método de diabetes alloxanica en ratas albinas, presenta posible actividad hipoglicemiante. ⁽²⁵⁾

Sifuentes. Eduardo. (2004). Evaluó la actividad hipoglicemiante de los frutos de *Solanum sessiliflorum* a dosis de 250 y 500 mg/Kg, demostrando la afectividad del Alloxano para producir diabetes experimental. ⁽²⁶⁾

Zanoello, A.M., C. et al (2002). Efecto protector de *Syzygium cumini*, contra la diabetes mellitus inducida por Alloxano en ratas. El uso profiláctico de *Syzygium cumini*, sobre la eficiencia de la diabetes inducida por Alloxano, certifican el presente estudio. Transcurrido los 16 días del tratamiento profiláctico de glicemia el grupo de control obtuvo T obtuvo mayor significancia mayor que el grupo C ($p < 0,004$). Sobre estas condiciones fue realizada la inducción de diabetes sobre los grupos experimentales. Los niveles glicémicos del grupo T sufrió una elevación de $49,86 \pm 20,34$ % en relación al anterior periodo de inducción. Estos resultados indican que la ingesta ad libitum de *Syzygium cumini*, tiene efecto hipoglicemiante en ratas no diabéticas y un efecto protector sobre la diabetes inducida por Alloxano. ⁽²⁷⁾

1.3. DIABETES MELLITUS

Es una enfermedad crónica, que comprende un grupo de trastornos metabólicos caracterizado por un aumento de las cifras de glucosa en sangre, al que se conoce con el nombre de hiperglicemia, que si no es tratada produce un gran deterioro en la salud del individuo, reduce su calidad de vida y lo puede llevar a complicaciones severas como ceguera, insuficiencia renal, amputaciones y muerte.⁽²⁸⁾

La Organización Mundial de la Salud define la diabetes como un desorden metabólico caracterizado por una etiología múltiple con:

1. Hiperglicemia crónica con cambios en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y las proteínas.
2. Resultado de un defecto de la secreción y/o la acción de la insulina, de manera que se puede generalizar diciendo que la hiperglicemia se considera secundaria a una deficiencia relativa o absoluta de insulina, o bien a un exceso relativo de glucagón, así como a una mala utilización de azúcares por parte del organismo.⁽²⁹⁾

Existen dos formas mayores de Diabetes mellitus: Tipo 1 y Tipo 2.

1.3.1. La Diabetes tipo 1 es una enfermedad autoinmune en la cual se pierden las células beta del páncreas. Típicamente presenta un brote sintomático abrupto y usualmente pero no siempre se presenta en niños y adultos jóvenes menores de 30 años. Sin embargo, cada día se le reconoce un mayor papel en las personas mayores de 30 años, encontrándose formas idiopáticas en personas mayores de 60 años.

1.3.2. La Diabetes tipo 2 es la más frecuente y se manifiesta con una aparición más insidiosa y es comúnmente asintomática en los primeros años antes del diagnóstico. La Diabetes tipo 2 resulta de la resistencia a la insulina

junto a un defecto en la excreción de insulina, en la cual cualquiera de las dos puede predominar. La incidencia de la Diabetes tipo 2 aumenta con la edad y usualmente se presenta en adultos, pero se está diagnosticando con mayor frecuencia en personas más jóvenes a medida que aumenta la obesidad, asociado a malos hábitos de alimentación y sedentarismo. Las personas latinas tienen mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad.

Otros tipos específicos de diabetes debido a otras causas: defectos genéticos en la función de la células beta, defectos genéticos en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino (como la Fibrosis Quística) y aquella inducida por drogas o químicos (como en el tratamiento del HIV o luego de un trasplante). **Diabetes gestacional:** diabetes diagnosticada durante el embarazo.⁽³⁰⁾

1.3.3. PREDIABETES.

La elevación de la glicemia a niveles menores del corte del diagnóstico de Diabetes tiene implicaciones clínicas de riesgo. En este sentido el término “prediabetes” contempla a las personas con intolerancia a los carbohidratos y glicemia alterada en ayunas. No todos los individuos con prediabetes van a desarrollar diabetes, una parte significativa de personas pueden llegar a alcanzar norma glicemia con cambios en estilos de vida. La identificación de personas con prediabetes, particularmente en el contexto del síndrome metabólico nos indica quienes se benefician de una reducción del riesgo cardiovascular.

Existen dos tipos de prediabetes:

- a). **Glicemia en ayunas alterada (GAA):** valores de glicemia en ayunas entre 100 y 125 mg/dl. Un 11% de los pacientes sin factores de riesgo pueden dar un falso positivo.

b). Intolerancia a los carbohidratos (ICHO): valores de glicemia a las 2 horas de una carga oral de 75 gramos de glucosa en sangre venosa entre 141 y 199 mg/dl., De estos dos grupos, los intolerantes a los carbohidratos presentan el mayor riesgo de enfermedad coronaria.⁽³¹⁾

1.3.4.DETECCIÓN DE DIABETES TIPO 2.

Realizar glicemia por laboratorio en ayunas a:

- ❖ Toda persona con edad ≥ 30 años.

Realizar glicemia por laboratorio en ayunas a todas las personas menores de 30 años que presenten al menos uno de los siguientes factores de riesgo:

- ❖ Historia familiar de diabetes (en primer grado).
- ❖ Enfermedad aterosclerótica.
- ❖ Historia de diabetes gestacional.
- ❖ Historia de un hijo macrosómico (recién nacido > 4 Kg.).
- ❖ Historia de prediabetes: intolerancia a los carbohidratos o glicemia en ayunas alterada (componente del síndrome metabólico).
- ❖ Hipertensión arterial ($\geq 140/90$ mm Hg.) (componente del síndrome metabólico).
- ❖ Dislipidemia (triglicéridos > 150 mg/dl o HDL < 50 mg/dL en mujeres y de < 40 en hombres) (componente del síndrome metabólico).
- ❖ Obesidad abdominal (circunferencia de la cintura mayor de 80 cm en mujeres y mayor de 90 cm en hombres) (componente del síndrome metabólico).
- ❖ Sobrepeso y obesidad (IMC mayor o igual a $25 \text{ kg} / \text{m}^2$).
- ❖ Síndrome de ovario poliquístico.
- ❖ Sedentarismo.
- ❖ Tabaquismo.
- ❖ Personas en tratamiento con medicamentos antipsicóticos y esteroides.⁽³²⁾

Realice una prueba de glicemia en ayunas para detectar Diabetes tipo 2 cada tres años en todos sus pacientes ≥ 30 años sin factores de riesgo asociados. Considere realizar la prueba cada año en las personas que presentan al menos un factor de riesgo. En aquellas personas que presentan una glicemia en ayunas 100-125 mg/dl y tengan al menos un factor de riesgo se debe realizar una prueba de tolerancia con 75 gramos de glucosa con determinación de glicemia a las dos horas, para diferenciar a los individuos con diabetes (glicemia post carga ≥ 200 mg/dl), o con intolerancia a los carbohidratos (glicemia 141 – 199 mg/dl).

1.3.5. DIAGNÓSTICO DE DIABETES MELLITUS TIPO 2

El diagnóstico de Diabetes mellitus tipo 2 se realiza con la obtención de uno de los siguientes criterios:

1. Glicemia en ayunas ≥ 126 mg/dl en dos días diferentes precedido de 8 horas de ayuno.
2. Glicemia a cualquier hora del día ≥ 200 mg/dl, acompañada de síntomas como poliuria, polidipsia, pérdida de peso Inexplicable.
3. Glicemia ≥ 200 mg/dl a las 2 horas de una carga oral de 75 gramos de glucosa, aún en ausencia de síntomas clásicos de diabetes.

No utilice hemoglobina glicosilada (Hb A1c), para el diagnóstico de diabetes. **No se ha aceptado el uso de sangre capilar para el diagnóstico de Diabetes mellitus.** Sin embargo, los niveles mayores de 100 mg en ayunas y superiores de 140 mg a cualquier hora del día, deben ser referidos para una glicemia control por laboratorio para toma de muestra en sangre venosa.

Tabla N° 01: Clasificación de acuerdo a los niveles de glicemia (Sangre venosa)

Clasificación	Glicemia en ayunas	Glicemia a las 2 horas en una prueba con 75 g de glucosa
Normal	Menor o igual a 99 mg/dl	Menor de 140 mg/dl
Prediabetes (Glicemia alterada en ayunas)	100 – 125 mg/dl	-
Prediabetes (Intolerancia a los carbohidratos)	-	140 – 199 mg/dl
Diabetes tipo 2	Mayor o igual a 126 mg/dl	Mayor o igual a 200 mg/dl o en cualquier momento
Cualquier medición de glicemia en cualquier momento del día mayor o igual a 200 mg/dl es diagnóstico de Diabetes Mellitus		

Fuente: Modification de New Zealand Guidelines Group (NZGG). Management of type 2 diabetes. Wellington (NZ): New Zealand Guidelines Group (NZGG); 2003 y Canadian Diabetes Association 2003 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada. Can J Diabetes Care. 2003; 25:S2. ⁽³³⁾

1.3.6. HISTORIA CLÍNICA.

La historia clínica debe enfocarse en la presencia de factores de riesgo modificables, incluyendo peso corporal, consumo de sodio y grasas, actividad física, presión arterial, depresión y otros factores de estrés psicosocial y patrón de consumo de alcohol y tabaco. La historia clínica debe incluir la historia familiar de diabetes, y antecedentes personales de enfermedad cardiovascular, enfermedad cerebrovascular, enfermedad isquémica de miembros inferiores y Dislipidemia. ⁽³⁴⁾

1.3.7. DURACIÓN Y EVOLUCIÓN

Conocer el tiempo de desarrollo de la enfermedad, orienta sobre la aparición de las complicaciones más frecuentes y la respuesta global al tratamiento. La mejor forma de valorar su evolución desde la para clínica es realizando la hemoglobina glicosilada (HbA1c) en forma periódica, combinada con las medidas basales de glucosa.

1.3.7.1. LA HEMOGLOBINA GLICOSILADA

Es un parámetro que refleja cómo ha sido el control de la diabetes los meses anteriores a la realización del análisis. Su determinación permite contar con un dato objetivo que con una sola cifra nos informa de la glicemia media de los 3 meses anteriores. Cuando se mide la fracción HbA1c y se emplea el llamado “estándar DCCT”, método que utilizan la mayoría de los laboratorios, el rango normal es 4-6 %. En los últimos tiempos tiende a ofrecerse también la glicemia media equivalente. Por ejemplo, una HbA1c de 7 %, que muchas veces se considera el objetivo a alcanzar, representaría una glicemia media de 154 mg/dl, mientras que 6 %, el límite superior del rango normal, equivaldría a 126 mg/dl. Cada punto de Hb A1c equivale a 28-29 mg/dL. Aunque es verdad que en ciertos pacientes no existe la misma correlación y que una cifra determinada de hemoglobina glicosilada puede equivaler a una glicemia media más elevada o más baja,

incluso en estos casos sigue siendo una medida útil ya que la **monitorización de la evolución de la glicosilada nos dirá si el paciente está mejorando o empeorando.**

La importancia de la hemoglobina glicosilada la reconocen todas las principales sociedades científicas. La Asociación Americana de Diabetes recomienda medir la HbA1c **al menos dos veces al año en pacientes que cumplen con los objetivos de control y que están en situación estable**, ascendiendo a una determinación trimestral para los que estén descontrolados o en los que se modifique el tratamiento. Algunas situaciones, como por ejemplo el embarazo, pueden aconsejar incluso una mayor frecuencia de determinación. Además de para el seguimiento del control metabólico, en los últimos tiempos se ha considerado la posibilidad del **empleo de la hemoglobina glicosilada para el diagnóstico**. Es evidente que no existe la prueba diagnóstica perfecta y en parte ésta es la causa de que muchas personas desconozcan que tienen diabetes.⁽³⁵⁾

a). Asociación con alteraciones cardiovasculares o renales.

Antecedentes personales de eventos cardiovasculares, presencia de hipertensión arterial, dislipemias, nefropatía diabética u otras complicaciones crónicas, condicionan el tratamiento y el pronóstico.

b). Diagnóstico nutricional

- ❖ Se realiza la antropometría y estudios complementarios como se ha sugerido a propósito del tema obesidad.
- ❖ Es importante identificar cambios de peso en el último período, ya que el adelgazamiento no voluntario es común entre diabéticos tipo 1 o tipo 2 descompensados.

- ❖ Dentro de la ingesta, es básico investigar la presencia de factores dietéticos de riesgo para la enfermedad. Dentro de ellos jerarquizar grasas, azúcares, aporte de fibra y fraccionamiento.

Tabla N° 02: Metas para el control de los parámetros glicémicos a la luz de la evidencia actual. Los valores de glicemia están en mg/dl

Nivel	Normal	Adecuado	Inadecuado
Riesgo de complicaciones crónicas		bajo	Alto
Glicemia ayunas	< 100 ⁽¹⁾	70 - 120	>120
Glicemia 1 – 2 horas postprandial	< 140	70 – 140 ⁽²⁾	>140
A1c (%)	< 6 ⁽³⁾	< 6.5 ⁽⁴⁾	>7 ⁽⁴⁾

⁽¹⁾ El riesgo de hipoglucemia aumenta significativamente cuando se mantienen niveles dentro del rango de una persona no diabética mediante el uso de Hipoglicemiantes y debe evitarse en adultos mayores permitiendo metas menos estrictas.

⁽²⁾ La reducción a límites normales de la glucemia postprandial suele tener menor riesgo de hipoglucemia por lo cual es también una meta adecuada.

⁽³⁾ LA A1c normal también se puede definir como el valor promedio para la población no diabética de referencia. + 2 desviaciones estándar usando el método de referencia del DCCT es 6.1%

⁽⁴⁾ Con los nuevos tratamientos ya es posible obtener y quizás mantener una A1c casi normal. Aunque todas las Asociaciones Internacionales de Diabetes concuerden en que se debe tratar de alcanzar esta meta, la mayoría propone que se baje a menos de 7% y que un valor más alto ya obliga a actuar para iniciar o cambiar una terapia. ⁽³⁶⁾

1.3.8. TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 2.

- ❖ Si no existe contraindicación y es tolerada, la Metformina es el tratamiento de elección inicial para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

- ❖ En la diabetes tipo 2 de diagnóstico reciente, los pacientes con síntomas marcados y/o glucemias o A1C elevadas, considerar hacer tratamiento con insulina desde el principio, con o sin agentes adicionales.
- ❖ Si la monoterapia con agente no insulínico a las dosis máximas toleradas no alcanzan o mantiene la meta de A1C en un tiempo de 3 a 6 meses, añade un segundo agente oral, un agonista del receptor GLP-1 ó insulina.
- ❖ Para la elección del fármaco se recomienda un enfoque centrado en el paciente, considerar la eficacia, el costo, los efectos adversos, efectos sobre el peso, las comorbilidades, el riesgo de hipoglucemia y las preferencias del paciente.
- ❖ Debido a la naturaleza progresiva de la diabetes tipo 2, la terapia con insulina eventualmente en el tiempo es la terapia final para muchos pacientes con diabetes tipo 2.

Tabla N° 03: Fármacos para el tratamiento de la Diabetes tipo 2.

Clase	Compuestos	Mecanismo	Acciones	Ventajas	Desventajas
Biguanidas	Metformina	AMP kinasa	<p>Disminuye la producción de glucosa hepática</p> <p>Disminuye la absorción intestinal de glucosa</p> <p>Aumenta la acción de la Insulina.</p>	<p>No provoca aumento de peso</p> <p>No produce hipoglucemias.</p> <p>Reduce eventos cardiovasculares y mortalidad</p>	<p>Tiene efectos gastrointestinales como diarrea y dolor abdominal.</p> <p>Rara vez provoca acidosis láctica</p> <p>Puede provocar deficiencia de vitamina B12.</p> <p>Contraindicada en disfunción renal.</p>
Sulfonilureas de segunda generación	Glibenclamida, Gliburide, Glipizide, Gliclazide, Glimepiride	Cierra los canales de potasio, dependientes de ATP en la membrana celular de la célula Beta	Aumenta la secreción de Insulina	<p>Generalmente bien tolerada.</p> <p>Reduce eventos cardiovasculares y mortalidad.</p>	<p>Relativamente independiente para la estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa: hipoglucemias que incluyen episodios que requieren admisión hospitalaria.</p>

					<p>Ganancia de peso.</p> <p>Puede disminuir el pre-condicionamiento isquémico miocárdico</p> <p>Baja "durabilidad"</p>
Meglitinidas	Repaglinide Nateglinide	Cierra los canales de potasio, dependientes de ATP en la membrana celular de la célula Beta	Aumenta la secreción de Insulina	Efectos acentuados cercano a la ingesta alimentaria.	<p>Hipoglucemia.</p> <p>Ganancia de peso.</p> <p>Puede disminuir el pre-condicionamiento isquémico miocárdico.</p> <p>Frecuencia de la dosis.</p>
Tiazolidinedionas	Pioglitazona	Activa la transcripción del factor nuclear PPAR gamma	Aumenta la sensibilidad periférica a la Insulina	<p>No provoca hipoglucemia.</p> <p>Aumenta HDL y disminuye TG.</p>	<p>Ganancia de peso</p> <p>Edemas</p> <p>Descompensación de la falla cardíaca</p> <p>Fracturas óseas</p> <p>Aumenta el colesterol LDL</p>
Inhibidores de la alfa glucosidasa	Acarbosa Miglitol	Inhibición de la alfa glucosidasa intestinal	Digestión y absorción enlentecida de los carbohidratos en el tracto gastrointestinal	Efecto no sistémico. Disminuye la glucemia post prandial.	<p>Efectos gastrointestinales acentuados (meteorismo, dolor abdominal, diarrea).</p> <p>Frecuencia de la dosis.</p>
Agonistas del receptor GLP-1 (miméticos de incretinas). GLP-1 = péptido relacionado al glucagón tipo 1.	Exenatide Liraglutide	Activa los receptores GLP-1 (células Beta, páncreas endocrino; cerebro y sistema nervioso autónomo)	<p>Aumenta la secreción de Insulina dependiente de glucosa.</p> <p>Disminuye la secreción de glucagón (dependiente de glucosa)</p> <p>Enlentece el vaciamiento gástrico.</p> <p>Aumenta la saciedad.</p>	<p>Reducción de peso</p> <p>Potencial aumento tanto de la masa como la función de las células Beta del Páncreas.</p>	<p>Efectos gastrointestinales (náuseas, vómito, diarrea)</p> <p>Se han reportado casos de pancreatitis</p> <p>Hiperplasia de las células C (casos de cáncer medular de tiroides con Liraglutide)</p> <p>Inyectable</p> <p>Seguridad a largo plazo desconocida.</p>
Inhibidores de DPP4 ("reforzadores" de la acción de incretinas)	Sitagliptina – Vildagliptina – Saxagliptina – Linagliptina	Inhibe la actividad DPP4, prolongando la supervivencia de las incretinas	<p>Activa el aumento de GLP-1 y GIP (polipéptidoinsulino-trópico dependiente de glucosa).</p> <p>Aumenta la secreción de Insulina y disminuye</p>	<p>No produce hipoglucemias.</p> <p>"Neutralidad" con el peso corporal.</p>	<p>Reportes ocasionales de angio-edema o urticaria.</p> <p>Se han observado casos de</p>

		endógenas.	la de Glucagón		pancreatitis. Seguridad a largo plazo desconocida.
--	--	------------	----------------	--	---

Fuente: Asociación América de Diabetes. Disponible en: <http://www.diabetes.org/espanol/todo-sobre-la-diabetes/diabetes-tipo-2/afecciones-y-tratamiento/medicamentos-para-la-diabetes.html>

a). Recomendaciones:

- Se recomienda iniciar tratamiento con antidiabéticos orales en toda persona con Diabetes tipo 2 que no haya alcanzado las metas de control glicémico después de un período de 3 a 6 meses con cambios terapéuticos en el estilo de vida (CTEV). Para considerar que los CTEV han sido efectivos la persona debe haber logrado modificaciones en el régimen alimentario, reducción del 5 a 7% del peso corporal (si éste estaba excedido) e incremento de la actividad física programada.
- Se recomienda iniciar tratamiento con antidiabéticos orales desde el momento del diagnóstico cuando el grado de descontrol de la diabetes permite anticipar que los CTEV no van a bastar para alcanzar las metas de control glicémico al cabo de 3 a 6 meses. Es el caso de las personas con glicemias mayores de 270 mg/dL y/o A1c mayor de 9%, en particular cuando su peso es cercano al normal y/o han perdido peso asociado a síntomas de hiperglucemia.

b). Tratamiento médico nutricional.

Recomendaciones generales:

- ❖ Las personas con prediabetes o diabetes deben recibir tratamiento médico nutricional individualizado preferentemente indicado por un profesional en nutrición, con el fin de lograr los objetivos terapéuticos.

c). Balance calórico, sobrepeso y obesidad:

- ❖ Para todas las personas con sobrepeso u obesas que tienen o están en riesgo de diabetes se recomienda la pérdida de peso.
- ❖ Para bajar de peso son efectivas las dietas bajas en carbohidratos, baja en grasas con restricción de carbohidratos o la dieta mediterránea pueden ser efectivas en el corto plazo (hasta 2 años).
- ❖ En los pacientes con dietas bajas en carbohidratos se debe monitorear el perfil lipídico, la función renal y la ingesta de proteínas (en aquellos con nefropatía) y ajustar la terapia hipoglicemiante según sea necesario.
- ❖ La actividad física y la modificación de hábitos son componentes importantes de los programas para bajar de peso y son más útiles en el mantenimiento de la pérdida de peso.

d). Recomendaciones para la prevención primaria de la diabetes:

- ❖ En los individuos en riesgo elevado de diabetes tipo 2 se recomiendan los programas estructurados que hacen hincapié en los cambios del estilo de vida y que incluyen la pérdida de peso moderada (7% del peso corporal) y la actividad física regular (150 min/semana), además de dietas hipocalóricas e hipograsas.
- ❖ A las personas en riesgo de diabetes tipo 2 se les aconseja seguir las recomendaciones del U.S. Department of Agriculture de consumir fibra en la dieta (14 g de fibra/1.000 kcal) y alimentos con granos integrales (la mitad de la ingesta de granos).
- ❖ Las personas en riesgo de diabetes tipo 2 deben limitar el consumo de bebidas azucaradas.

e). Recomendaciones para el manejo de la diabetes. Macronutrientes en el manejo de la diabetes.

- ❖ La proporción de carbohidratos, proteínas y grasas puede ajustarse para cumplir con los objetivos metabólicos y las preferencias de cada paciente.
- ❖ El monitoreo la ingesta de carbohidratos, ya sea por el conteo de carbohidratos, preferencias o basado en la experiencia de su estimación, sigue siendo una estrategia clave para alcanzar el control glicémico.
- ❖ La ingesta de grasas saturadas debe corresponder a <7% del total de las calorías.
- ❖ La reducción de la ingesta de grasas trans reduce el colesterol LDL y aumenta el colesterol HDL A, por lo tanto se debe minimizar la ingesta de grasas trans.

f). Actividad física:

- ❖ Los diabéticos deben realizar al menos 150 min/semana de actividad física aeróbica de intensidad moderada (50-70% de la frecuencia cardíaca máxima), repartidas en al menos 3 días de la semana con no más de 2 días consecutivos sin ejercicio.
- ❖ En ausencia de contraindicaciones, estos pacientes deben ser animados a realizar entrenamiento de la resistencia por lo menos 2 veces por semana.

g). Evaluación y atención psicosocial:

- ❖ Es razonable incluir la evaluación psicológica y de la situación social del paciente como una parte continua del tratamiento médico de la diabetes.
- ❖ La detección y seguimiento de los problemas psicosociales pueden incluir (pero sin limitarse a esto) las actitudes acerca de la enfermedad, las expectativas acerca del tratamiento médico, el afecto y el humor, la calidad de vida en general y la relacionada con la diabetes, los recursos (financieros, sociales y emocionales) y, los antecedentes psiquiátricos.

- ❖ Cuando el autocontrol es malo o pobre, considerar la detección de los problemas psicosociales como la depresión y la angustia relacionada con la diabetes, la ansiedad, los trastornos de la alimentación y el deterioro cognitivo. ⁽³⁷⁾

1.3.9. COMPLICACIONES.

Entre las complicaciones crónicas asociadas a esta enfermedad están la retinopatía, la enfermedad coronaria, la neuropatía y la isquemia periférica. La retinopatía diabética es la primera causa de ceguera en Occidente. Después de 15 años de evolución de la enfermedad diabética, la ceguera afecta al 2% de los enfermos mientras que otro 10% manifiesta problemas visuales graves. La enfermedad cardiovascular, que se origina a partir de la macroangiopatía diabética, provoca el 75% de las muertes de los pacientes diabéticos en países industrializados. Por otra parte, la diabetes es la principal causa del fallo renal, siendo la neuropatía la principal causa de muerte en la población diabética tipo 1. Por su parte, la neuropatía es probablemente la complicación más común en la diabetes, apareciendo en mayor o menor grado en el 50% de los enfermos y produciendo pérdidas sensoriales y daños en las extremidades, constituyendo además la principal causa de impotencia en el varón diabético. Por último, cabe señalar que las ulceraciones en las extremidades inferiores son el resultado de la neuropatía e isquemia periférica y constituyen la causa más frecuente de amputaciones no traumáticas de los miembros inferiores (Who Study Group Diabetes mellitus 2002) ⁽³⁸⁾

Las complicaciones de esta diabetes son las responsables de la mayor parte del gasto sanitario directo (hospitalizaciones, visitas ambulatorias, tratamiento farmacológico, tiras reactivas e instrumentos para el auto monitorización), aunque al gasto social derivado de la enfermedad, las complicaciones contribuyen más a los costes indirectos que llevan asociados (pérdidas de productividad, jubilación anticipada, muerte

prematura antes de la jubilación). Dentro de las complicaciones, son las cardiovasculares las que suponen un mayor gasto. Por otra parte, la diabetes presenta un coste intangible considerable por el estrés, dolor y ansiedad que la enfermedad comporta, y que puede reducir la calidad de vida, tanto de enfermos como de familiares (Rubio y col. 1998).⁽³⁹⁾

1.4. GLIBENCLAMIDA 5 mg.

La Glibenclamida es un antidiabético oral del grupo de la sulfonilureas. Este medicamento se utiliza para tratar la diabetes cuando en la enfermedad no se pueden controlar adecuadamente solo con la dieta y el ejercicio físico y no es necesaria la utilización de la insulina.

Se utiliza la Glibenclamida como medicamento de primera línea si: no se tolera la Metformina o la misma está contraindicada y si el paciente no presenta sobrepeso.⁽⁴⁰⁾

1.4.1. MECANISMO DE ACCIÓN.

Derivado de la sulfonilurea. Promueve el aumento de la secreción de insulina por parte de las células beta de los islotes del páncreas mediante un mecanismo no definido. Disminuye la glucogenolisis y la gluconeogénesis hepática. Al parecer aumenta la sensibilidad a la insulina de los tejidos extrapancreáticos. Se produce una disminución de la glicemia solo en aquellos pacientes capaces de sintetizar insulina por las células beta pero parece potenciar su liberación desde las células pancreáticas. Su vida media es de 10 horas, el tiempo hasta la concentración máxima es de 4 horas; la absorción es rápida y su unión a las proteínas es muy elevada (90%). Se metaboliza en el hígado y sus metabolitos inactivos se excretan en 50 % y el resto por el riñón.⁽⁴¹⁾

1.4.2. EFECTOS ADVERSOS.

Principales efectos adversos: Hipoglucemia (como resultado del efecto hipoglicemiante de la Glibenclamida) y signos adicionales de contrarregulación adrenérgica; alteración visual transitoria; síntomas gastrointestinales (p. ej., náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea); elevación de enzimas hepáticas, alteración de la función hepática (p. ej., con colestasis, ictericia), hepatitis, insuficiencia hepática; trombopenia, anemia hemolítica, eritrocitopenia, leucopenia, agranulocitosis, pancitopenia, reacciones alérgicas o pseudoalérgicas (p. ej., picor, erupciones, urticaria), incluido shock, vasculitis alérgica; hipersensibilidad a la luz; disminución del sodio sérico; alteración de la capacidad para conducir o manejar maquinaria.

1.4.3. CONTRAINDICACIONES.

Diabetes mellitus insulino dependiente (tipo 1): Cetoacidosis diabética; coma o precomadabéticos; hipersensibilidad a la Glibenclamida o a alguno de sus excipientes; insuficiencia hepática o renal grave. Embarazo y lactancia.

1.4.4. PRECAUCIONES ESPECIALES.

Control periódico de los niveles de glucosa en sangre y orina. Síntomas de hipoglucemia más leves o inexistentes, por ejemplo en pacientes con neuropatía autonómica o que tomen betabloqueadores, clonidina, reserpina, guanetidina u otros fármacos simpaticolíticos. Debe cambiarse temporalmente a insulina en situaciones excepcionales de estrés (p. ej., estancia hospitalaria, después de un accidente o enfermedad estando de vacaciones). Los pacientes alérgicos a los derivados de las sulfamidas también pueden presentar una reacción alérgica a la Glibenclamida. ⁽⁴²⁾

1.5. ALLOXANO

Definición

El Alloxano es una sustancia química capaz de provocar diabetes en animales de experimentación, esta sustancia tiene toxicidad específica para las células beta del páncreas, se ha empleado en diversos estudios para evaluar posibilidades terapéuticas, en un modelo de diabetes tipo1, Se ha postulado que el Alloxano produce una masiva reducción en la liberación de insulina por la destrucción selectiva de las células beta de los islotes de Langerhans que han sido atribuidas a la generación de radicales libres tóxicos que inducen ruptura del DNA. ⁽⁴³⁾

1.6. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

1.6.1. Modelos de la diabetes mellitus T2.

Se sabe que los modelos animales utilizados en las investigaciones sobre la diabetes mellitus tipo 2, ayudan al estudio de los mecanismos patogénicos que conducen a la presentación de esta enfermedad, acompañada de severa o moderada hiperglucemia, intolerancia a la glucosa y otras alteraciones metabólicas relacionadas con la misma, y dan la oportunidad de explorar nuevos tratamientos. Estos modelos de DM2 pueden presentarse espontáneamente, según la expresión en ellos de diversas alteraciones genéticas; también pueden ser inducidos de forma experimental, en laboratorios y, en ocasiones, se combinan ambas causas. ⁽⁴⁴⁾

1.6.2. Biomodelos espontáneos

La descripción de los biomodelos de esta categoría se hará atendiendo a una clasificación más práctica, según la naturaleza del síndrome. ⁽⁴⁵⁾

1.6.3. DM2 con hiperglucemia severa

Se caracteriza por una hiperglucemia inicialmente moderada, pero con el tiempo se va tornando severa (>20mmol/L). Se acompaña de hiperinsulinemia, pérdida de peso y, en ocasiones, cetosis. Algunos de estos animales pueden requerir eventualmente insulina. Diversos factores genéticos, ambientales y edad, alimentación, cautiverio; influyen en la forma de manifestación de este síndrome. En la TABLA N° 04, se exponen algunos Biomodelos, elegidos para las investigaciones al respecto. ⁽⁴⁶⁾

TABLA N°04: Algunos modelos animales que desarrollan DM2 y severa hiperglicemia

Especie	Líneas
Ratón	db/db (mutante) C57BL/KsJSpiny(Acomyscirimus).
Rata	Sand, (Psammomysobesus) fa/fa OLEFT (Otsuka Long -Evans Tokushima Fatty) Obesa BBZ/ Wor.
Hámster	H. chino (<i>Cricetusgriseus</i>) H. húngaro (<i>Phodopusungorus</i>) H sudafricano (<i>Mysteomysalbicaidatus</i>).

1.6.4. DM2 con hiperglucemia moderada

Se caracteriza por una hiperglucemia moderada (<20mmol/L) y ausencia de cetosis, comúnmente se asocia a obesidad, hiperfagia, hiperplasia de las células β , hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. En la TABLA N° 05 se exponen algunos Biomodelos elegidos para las investigaciones al respecto. ^(47, 48)

TABLA N° 05: Algunos modelos animales que desarrollan DM2 y moderada hiperglicemia

Especie	Líneas
Rata	Machos Wky obesos
	Machos Wistar WBN/Kob
	Machos ZDF
	SHR/Ncp (hipertensiva corpulenta)
	Japonés KK
	Machos Bristol CBA/Ca.
Ratón	Obeso (ob) C57BL/6J ,VSTOCK,
	Obeso amarillo (AY, AVY,AIY)
	Tuco -Tuco <i>CtenomysTalarum</i>
	Hibrido Wellesley.

1.6.5. Disminución de la tolerancia a la glucosa

Este fenómeno se puede deber a una disminución de la secreción o de la acción de la insulina, o ambas. ⁽⁴⁹⁾

El modelo es la rata obesa Zucker fa/fa que presenta intolerancia a la glucosa y obesidad, pero sin diabetes manifiesta. En la TABLA N° 06 se describen algunos modelos que se escogen para estudios al respecto.

TABLA N°06: Algunos modelos animales que desarrollan DM2 e intolerancia a la glucosa

Especie	Líneas
Ratas y ratones	Envejecidas.
Ratas	BHE (bureau of home economicos)
	Zucker obesas (fa/fa).
Ratones	No diabéticos (no obeso no insulinoresistente).

1.6.6. Administración de sustancias químicas y métodos quirúrgicos

La administración de Streptozotocina (STZ) o Alloxan, en altas dosis, induce severa insulino deficiencia y hasta cetosis, mientras que las bajas dosis causan una parcial reducción de la masa de células β , lo cual puede aprovecharse para producir un estado diabético sin tendencia a la cetosis. La STZ es preferida por su mayor acción citotóxica, pero la sensibilidad varía según la especie animal, la línea, el sexo, la edad y el estado nutricional. En los recién nacidos, ambas sustancias pueden ser inyectadas alternativamente. Cuando se administran durante la primera semana de vida, provocan la enfermedad tardíamente. Si la STZ es inoculada por vía intravenosa (100 mg/kg) el primer día del nacimiento, las células β se destruyen aunque aproximadamente la mitad se regenera gradualmente. En relación con los métodos quirúrgicos, la pancreatectomía parcial puede provocar un estado de diabetes hipoinsulinémica. Se debe extirpar aproximadamente el 90 % de la glándula para lograr un incremento estable y moderado de la glucemia. ⁽⁵⁰⁾

II. HIPÓTESIS.

Tiene efecto hipoglicemiante el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, a dosis de 25mg/Kg y 50mg/Kg de peso corporal sobre la hiperglicemia inducida en ratas albinas con diabetes inducida por Alloxano. IMET – 2012.

III. DEFINICIONES OPERACIONALES.

3.1. VARIABLES.

3.2. 1. VARIABLE INDEPENDIENTE.

- ✓ Extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*

Indicador

- ✓ Dosis de 25mg/Kg de peso corporal y 50mg/Kg de peso corporal

3.1.2. VARIABLE DEPENDIENTE

- ✓ Efecto hipoglicemiante de la corteza *Tabebuia obscura*,

Indicador

- ✓ Niveles de glucosa en suero sanguíneo de ratas albinas.

3.2. OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.

TABLA N° 07. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES INDEPENDIENTES.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Extracto acuoso liofilizado de la corteza de <i>Tabebuia obscura</i>	Producto de la extracción de metabolitos secundarios presente en la parte del vegetal, obtenidos por cocción con agua, congelado y conservado por liofilización, que es administrado según peso corporal	Extracción por cocción de la parte del vegetal a 60°C durante 3 horas. Posterior filtrado, concentrado y congelado a -22°C para luego liofilizar (-40°C con una presión de 1.33×10^{-3} MBARR/72 horas)	Dosis de 25 mg/Kg y 50 mg/Kg de peso corporal.	Presenta efecto No	Intervalar Tipo: Cuantitativo

TABLA N° 08: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
<p>Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de la corteza de <i>Tabebuia obscura</i></p>	<p>Acción de disminuir los niveles elevados de glucosa e incrementar los valores de insulina en sangre post administración de sustancias con dicha capacidad.</p>	<p>Cantidad de glucosa en sangre por debajo de los niveles normales</p> <p>Cantidad de glucosa en sangre en los niveles normales</p> <p>Cantidad de glucosa en sangre por encima de los niveles normales.</p>	<p>Niveles de Glicemia Basal:</p>	<p>Basal hipoglicemiante: < 70 mg/dl</p> <p>Normoglicemia: ≤ 99 mg/dl</p> <p>Hiperglicemia: > 130 mg/dl</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Racional e intervalar - Tipo: Cuantitativo



CAPITULO III

I. MÉTODO:

1.1. TIPO DE INVESTIGACION

1.1.1. TIPO DE ESTUDIO:

Cuantitativo: Porque se realizó a través de medición de la actividad hipoglicemiante del tipo “casos y controles”.

Experimental: Debido a que se realizó comparaciones de la variable dependiente entre los grupos experimentales y de control.

Prospectivo: En el registro de la información se tomó en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.

Longitudinal: Se estudió las variables a lo largo del tiempo durante el periodo de investigación.

1.2. DISEÑO EXPERIMENTAL.

El ensayo pre-clínico se realizó en ratas albinas, con peso corporal de 160 ± 200 g mediante el método glucosa-oxidasa, se trabajó con 4 grupos, a los cuales a dos grupos se les administro el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura* a dosis de 25 y 50mg/Kg de peso corporal; otro grupo se realizó con el control positivo (Glibenclamida a dosis de 0.25mg) y de igual manera con el control negativo (solución salina 0,9%). Estas soluciones se administraron posterior a las 48 horas de administrado el Alloxano al 5%.

Posterior a esto se extrae las muestras de sangre a 1, 3, 6, 12 y 24 horas para realizar las comparaciones respectivas.

Tabla N° 09: Distribución de los Grupos Experimentales.

GRUPOS DE ESTUDIO	DOSIS Y/O VOLUMENES	N° DE ANIMALES	VIA DE ADMINISTRACION
CONTROL NEGATIVO (NaCl 0.9%)	3 ml	7 por grupo	Oral
CONTROL POSITIVO (Glibenclamida 5mg)	5 mg/Kg de peso corporal	7 por grupo	Oral
CONTROL MUESTRA (<i>Tabebuia obscura</i>)	25-50mg/Kg de peso corporal	7 por grupo	Oral

1.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

1.3.1. Población vegetal

Constituída por Conjunto de corteza de *Tabebuia obscura*.

Se recolectaron del Jardín Botánico del Instituto de Medicina Tradicional IMET – ESSALUD, que está ubicado en el distrito de San Juan Bautista, en la ciudad de Iquitos, capital del Departamento de Loreto, a orillas del río Amazonas en la Selva Baja, medido a través de un GPS obtuvimos las coordenadas de (18M 0691848– 9583706) a una altitud de 101msnm con un error de ± 10 metros, aproximadamente, en una zona de vida considerada Bosque Húmedo Tropical, con terreno de tipo franco arenoso, ligeramente ácido y buen contenido de materia orgánica. Presenta una temperatura media anual de 28° C y una precipitación pluvial de 2,727 mm al año.

Para la identificación de la muestra vegetal, se utilizó patrones de comparación las plantas herborizadas del Herbarium Amazonense - Cirna de la Universidad Nacional de la Amazonia peruana.

1.3.1.1. Muestra

Se seleccionó la corteza *Tabebuia obscura*, en buen estado de conservación. Se sometió al proceso de infusión (50gr muestra fresca en 1000ml de agua).

1.3.1.2. Criterios de inclusión de la muestra vegetal

- Corteza que no se infectaron por hongos o parásitos.
- corteza que no estén en mal estado de conservación.

1.3.2. Población Animal

La población animal está constituida por ratas albinas *Rattus norvegicus* cepa Holtzmann, sexo macho, con un peso promedio de 160-200g procedentes del Centro Nacional de Producción del Instituto Nacional de Salud – MINSA, con sede en Lima, con certificado de salud, y albergadas en las instalaciones del bioterio del IMET - ESSalud

1.3.2.1. Muestra Animal

La muestra animal estuvo conformada por un conjunto de 28 ratas albinas, cepa Holtzmann, machos; elegidos al azar, los cuales fueron distribuidos en 4 grupos experimentales (7 ratas albinas machos por cada grupo). Las ratas fueron sometidas a condiciones de aclimatación y acondicionamiento por 7 días, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental; además durante este periodo estuvieron bajo observación permanente.

Según el siguiente esquema:

- **Grupo I (Control negativo):** Ratas con hiperglicemia experimental inducida con solución de Alloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas solución salina 0.9 %. Sin tratamiento.
- **Grupo II (Muestra problema):** Ratas con hiperglucemia experimental inducida con solución de Alloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas con *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/ kg de peso corporal.
- **Grupo III (Muestra problema):** Ratas con hiperglucemia experimental inducida con solución de Alloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas con *Tabebuia obscura* a dosis de 50mg/ kg de peso corporal.
- **Grupo VI (Control positivo):** Ratas con hiperglucemia experimental inducida con solución de Alloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg de peso corporal y tratados con Glibenclamida 0.25mg.

1.3.2.2. Criterios de inclusión de la muestra animal

- Animales de experimentación certificadas por el Instituto Nacional de salud con sede en Lima.
- Animales de experimentación de sexo macho con peso corporal de 160 - 250g.
- Animales de experimentación que presentaron el parámetro bioquímico de glucosa normal.

1.4.PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

1.4.1. Recolección del material vegetal

El material vegetal recolectado fue la corteza de *Tabebuia obscura*. Del cual se obtuvo el extracto acuoso liofilizado. Para la recolección se siguieron los siguientes pasos:

- Selección de las especies de *Tabebuia obscura*.

Para la selección de la muestra vegetal se consideró los siguientes factores:

- ✓ Edad de la planta
 - ✓ Hábitat de la planta
 - ✓ Estado vegetativo.
 - ✓ Temporada y hora de recolección.
- **Selección de materia prima:** Fue seleccionada la corteza de *Tabebuia obscura* en buen estado de conservación.
 - **Lavado de materia prima:** La parte vegetal se sometió a la acción de un chorro continuo de agua para despojarlos de contaminantes.
 - **Identificación Taxonómica de *Tabebuia obscura*.**

La muestra vegetal fue identificada en el Herbarium Amazonense AMAZ-CIRNA de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. (Ver Anexo N° 02)

1.4.2. Obtención del Extracto Acuoso Liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*.

Corteza de *Tabebuia obscura*:

Se realizó la cocción de la corteza con agua a temperatura entre 60° a 70°C, durante 2 a 3 horas; luego se dejó enfriar a temperatura ambiente, posteriormente se filtró con algodón y se dejó 72 horas en reposo bajo refrigeración para que las partículas pesadas y extrañas sedimenten.

Congelación del extracto acuoso: Congelar a -20°C, por más de 24 ó 48 horas.

Liofilización del extracto acuoso: Utilizar un liofilizador de 4.5 litros, el proceso consistió en deshidratar el extracto acuoso congelado a una temperatura y presión de vapor bajo (-40°C y 1.33×10^{-3} MBARR) mediante sublimación, durante 72 horas.

Pesado, envasado y rotulado del extracto liofilizado: Llevar a cabo en una balanza analítica y rotular la fecha de almacenamiento.

Almacenado: Se almaceno en un ambiente seco a temperatura menor de 25°C, en frasco con cierre hermético y alejado de la luz. **Evaluación del Efecto Hipoglicemiante. (Ver Anexo N° 03)**

1.4.3. Animales de ensayo

Los animales fueron sometidos a condiciones de aclimatación y acondicionamiento, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental; además durante éste período estuvieron bajo observación permanente. Los animales que presentaron alguna alteración funcional fueron rechazados. Los mismos se repartieron al azar en los lotes tratados y los de control según el criterio de inclusión; luego se asignaron a cada animal un número y una marca para su identificación. **(Ver Anexo N° 5)**

a) Inducción experimental de hiperglucemia

Posterior al ayuno de 12 horas, a los animales se les tomo muestra de sangre de la vena caudal, la misma que fue recogida en capilares heparinizados de 75 µl. de volumen, para ser procesados bajo el método de Glucosa oxidasa; con la primera muestra de sangre se determinó el valor de glicemia basal de los animales; luego se les inoculo la solución de Alloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/peso corporal para inducirles diabetes experimental; después de 48 horas; se procedió a otra toma de muestra de sangre de la vena caudal con el propósito de evaluar el índice de hiperglucemia; se tomó como valor mínimo de 70 a 110 mg/dl;

b) Tratamiento de los grupos experimentales.

Inmediatamente después de evaluar el índice hiperglicemico de las ratas se administró por vía oral el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/kg de peso corporal y 50mg/kg de peso corporal correspondiente a cada grupo de

estudio. Al grupo del control positivo y también se le administro por vía oral el suero fisiológico al grupo del control negativo; después de la administración de las diferentes sustancias en estudio se tomó muestras de sangre (suero) para medir el nivel de glucemia.

1.4.4. Evaluación

El periodo de evaluación que se realizo fue: basal (pre tratamiento), Hiperglucemia, a:1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas y 24 Horas post tratamiento.

a) Bioquímica clínica

La determinación del parámetro bioquímico: Glucosa se realizó al inicio con el basal (pre tratamiento), hiperglicemia inducida, 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas y 24 horas post tratamiento del estudio. Los animales fueron puestos en ayuna 12 horas antes de la toma de muestra para los respectivos análisis bioquímicos.

b) Sacrificio de los animales

Al término del experimento los animales fueron sacrificados por el método de dislocación cervical, teniendo en consideración los principios éticos en la experimentación animal, según el Artículo 10 de los Principios básicos del Comité Nacional de España perteneciente al International Council for Laboratory Animal Science (ICLAS), que permite disminuir al máximo el sufrimiento de los mismos. ⁽⁵¹⁾

1.5.MATERIALES

1.5.1. Material Vegetal:

- ✓ Extracto acuoso de la corteza de *Tabebuia obscura*; a Dosis según ensayo preliminar.

1.5.2. Material Animal:

- ✓ Ratas albinas, cepa Holtzmann, sexo macho.

1.5.3. Materiales De Laboratorio:

- ✓ Cánula intragástrica
- ✓ Agujas descartables N° 25
- ✓ Jeringas descartables 1 ml.
- ✓ Vasos de precipitado 25 ml.
- ✓ Probetas
- ✓ Hoja de bisturí
- ✓ Cronómetro digital
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Gradilla metálica
- ✓ Micro pipetas
- ✓ Tips de 10 ul
- ✓ Tips de 20 ul
- ✓ Tips de 1000 ul
- ✓ Guantes quirúrgicos N° 7
- ✓ Tijeras quirúrgicas
- ✓ Kit de cirugía menor
- ✓ Algodón hidrófilo
- ✓ Espátula mediana

- ✓ Marcador de vidrio
- ✓ Mascarillas descartables
- ✓ Papel toalla
- ✓ Embudos
- ✓ Papel filtro
- ✓ Mortero y pilón
- ✓ Soporte Universal
- ✓ Ollas medianas
- ✓ Bandejas plásticas con tapa de malla metálica y viruta de madera

1.5.4. Equipos e Instrumentos:

- ✓ Espectrofotómetro: Wiener Lab. Metrolab 1600 DR
- ✓ Liofilizador: Freezer Drysystem/ Freezone 4,5 L LABCONCO
- ✓ Congeladora: Friolux de 120 lt.
- ✓ Baño maría. Selecta Precistern
- ✓ Estufa, Cocina eléctrica, Balanza analítica. Mettler Toledo AG 204
- ✓ Balanza digital: Metler Toledo AG 204
- ✓ Centrifugadora: Pselecta Mixtasel
- ✓ Microhematocrit Centrifuge Model: SH120-1

1.5.5. Drogas e insumos químicos

- ✓ Set de Glicemia enzimática.
- ✓ Solución salina 0.9%.
- ✓ Reactivo de Alloxano.(monohidratado)
- ✓ Alcohol medicinal.
- ✓ Violeta de genciana.

1.6. TÉCNICAS USADAS EN LA RECOLECCIÓN DE DATOS

1.6.1. Peso Corporal

Se pesaron a todos los animales para calcular la dosis y volumen de inóculo de la sustancia a estudiar.

1.6.2. Bioquímica clínica

Toma de muestra

Técnica de la Punción venosa

Las muestras de sangre fueron tomadas por punción venosa (vena caudal). La toma de muestra de los grupos experimentales se realizó en el basal, hiperglucemia inducida, a: 1 hora, 3 horas, 6 horas, 12 horas y 24 horas del estudio.

Procedimiento:

- ✓ Sujetar al animal adecuadamente, de tal forma que quede en posición de cúbito dorsal en la palma de la mano del manipulador.
- ✓ Desinfectar con alcohol la zona de la cola.
- ✓ La vena se ve lateralmente cerca de la base de la cola, se requiere buena iluminación y dilatación para observarse mejor.
- ✓ De 1 o 2 mm de la punta de la cola pueden cortarse y la sangre es recogida. Si la sangre no sale, se puede “ordeñar” la cola.
- ✓ Extraer 75 µl de sangre caudal con capilares heparinizados
- ✓ Procesar la muestra para su respectivo análisis.

1.6.3. Procesamiento de las muestras

La muestra de sangre recolectada fueron centrifugadas durante cinco minutos a 3000 rpm., para la obtención del plasma; la cual se procesó con los reactivos **Marca Human**, para determinar los parámetros bioquímicos.

Para la determinación de las pruebas bioquímicas se utilizaron los siguientes métodos:(Ver Anexo N° 5)

1.6.4. Método para la determinación enzimática de Glicemia(ver Anexo N°6)

Niveles de glucosa.....Método Enzimático: Glucosa oxidasa

En el método GOD-POD, en un primer paso la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la D-glucosa a ácido D-glucónico con formación de peróxido de hidrógeno. Éste es utilizado por la peroxidasa para oxidar a la 4-aminofenazona y al fenol, dando lugar a una quinonamina coloreada. La intensidad de color será proporcional a la concentración de glucosa presente inicialmente. (En ocasiones se utilizan otros sustratos en lugar de 4-aminofenazona+fenol, tales como o-dianisidina, guayacol y ABTS.).

1.7. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS.

Los resultados obtenidos en el ensayo, se expresarán en términos de valores resultantes y se expresarán de la siguiente manera:

- Se calculó la media y desviación estándar, que serán presentados mediante tablas y gráficas.
- Los datos fueron procesados mediante un análisis de varianza de una vía (ANOVA) con un nivel de significancia de $p < 0.05$.
- Todo el procedimiento estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 18.0 y Microsoft Excel 2010.

1.8.PROTECCIÓN DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES.

Las investigaciones biomédicas tienen una responsabilidad ética de salvaguardar la salud y el bienestar de los animales de experimentación, preservándolos de cualquier daño, dolor y sufrimiento innecesario antes, durante y después del periodo de estudio. La experimentación con animales debe ser convenientemente emprendida sólo después de verificar la relevancia de dicho acto, por salud animal y el adelanto del conocimiento científico. ⁽⁵²⁾

La experimentación animal es hoy una actividad básica de la ciencia médica. A ella se oponen los movimientos pro derechos animales, normalmente fundados en una visión meramente natural del hombre y los animales, que los iguala. Los resultados encontrados en los animales son parcialmente aplicables al hombre y la diferencia cualitativa entre el hombre y el animal es el fundamento que permite la experimentación animal. ⁽⁵³⁾

Los Principios de Técnicas de Experimentación y el uso humanitario de los animales de laboratorio están fuertemente ligados. En dicho tratado describieron por primera vez el hoy conocido lema de las tres (R) en el uso de animales de experimentación: reducción, refinamiento y reemplazo. Mientras que la sustitución de los animales por otros métodos debería ser una inquietud en todos los investigadores, el refinamiento de los experimentos y la reducción en el número de los animales utilizados son aspectos fundamentales, de los cuales se ocupa esta nueva rama de las ciencias biológicas. ⁽⁵⁴⁾

El refinamiento involucra, fundamentalmente, la normalización según parámetros internacionales, la definición genética y del estado microbiológico de los animales utilizados (animales definidos) y la calidad del ambiente donde son criados, antes y durante la experimentación. Los progresos en el refinamiento de los experimentos llevarían, por si solos, a la reducción en el número de animales utilizados. ⁽⁵⁵⁾



CAPITULO IV

I. RESULTADOS.

1. Inducción de Hiperglicemia.

TABLA N°10: Niveles de glicemia sérica post administración de Alloxano al 5%, en todos los grupos experimentales.

GRUPOS	GLICEMIA BASAL	HIPERGLICEMIA BASAL
Control Negativo	89.96 ± 6.98	310.02± 21.73 *
Glibenclamida 0.25mg	88.79± 2.46	355.29± 33.13 *
Tabebuia obscura 25mg/Kg	85.88±5.27	363.97±41.05 *
Tabebuia obscura 50mg/Kg	86.60 ± 4.34	337.39 ± 36.32*

X ± SD: Promedio y desviación standart. *: p < 0.05

GRUPO 1: Control positivo: Glibenclamida 0.25mg

GRUPO 2: Control negativo: NaCl 0.9%

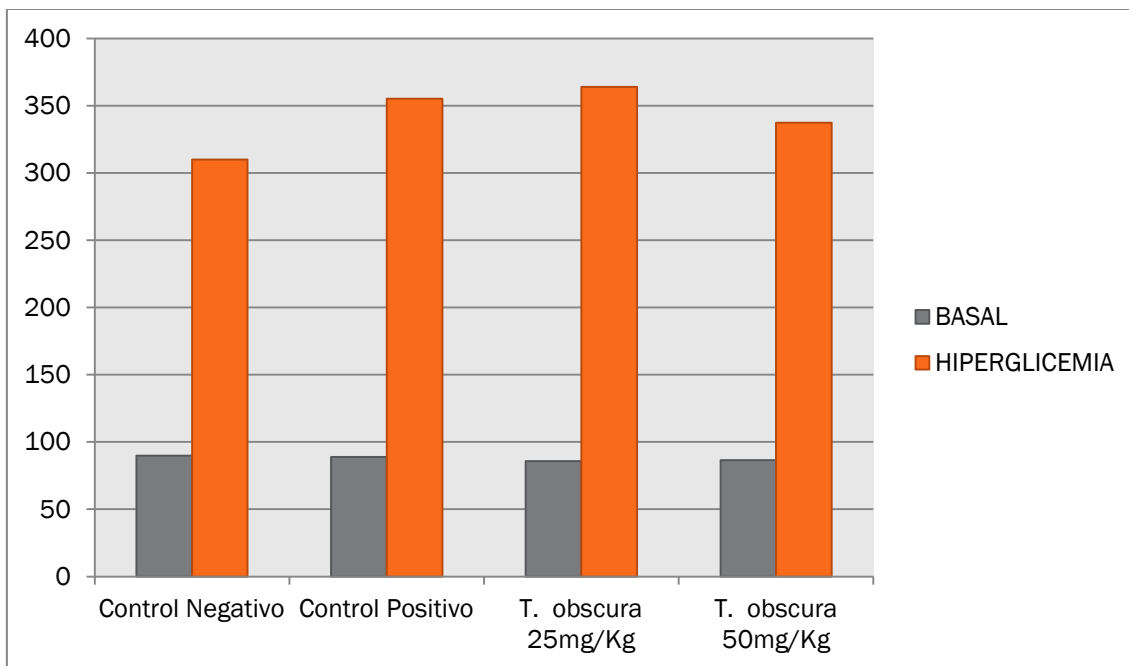
GRUPO 3: Tabebuia obscura 25mg/Kg de peso corporal

GRUPO 4: Tabebuia obscura 50mg/Kg de peso corporal

En la **Tabla N°010**, se muestran el promedio y desviación estándar de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos, donde se aprecian los niveles de hiperglicemia post administración de Alloxano al 5%.

Se evidencia una diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), en todos los grupos experimentales (Grupo 1: Basal 89.96 mg/dL; hiperglicemia 310.02 mg/dL; Grupo 2: Basal 88.79 mg/dL; hiperglicemia 355.29 mg/dL; Grupo 3: Basal 85.88 mg/dL, hiperglicemia 363.97 mg/dL; Grupo 4: Basal 86.60mg/dL; hiperglicemia 337.39mg/dL).

GRÁFICO N° 01: Niveles de glicemia sérica post administración de Alloxano al 5%, en todos los grupos experimentales.



En el Grafico N° 01: Muestran los niveles de glicemia sérica post administración de Alloxano al 5%, donde se aprecia un incremento significativo en niveles hiperglicémicos en todos los grupos experimentales (**Grupo 1: 310.02 mg/dL.; Grupo 2: 355.29mg/dL; Grupo 3: 363.97mg/dL; Grupo 4: 337.39mg/dL.**).

2. Evaluación del efecto hipoglicemiante:

TABLA N°11: Niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos, en todos los grupos experimentales y durante todo el experimento.

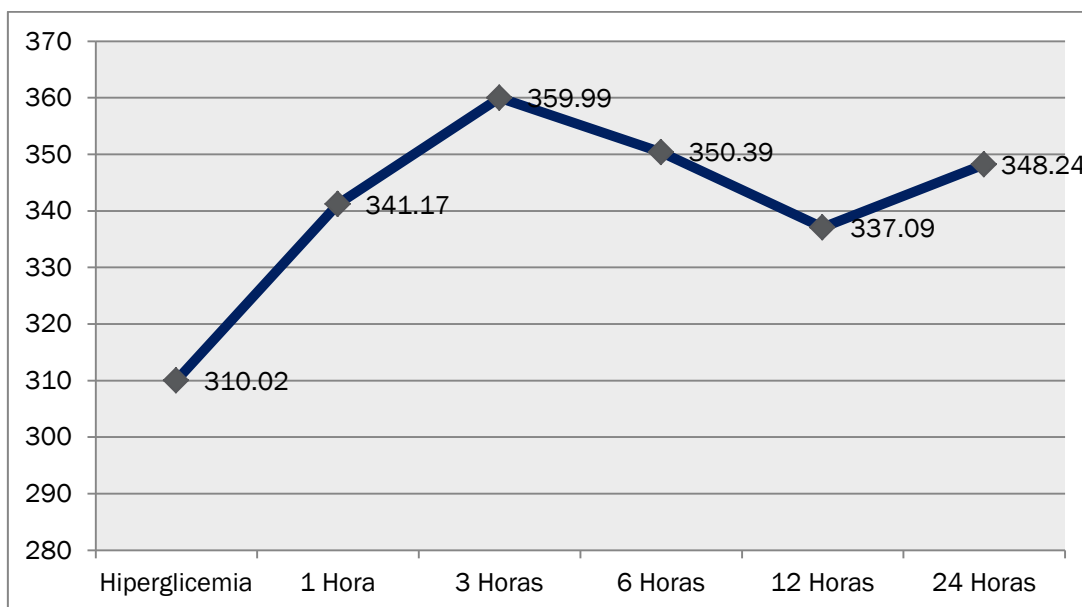
GRUPOS	BASAL HIPERGLICEMICO X ± SD	GLICEMIA 1 HORA X ± SD	GLICEMIA 3 HORAS X ± SD	GLICEMIA 6 HORAS X ± SD	GLICEMIA 12HORAS X ± SD	GLICEMIA 24 HORAS X ± SD
Control Negativo	310.02± 21.73	341.17± 25.49	359.99± 36.13	350.39± 34.71	337.09± 26.10	348.24± 26.41
Glibenclamida 0.25mg	355.30± 33.13	311.06± 21.70	309.82± 21.67*	198.04± 28.72*	211.98± 15.73*	184.45 ± 7.73*
<i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	363.97±41.05	299.38 ± 44.27*	243.88 ±13.35*	211.64 ±25.51*	216.90 ± 42.98*	209.21 ± 14.09*
<i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	337.39 ± 36.32	341.91 ± 22.16	296.03 ± 48.24*	237.99 ± 49.11*	254.27 ± 66.07*	269.49 ± 39.74*

X ± SD: Promedio y desviación standart. *: p < 0.05
 GRUPO 1: Control positivo: Glibenclamida 0.25mg
 GRUPO 2: Control negativo: NaCl 0.9%
 GRUPO 3: *Tabebuia obscura* 25mg/Kg de peso corporal
 GRUPO 4: *Tabebuia obscura* 50mg/Kg de peso corporal

En la Tabla 2: En el Grupo 1: Control Negativo no presento evidencia de disminución de la glicemia; en el Grupo 2: Glibenclamida 0.25mg, se presentó solo una ligera reducción, no encontrándose diferencia estadística significativa; en el Grupo 3: *Tabebuia obscura*, a dosis de 25mg/Kg., evidenció diferencia estadística significativa a las 3 horas (238.12mg/dL); 6 horas (202.16 mg/dL); 12 horas (144.72 mg/dL) y 24 horas (175.21 mg/dL) respectivamente. *Tabebuia obscura*, a dosis de 50mg/dL., evidencio diferencia significativa a la 1 hora (277.2 mg/dL); 3 horas (239.67 mg/dL); a las 6 horas (217.74 mg/dL); a las 12 horas (195.03 mg/dL); 24 horas (213.16 mg/dL).

2.1. Control negativo

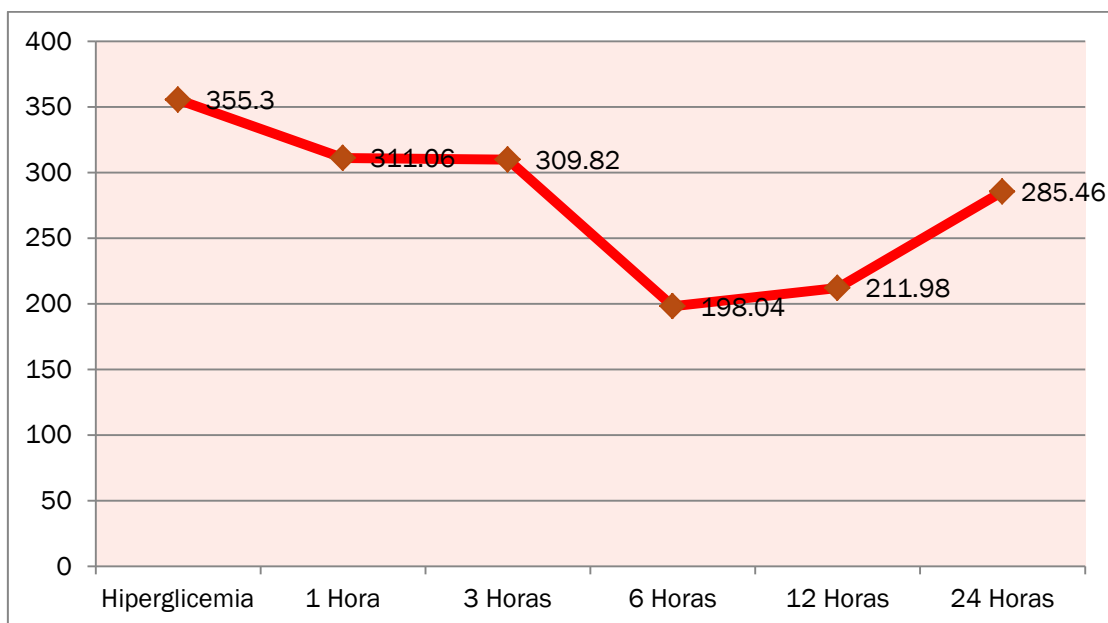
GRAFICO N° 02: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, según el grupo control negativo.



En el Grafico N° 02: En el Grupo 1: Control positivo, no presento evidencia estadística significativa

2.2. Control positivo

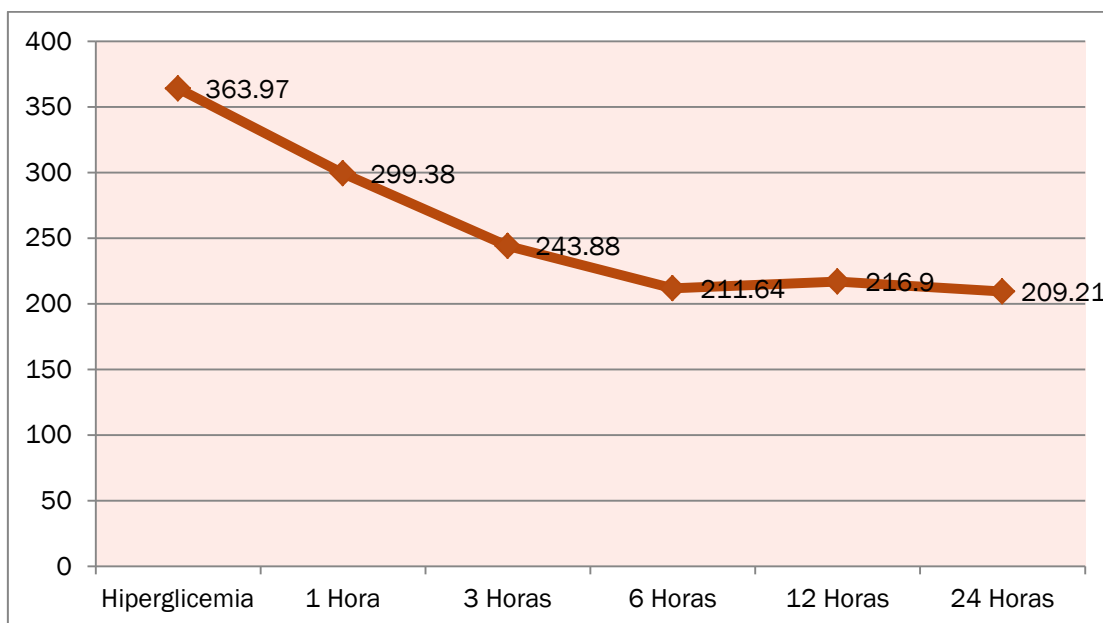
GRAFICO N° 03: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del Extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, según el grupo control positivo.



En el Grupo N° 03: En el Grupo 2: Control positivo, presento evidencia estadística significativa a las 3 horas (309.82 mg/dL), a las 6 horas (198.04 mg7dL), a las 12 horas (211.98 mg/dL) y a las 24 horas (184.45 mg/dL) respectivamente.

2.3. Grupo control *Tabebuia obscura* 25mg/Kg

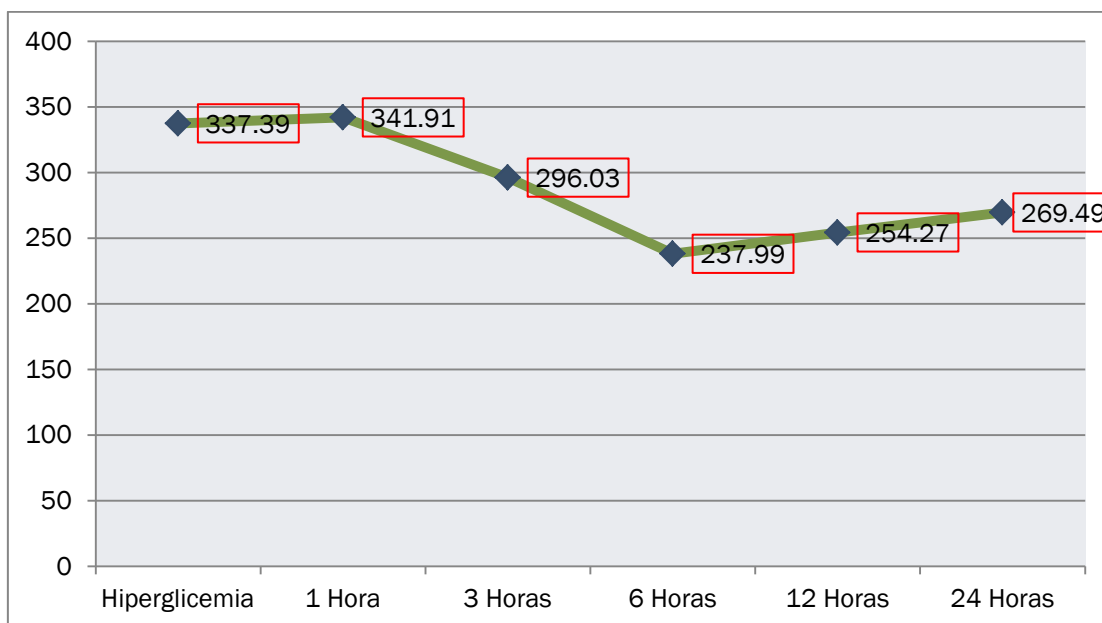
Grafico N° 04: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, según el grupo control *Tabebuia obscura* 25mg/Kg.



En el Grafico N° 04: Grupo 3: Dosis de *Tabebuia obscura* de 25mg/Kg, presento evidencia estadística significativa a la 1 hora (299.38 mg/dL); a las 3 horas (243.88 mg/dL); a las 6 horas (211.64 mg/dL); a las 12 horas (216.90 mg/dL) y a las 24 horas (209.21) respectivamente.

2.4. Grupo control *Tabebuia obscura* 50mg/Kg

Grafico N° 05: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del Extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura*, según el grupo control *Tabebuia obscura* 50mg/Kg



En el Grafico N° 05: Grupo 4: Dosis de *Tabebuia obscura* de 25mg/Kg, presento evidencia estadística significativa a las 3 horas (296.03 mg/dL); a las 6 horas (237.99 mg/dL); a las 12 horas (254.27 mg/dL) y a las 24 horas (269.49 mg/Kg) respectivamente.

3. Comparación del efecto hipoglicemiante del grupo control positivo en relación al grupo control *Tabebuia obscura* 25mg/Kg y grupo control *Tabebuia obscura* 50mg/Kg

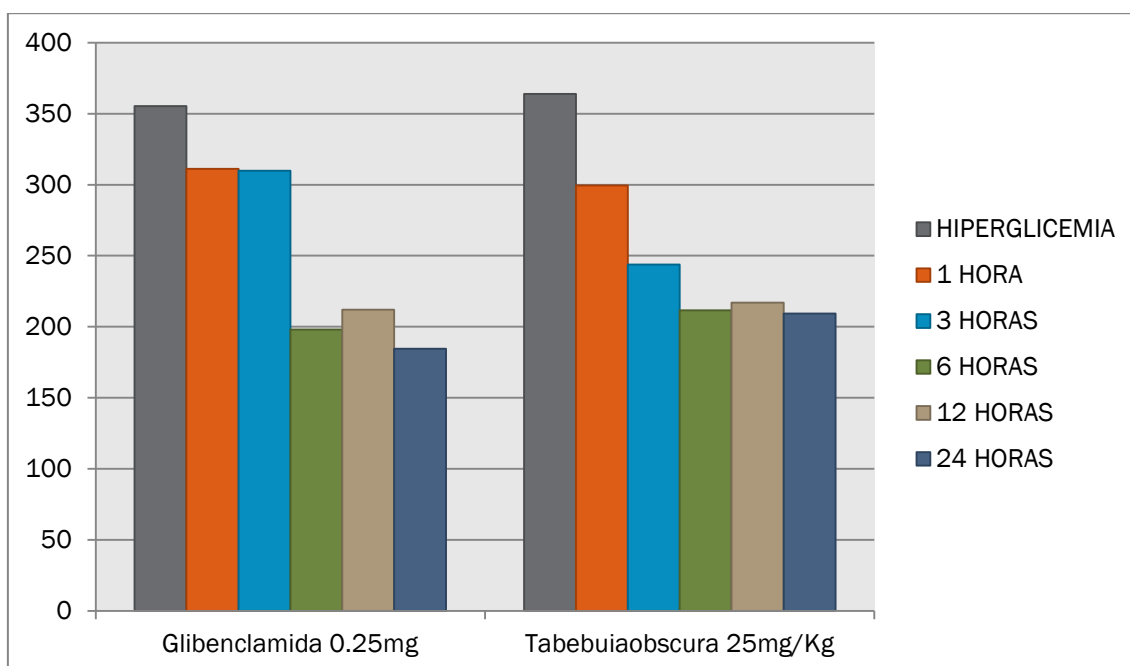
3.1. Comparación del efecto de la control positivo en relación al grupo control *Tabebuia obscura* 25mg/Kg

Tabla N° 12: Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 0.25mg respecto a *Tabebuia obscura* 25mg/Kg.

	BASAL HIPERGLICEMICO X ± SD	GLICEMIA 1 HORA X ± SD	GLICEMIA 3 HORAS X ± SD	GLICEMIA 6 HORAS X ± SD	GLICEMIA 12 HORAS X ± SD	GLICEMIA 24 HORAS X ± SD
Glibenclamida 0.25mg	355.30 ± 33.13	311.06 ± 21.07	309.82 ± 21.67*	198.04 ± 28.72*	211.98 ± 15.73*	184.45 ± 7.73*
<i>Tabebuia obscura</i> 25mg/Kg	363.97 ± 41.05	299.38 ± 44.27*	243.88 ± 13.35*	211.64 ± 25.51*	216.90 ± 42.98*	209.21 ± 14.09*

En la Tabla N° 12: En el Grupo 2: Control Positivo presento evidencia estadística significativa a las 3 horas (309.82 mg/dL); a las 6 horas (198.04 mg/dL); a las 12 horas (211.98 mg/dL); y a las 24 horas (184.45 mg/dL). En el grupo 3: *Tabebuia obscura* 25 mg/Kg evidencio significancia estadística a la 1 hora (299.38 mg/dL); a las 3 horas (243.88 mg/dL); a las 6 horas (211.64 mg/dL); a las 12 horas (216.90 mg/dL) y a las 24 horas (209.21 mg/dL) respectivamente

Grafico N° 06. Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 0.25mg respecto a *Tabebuia obscura* 25mg/Kg.



En el Grafico N° 06: En el Grupo 2: Control Positivo presenta una disminución de la glicemia (184.45 mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de Tratamiento; mientras que en el Grupo 3: *Tabebuia obscura*, a dosis de 25mg/Kg., presenta una mayor disminución de la glicemia a las 6 horas (211.64 mg/dL) y 24 horas (209.21 mg/dL) de tratamiento

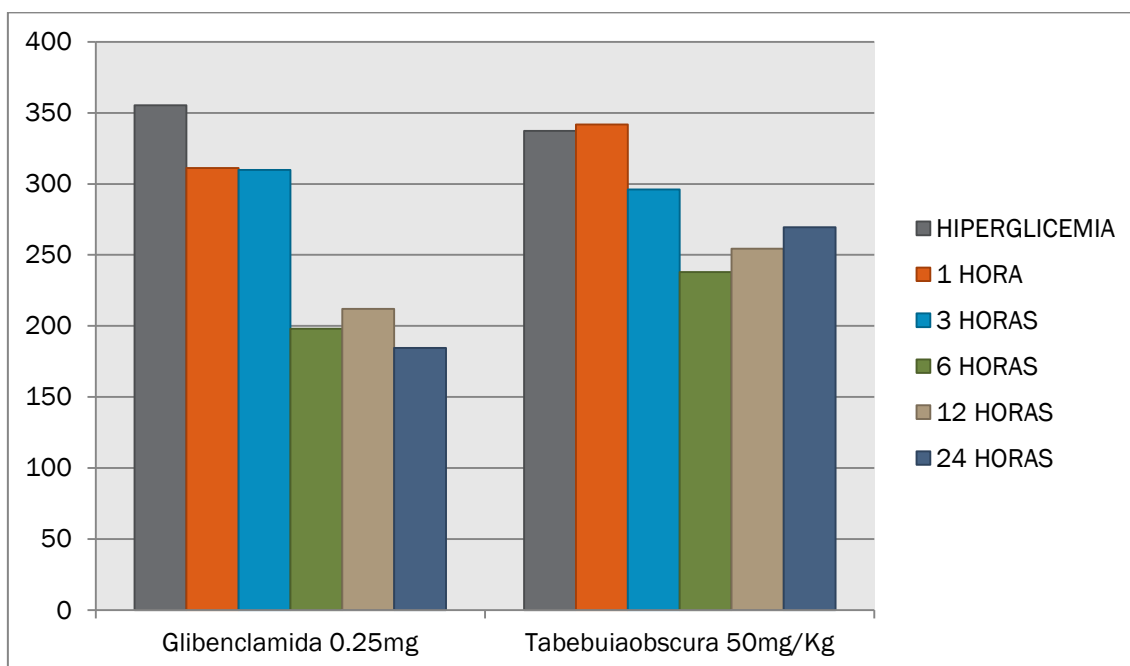
3.2. Comparación del efecto de la control positivo en relación al grupo control *Tabebuia obscura* 50mg/Kg

Tabla N° 13: Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 0.25mg respecto a *Tabebuia obscura* 50mg/Kg.

GRUPOS	BASAL HIPERGLICEMICO X ± SD	GLICEMIA 1 HORA X ± SD	GLICEMIA 3 HORAS X ± SD	GLICEMIA 6 HORAS X ± SD	GLICEMIA 12HORAS X ± SD	GLICEMIA 24 HORAS X ± SD
Glibenclamida 0.25mg	355.30 ± 33.13	311.06 ± 21.07	309.82 ± 21.67*	198.04 ± 28.72*	211.98 ± 15.73*	184.45 ± 7.73*
<i>Tabebuia obscura</i> 50mg/Kg	337.39 ± 36.32	341.91 ± 22.16	296.03 ± 48.24*	237.99 ± 49.11*	254.27 ± 66.07*	269.49 ± 39.74*

En la Tabla N° 13: En el Grupo 2: Control Positivo presento evidencia estadística significativa a las 3 horas (309.82 mg/dL); a las 6 horas (198.04 mg/dL); a las 12 horas (211.98 mg/dL); y a las 24 horas (184.45 mg/dL). En el grupo 3: *Tabebuia obscura* 50mg/Kg evidencio significancia estadística a las 3 horas (296.03 mg/dL); a las 6 horas (237.99 mg/dL); a las 12 horas (254.27 mg/dL) y a las 24 horas (269.49 mg/dL) respectivamente

Grafico N° 07. Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 0.25mg respecto a *Tabebuia obscura* 50mg/Kg.



En el Grafico N° 07: En el Grupo 2: Control Positivo presenta una disminución de la glicemia (184.45 mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de Tratamiento; mientras que en el Grupo 4: *Tabebuia obscura*, a dosis de 50mg/Kg., presenta una mayor disminución de la glicemia (254.27mg/dL) con respecto a su basal a las 12 horas de tratamiento.

3.3. Comparación del efecto hipoglicemiante entre el grupo control *Tabebuia obscura* 250mg/Kg y el grupo control *Tabebuia obscura* 500mg/Kg

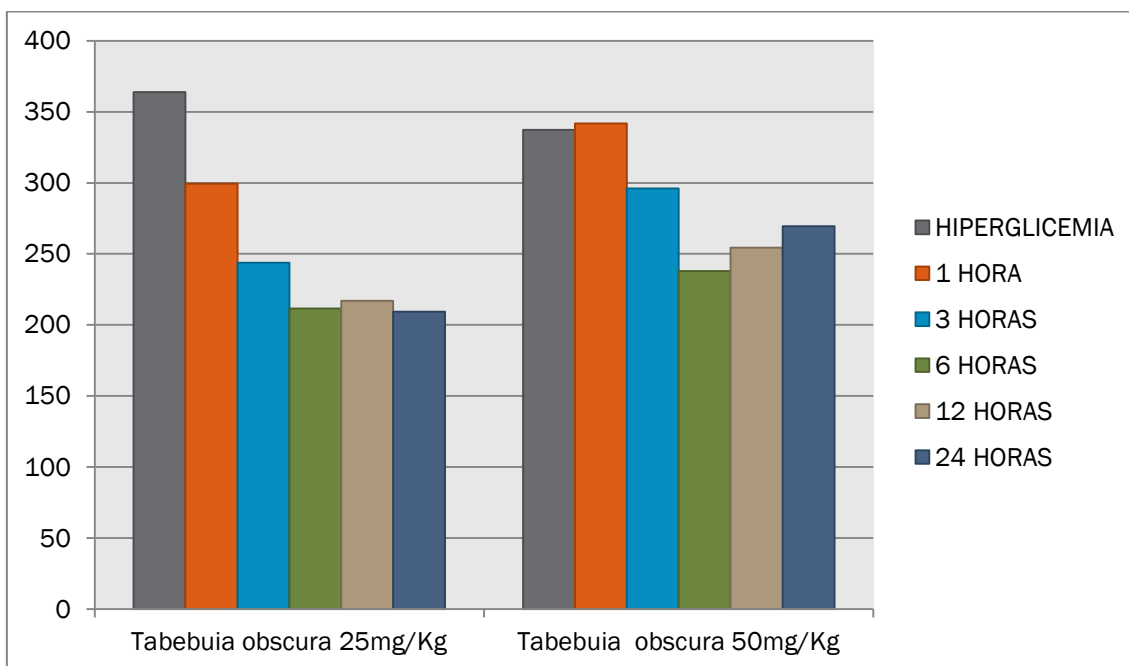
Tabla N° 14: Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/kg. Respecto a *Tabebuia obscura* a dosis de 50 mg/Kg.

GRUPOS	BASAL HIPERGLICEMICO X ± SD	GLICEMIA 1 HORA X ± SD	GLICEMIA 3 HORAS X ± SD	GLICEMIA 6 HORAS X ± SD	GLICEMIA 12HORAS X ± SD	GLICEMIA 24 HORAS X ± SD
<i>Tabebuia obscura</i> 250 mg/Kg	363.97 ± 41.05	299.38 ± 44.27*	243.88 ± 13.35*	211.64 ± 25.51*	216.90 ± 42.98*	209.21 ± 14.09*
<i>Tabebuia obscura</i> 500 mg/Kg	337.39 ± 36.32	341.91 ± 22.16	296.03 ± 48.24*	237.99 ± 49.11*	254.27 ± 66.07*	269.49 ± 39.74*

En la Tabla N° 14: En el grupo 3: *Tabebuia obscura* 25mg/Kg evidencio significancia estadística a la 1 hora (299.38 mg/dL); a las 3 horas (243.88 mg/dL); a las 6 horas (211.64 mg/dL); a las 12 horas (216.90 mg/dL) y a las 24 horas (209.21 mg/dL).

En el grupo 3: *Tabebuia obscura* 50mg/Kg evidencio significancia estadística a las 3 horas (296.03 mg/dL); a las 6 horas (237.99 mg/dL); a las 12 horas (254.27 mg/dL) y a las 24 horas (269.49 mg/dL) respectivamente

Grafico N° 08. Comparación del efecto sobre los niveles de glicemia de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/kg. Respecto a *Tabebuia obscura* a dosis de 50mg/Kg.



En el Grafico N° 08: En el Grupo de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/Kg se observa una disminución significativa de los niveles de glicemia a las 12 horas (211.64 mg/dL.) y a las 24 horas (209.21 mg/dL) de Tratamiento; mientras que en el Grupo de *Tabebuia obscura* a dosis de 50mg/Kg., presenta una mayor disminución de la glicemia (254.27 mg/dL) con respecto a su basal a las 12 horas de tratamiento.

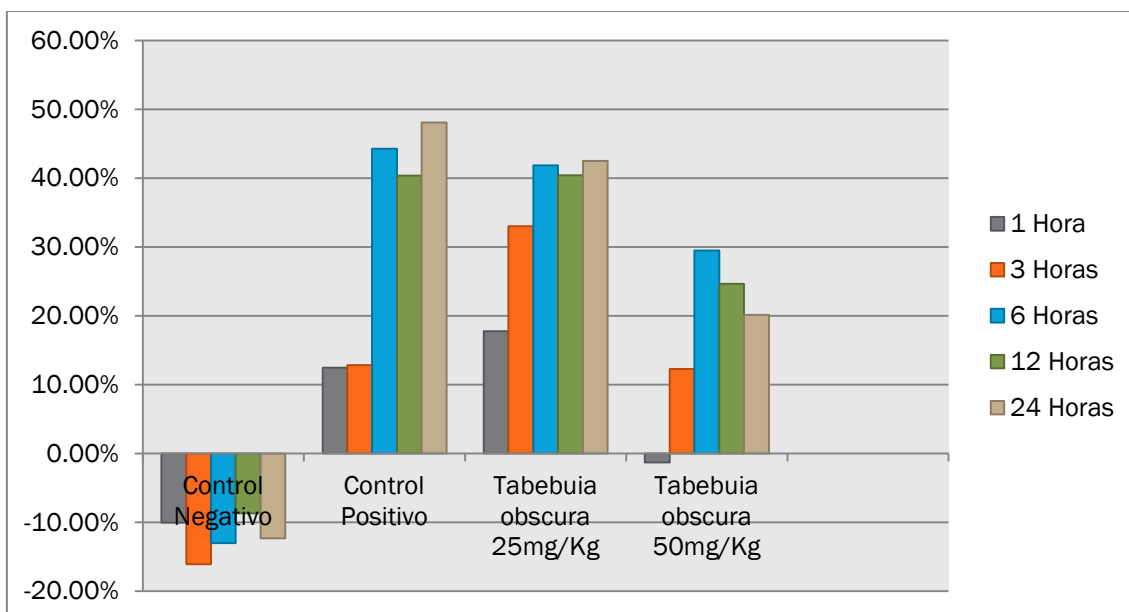
4. Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia

TABLA N°15: Porcentaje de disminución de los niveles de séricos de glicemia en ratas albinas, en todos los grupos experimentales.

GRUPOS CONTROL	1 HORA	3 HORAS	6 HORAS	12 HORAS	24 HORAS
Control Negativo	-10.04%	-16.12%	-13.02%	-8.73%	-12.33%
Control Positivo	12.45%	12.80%	44.26%	40.34%	48.09%
Tabebuia obscura 250mg/Kg	17.76%	32.99%	41.85%	40.41%	42.51%
Tabebuia obscura 500mg/Kg	-1.34%	12.26%	29.46%	24.64%	20.13%

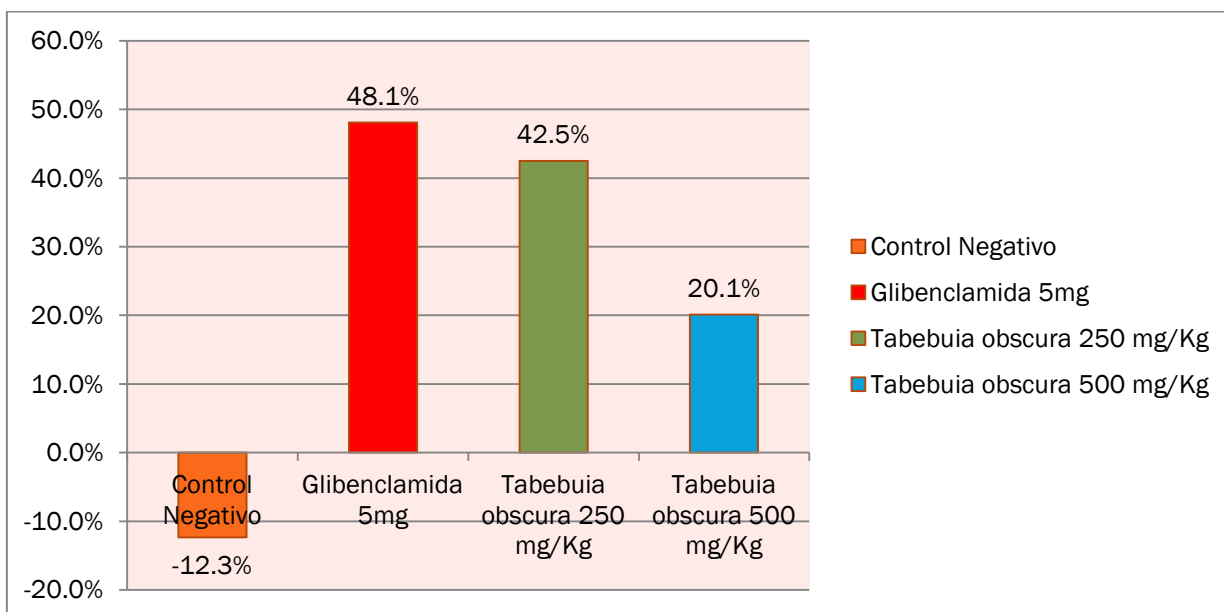
En la Tabla N°15: Se muestra el porcentaje de disminución de los niveles de glicemia en ratas albinas de todos los grupos experimentales. Se observa que el grupo que utilizó Glibenclamida 0.25mg, produjo una disminución de 48.09% a las 24 horas de tratamiento; mientras que el grupo de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/Kg. manifestó una disminución del 42.51% a las 24 horas de tratamiento; en el grupo de *Tabebuia obscura* a dosis de 50mg/Kg. solo produjo una disminución del 29.46% en los niveles de glicemia a las 6 horas de tratamiento.

GRAFICO N° 09: Porcentaje de disminución de los niveles de glicemia sérica según grupos experimentales y tiempo de tratamiento.



En el Grafico N° 09: Se muestra el porcentaje del comportamiento de los niveles de glicemia sérica en todos los grupos experimentales y durante todo el tratamiento; en el grupo control negativo se aprecia mínimo o casi nulo porcentaje de disminución de los niveles de glicemia, mientras que en el grupo control positivo se aprecia solo un mayor porcentaje de disminución de la glicemia a las 24 horas, así mismo para los grupos de *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/Kg y 50mg/Kg, se aprecia un incremento progresivo de los porcentajes de disminución de Glicemia sérica, siendo el mayor en el grupo de *Tabebuia obscura*, de 25mg/Kg a las 24 horas con 42.51%, y el grupo de *Tabebuia obscura* de 50mg/Kg. a las 6 horas con 29.46%.

GRAFICO N°10: Porcentajes mayores de disminución del nivel sérico de glicemia de todos los grupos experimentales, a las 24 horas en ratas diabéticas.



En el grafico N° 10: Se muestran los porcentajes mayores de disminución de los niveles de Glicemia en todos los grupos experimentales; en el grupo de Glibenclamida solo se obtuvo una disminución del 31.0%, asimismo en el grupo de *Tabebuia obscura* a dosis de 250mg/Kg manifestó el mayor porcentaje con un 53.8% en comparación al grupo de *Tabebuia obscura* a dosis 500mg/Kg que solo obtuvo un 45.6%.

II. DISCUSION.

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar el efecto hipoglicemiante in vivo del extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* a las dosis de 25mg/kg y 50mg/Kg de peso corporal.

El efecto hipoglicemiante de *Tabebuia obscura* fue evaluado a través del modelo de diabetes experimental inducido por Alloxano, este produce una destrucción selectiva de las células beta de los islotes de Langerhans debido a la generación de radicales libres que induce a la ruptura del ADN produciendo una disminución en la liberación de insulina lo cual ocasiona un aumento de glucosa. El mecanismo del daño pancreático por el Alloxano se justifica a su similitud molecular con la estructura de la glicemia.

En el grupo control negativo (suero fisiológico) los valores de glucosa fueron creciendo progresivamente (basal hiperglicémico=310.02 mg/dl, 1^{era} hora=341.18 mg/dl, 3^{era} hora=359.99 mg/dl, 6^{ta} hora=350.39 mg/dl, 12va hora=337.09 mg/dl, y 24^{va} hora=348.24 mg/dl), esto se debe a que en este grupo no existe tratamiento alguno que contrarreste el aumento de glicemia (hiperglicemia).

Los resultado obtenidos por el grupo control positivo muestran una disminución marcada de los niveles séricos de glicemia desde la 6hora hasta la 24hora, esto evidencia el potencial farmacológico por parte de este fármaco (Glibenclamida), esto se debe a que la Glibenclamida administrada por vía oral tiene un tiempo de vida media de 10 horas y una duración de acción de 24 horas.

Estos resultados coinciden con los reportados por **Arroyo Jorge, et al. (2009)** ⁽¹⁹⁾. Donde reporta que los pacientes con diabetes tipo 2 que están recibiendo tratamiento con Glibenclamida, al administrarles extracto etanolico de la hojas de *Annona muricata L.*, determino la eficacia y seguridad de uso y concluye que la Glibenclamida asociado al uso del extracto etanolico produce una mayor disminución en los niveles de glicemia en pacientes con diabetes tipo 2.

En nuestro estudio encontramos una disminución de los valores de glicemia por parte *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/kg de peso corporal desde 1^{ra} de administrado el extracto, siendo a la 6^{ta} 211.64 mg/dL y la 24 horas 209.21 mg/dL las que presentaron mayor disminución de los valores de glicemia respecto a su hiperglicemia y sus respectivos controles. Por otro lado el extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* a dosis de 50mg/kg de peso corporal presentó disminuciones fluctuantes en los valores de glicemia desde la 6^{ta} 237.99 mg/dL, 12^{va} 254.27 mg/dL y 24^{va} 269.49 mg/dL respecto a su hiperglicemia basal y respectivos controles; esto nos indica que el extracto acuoso liofilizado de *Tabebuia obscura* tiene mayor efecto a dosis de 25mg/kg de peso corporal que a la dosis de 50mg/kg de peso corporal, siendo estas inversamente proporcional a su dosis.

Por consiguiente esto concuerda con los resultados reportados por **Grandes R. Maritza Dra. (2010)** ⁽¹⁸⁾. En la evaluación de la actividad hipoglicemiante y toxicidad aguda de la corteza de *Tabebuia serratifolia*, a dosis de 100 y 200 mg/Kg de peso corporal; donde reporto la eficacia y seguridad del extracto para controlar los altos niveles séricos de glicemia en sangre, disminuyendo los valores de glicemia de 439.30 a 321.34 y 463.35

a 365.25 mg/dL, respectivamente en los animales de experimentación comprobándose la efectividad de la evaluación para la diabetes tipo 2

Este efecto hipoglicemiente puede estar relacionado a la presencia de los flavonoides y fenoles cuya presencia en esta especie ha sido reportado por **Delgado. W. Henry; Villacrez V. Isaac⁽¹⁷⁾**; estos compuestos poseen estructuras catecol (o- dihydroxil) y que pueden donar electrones fácilmente ya que poseen grupos hidroxilos en posición próxima y por lo tanto ejercen una poderosa actividad de barrer electrones, edemas pueden unirse a enzimas, que a los iones metálicos transitorio tales como hierro, cobre y zinc, catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres. Sus propiedades anti-radicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidróxido y superoxido, especies altamente reactivas, es decir poseen un efecto protector frente a los fenómenos de daño oxidativo por lo tanto no es de extrañar que la *Tabebuia obscura* protejan las complicaciones producidas por la diabetes.

Asimismo, **Alonso. R., Jorge Dr. (2006)⁽²³⁾**. Jornada “**Medicinas complementarias y su respaldo científico**”. Reporto la presencia de Cromo, oligoelemento indispensable para el correcto funcionamiento del organismo, demostrando que regula el metabolismo de los azúcares (actúa sobre la secreción de insulina y la absorción de glucosa), como sobre el metabolismo de los lípidos. También demostró la presencia de especies ricas en polisacáridos: se distinguen dos grupos. Plantas con elevado contenido de mucilagos y otros con elevados contenido de azúcares reductores. Además, son hipocolesterolemiantes, ya que forman complejos y eliminan las sales biliares interfiriendo en la absorción del colesterol.

Por lo tanto, en el presente trabajo de investigación se demostró que el Alloxano produjo lesión y muerte de las células beta pancreática en los animales de experimentación sin recibir tratamiento (control negativo), en tanto, que los tratados con el extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, se evidenció efecto hipoglicemiante por parte de esta planta.

III. CONCLUSIONES.

- ❖ La inducción de diabetes experimental por Alloxano al 5% a dosis de 135mg/Kg a los animales de experimentación demostró ser efectiva, la cual valido la evaluación de la actividad hipoglicemiante de la especie vegetal en estudio.
- ❖ El extracto vegetal que presento actividad hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes inducida por Alloxano fue *Tabebuia obscura* a dosis de 25mg/Kg y 50mg/Kg.
- ❖ La dosis del extracto acuoso liofilizado que presento mayor actividad hipoglicemiante fue la dosis de 25mg/Kg, que tuvo la tendencia de reducir los niveles de glicemia en los animales con diabetes inducida por Alloxano.
- ❖ Las dosis de 25mg/Kg del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, mostro efectividad hipoglicemiante a la 1^{ra} hora con 299.38mg/dL, continuo a la 6^{ta} hora con 211.64mg/dL y a la 24^{va} hora con 209.21mg/dL. Respectivamente.
- ❖ La dosis de 50mg/Kg del extracto acuoso liofilizado de la corteza de *Tabebuia obscura*, mostro efectividad hipoglicemiante a la 6^{ta} hora con 237.99 mg/dL y a la 12^{va} 254.27mg/Kg respectivamente.

IV. RECOMENDACIONES.

- ❖ Incluir un mayor número de animales de experimentación.
- ❖ Incluir dentro de las pruebas bioquímicas marcadores de daño hepático y pancreático.
- ❖ Efectuar pruebas de toxicidad a la fracción responsable de la actividad hipoglicemiante.
- ❖ Realizar estudios de diabetes experimental usando **Streptozotocine**, que es una sustancia que induce hiperglicemia simulando la diabetes tipo.
- ❖ Efectuar ensayos de la actividad hipoglicemiante con el método de dosis repetida, utilizando dosis y concentraciones menores a las utilizadas en el presente estudio.
- ❖ Realizar el estudio histopatológico del páncreas para observar la lesión o degradación de las células beta.
- ❖ Se recomienda el consumo de *Tabebuia obscura* (tahuari negro) para el control de glicemia en sangre. Sin embargo consideramos que sería importante poder comprobarlo en personas con problemas de diabetes.



CAPITULO V

I. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. Organización mundial de la salud. Disponible en:
<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
2. Lilacs: diabetes en el mundo. Venezuela. Disponible en:
<http://www.adaptogeno.com/svms/noticias/noticia165.asp>.
3. Linares, E.; Flores, B.; Bye, R. 2006. Selección de plantas medicinales de México. 1era Edición. México. 2006. 125pag. Disponible en:
http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_VIII/OVIII-03.pdf
4. Jornada medicinas complementarias y su respaldo científico. Memorias. Pag. 8 pdf. Cuscatlán. El Salvador. 2006. Disponible en:
<http://www.usam.edu.sv/usam/images/stories/ARTICULOSICTUSAM/memoria%20jornada1.PDF>
5. Terra. 2011. diabetes. Perú. Disponible en:
<http://www.terra.com.pe/noticias/4/4751.html>.
6. Flores P., (1997). Cultivos de Frutales Nativos Amazónicos. TCA- Tratado de Cooperación Amazónica-secretaría Pro-Tempore. 307 pág.
7. C. Reynel R. T. Pennington T. D. Pennington C. Flores A. Daza. 2008. Árboles útiles de la Amazonía Peruana un manual con apuntes de identificación, ecología y propagación de las especies.. Pag 3-4.
8. MOSTACERO L., MEJIA C., GAMARRA T. (2002). Taxonomía de los fanerogramas útiles en el Perú. Volumen II. Pag. 378, 97-291.
9. FONT Q, Dr (1981). EL DIOSCORIDE RENOVADO. Plantas medicinales. Editorial Labor S.A. Séptima edición. Pag. 120-124

10. Instituto de Investigaciones para la Amazonía peruana – IIAP.2010. Taller "La Amazonía: Aporte de la ciencia a su conocimiento y el estado de salud de su población" Contribución de la etnomedicina - plantas medicinales, a la salud de la población en la Amazonía. Editorial. Elsa Liliana Rengifo Salgado. Pag 13-15
11. S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras. (2002). Departamento de Fisiología, Universidad de León y Hospital de León. España. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.pdf pag 1-2. Disponible en:
http://www.recursosdeenologia.com/docs/2002/2002_los_flavonoides_propiedades_y_acciones_antioxidantes.pdf
12. Rosario de FelipeM.,Pozuelo J. (2004). Flavonoides, Isoflavonoides y Salud. Centro de Ciencias Medioambientales (CIS) Schironia N° 3. Disponible en:
www.ehu.es/biomoleculas/hc/sugar33c4.
13. Tema de Farmaconocia: Plantas Medicinales. Taninos.Disponible en:
<http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/taninos/>
14. Lincoln T., Zeiger C. (2006). Clasificación y Funciones de los Metabolitos Secundarios y Defensas de las Plantas Secundarias. SinauerAssociates, Inc.n. Capítulo 13 pdf. Disponible en:
www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/taninos/pdf
15. Oviedo., I, Parra H., Martínez M (2002). Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. C. Exterior, C. Universitaria, Coyoacán 04510, México, D. F. México. “Efectos moduladores de tirucalanos y cicloartanoscitotóxicos en la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa inducible (inos)”. 2º Congreso Nacional de Química Médica. Disponible en:
marvaz@servidor.unam.mx.

16. Vargas. C; Paredes. R; Pacheco.T. Departamento de Química. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Las Naftoquinonas más que Pigmentos Naturales. Disponible en:
sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/libros/química/pigmentos/naftoquinonas.htm
17. **Delgado H; Villacrez., I. (2012).** Tamizaje Fitoquímico de las especies del Plan Operativo IMET-ESSALUD. Instituto de Medicina Tradicional. Informe final de Hipoglicemiantes. Pag 6-15.
18. Grandes. M. (2010). Actividad hipoglicemiante y toxicidad aguda de la corteza de *Tabebuia serratifolia* (tahuari) y evaluación fotoquímica. Disponible en: Google: www.diariolaregion.com/web/2010/11/03/investigación-de-la-unap-es-premiada-en-vii-congreso-mundial-de-medicina-tradicional/.
19. Arroyo Jorge, et al. (2009). Efecto hipoglicemiante coadyuvante del extracto etanolico de hojas de *Annona muricata L.* en pacientes con diabetes tipo 2 bajo tratamiento de Glibenclamida. Facultad de Ciencias Farmacéuticas. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S102555832009000300002&script=sci_arttext
20. Nuñez. C. Efectos del *Capsicum pubescens* (rocoto) en la glicemia e insulina de ratas con diabetes experimental (2008). Universidad católica de Santa María-Arequipa. Disponible en:
www.ucsm.edu.pe/dc423.4shared.com/doc/cRJCmf7c/preview.html
21. Tasayco. N. 2007. Actividad hipoglicemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. Disponible en:
http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2007/tsyco_yn/pdf/tasayco_yn.pdf.

22. Isaza M. Gustavo, et al. Efectos de la *Senna reticulata* en la glicemia de ratones normoglicémicos e hiperglicémicos (2006). Departamento de Ciencias Básicas. Universidad de Caldas. Manizales-Colombia. Biosalud, Volumen 5, Enero - Diciembre, 2006. págs 61 – 67. Disponible en:
http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/mednat/efectos_de_la_senna_reticulata_en_la_glicemia_de_ratones_normoglicemicos_e_hiperglicemicos.pdf
23. Alonso. R., Jorge Dr. (2006). Jornada medicinas complementarias y su respaldo científico. Cuscatlán-El Salvador. pdfpag. 13-15. Disponible en:
<http://www.usam.edu.sv/usam/images/stories/ARTICULOSICTUSAM/memoria%20jornada1.PDF>
24. Solgorre C. Enrique. Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. Albinus. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (2005). Disponible en:
http://www.cybertesis.edu.pe/sisbib/2005/solcontren_se/htm/solcontren_se.htm.
25. Utia. Patricia (2005). Evaluación del efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Pseudelephantopus spiralis* (Less) a dosis de 100 mg/Kg mediante el método de diabetes alloxanica en ratas albinas – IMET-ESsalud. 18pp
26. Sifuentes. Eduardo (2004). Evaluación preliminar de dosis y concentraciones de *Solanum sessiliflorum* Dunal, como hipoglicemiante en diabetes experimental. Facultad de Ciencias Biológicas – UNAP - PERU. 100pp
27. Zanoello. M. et al (2002). Efecto protector de *Syzygium cumini* contra la diabetes mellitus inducida por Alloxano en ratas. Disponible en:
http://www.latamjpharm.org/trabajos/21/1/LAJOP_21_1_1_6_XMNEVGSPQ4.pdf

28. Asociación Americana de Diabetes (ADA): Standard of Medical Care in Diabetes-2006. Diabetes Care, volume 29, Supplement, January 2006. Disponible en: http://care.diabetesjournals.org/content/32/supplement_1
29. Asociación Americana de Diabetes (ADA): Exercise and NIDDM. Diabetes Care 199; 16:54-58.
30. Pickup Johnand. Garet Williams. Textbook of Diabetes. The Diabetic Foot. Volumen 2. Blackwell Scientific Publications, cap. 70, pag. 735-744.
31. Franz MJ, Bantle JP, Beebe CA, Brunzel JD, Chiasson JL, Garg A, et al . Evidence-based nutrition principles and recommendations for the treatment and prevention of diabetes and related complications. Diabetes Care 25(1):148-212, 2002.
32. Asociación Americana de Diabetes (ADA). Nutrition recommendations and interventions for diabetes-2006. Diabetes Care 29(9):2140-2157, 2006.
33. Asociación Americana de Diabetes (ADA): Standard of Medical Care in Diabetes-2006. Diabetes Care, volume 29, Supplement, January 2006. Disponible en: <http://www.binasss.sa.cr/libros/diabeticas07.pdf>
34. European Diabetes Working Party for Older people 2001-2004. Clinical Guidelines for Type 2 Diabetes Mellitus. Disponible en: <http://www.euroage-diabetes.com>
35. Papel de la hemoglobina glicosilada en la diabetes mellitus. Infodiab. Boletín de la fundación para la diabetes. Disponible en: <http://www.fundaciondiabetes.org/activ/publicaciones/infodiab/infodiab54.pdf>
36. OPS. Guías ALAD de diagnóstico, control y tratamiento de Diabetes tipo 2. García de los Ríos M., et al (2008). Nutriguia Terapéutica pdf pag. 6-7. Disponible

en:<http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/IntegradoTercero/ApFisiopSist/nutricion/NutritionPDF/DiabetesMellitus.pdf>

37. Resumen Ejecutivo: Normas de Atención Médica en Diabetes-2013. *Diabetes Care*. 2013;36 (Supplement 1): S4-S10. Disponible en: <http://uptcunal.blogspot.com/2012/03/2012americandiabetesassociation.html#!/2012/03/2012-american-diabetes-association.html> }
38. Villavicencio M. (2005). Mecanismos moleculares y bioquímicos de la acción de la insulina. La diabetes mellitus y los avances en su tratamiento. Editorial Buenaventura. Perú.
39. Who Study Group Diabetes Mellitus: (2002). Diabetes Mellitus World Health Organization. Geneva FactSheet n 138.
40. Mata M, Antoñanzas., F, Tafalla M, Sanz P. (2002). El Coste de la Diabetes tipo 2 en España. El estudio CODE – 2. *GacSanit* 16.; 6:511-20
41. Google académico: 2009. Glibenclamida. Disponible en: <http://www.medizzine.com/pacientes/medicamentos/G/glibenclamida.php>.
42. Google académico. 2008. Glibenclamida componentes. Argentina. Disponible en: <http://www.labspuntanos.com.ar/index.php/component/content/article/124-jhg.html>
43. Google academic. 2008. Costa Rica. Disponible en: http://diagnopharm.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=38.
44. Karasik A, Hattor M. Use of animal model in the study of diabetes. En: Kahn CR, Weir GC, eds. *Joslin's Diabetes Mellitus*. 13th ed. Philadelphia-Baltimore: Lea and Febiger ; 1994:317-50
45. Berglund, O.; Frankel, B.J.; Hellman, B. Development of insulin secretory defect in the genetically diabetic (db/db) mouse. *Acta Endocrinológica* 1978.

46. Ferranni, E.; Vichi, S.; Beck, H. Insulin action and age. Diabetes 1996.
47. Schumenam de Aluja Alnin. Derechos de los animales. Gaceta Médica de Méjico N° 131 (1) PAG. 49-63. Jan-Feb. 1995.
48. Berglund, O.; Frankel, B.J.; Hellman, B. Development of insulin secretory defect in the geneticaly diabetic (db/db) mouse. ActaEndocrinológica 1978.
49. Ferranni, E.; Vichi, S.; Beck, H. Insulin action and age. Diabetes 1996.
50. Ortega A., Micó J.I Symposium de Dolor en Reumatología: Modelos animales de dolor. Reumatol. Clin. [Internet] 2006 [acceso 06 de Setiembre del 2009] 2 Supl 1: S2-4 Disponible en: <http://www.doyma.es>.
51. Betancourt J. Cuestiones éticas en la experimentación animal. DOC. IMET – EsSALUD – Cuba. 1999, Iquitos – Perú.
52. Betancourt J. Cuestiones éticas en la experimentación animal. DOC. IMET – EsSALUD – Cuba. 1999, Iquitos – Perú.
53. Pardo Caballos A. Ética de la experimentación. Directrices legales y éticas contemporáneas. Departamento de Humanidades Biomedicas. Universidad de Navarra. Pamplona. 2005. Disponible en: <http://www.aebioetica.org/rtf/08-BIOETICA-58.pdf>
54. Cuesta Brey L., Sánchez Rodríguez K. Aspectos éticos de la experimentación con animales. 2007. Bioética. Disponible en: <http://cbioetica.net/revista/72/722527.pdf>
55. Gokora IH. Ethics and animal use in biomedical research. Adv. Exp. Med. Biol. 2004; 553:359-71. PMID: 15503469.

II. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- ◆ **Control, grupo:** Grupo seleccionado o establecido necesariamente antes de un estudio, integrado por humanos, animales, células, etc., en todo idéntico al grupo que se estudia, y mantenido en la misma situación y condiciones que éste, pero sin someterlo a la exposición.
- ◆ **Cuarentena:** Período de aislamiento impuesto a un ser vivo u objeto que proviene de un lugar lejano por cuarenta días.
- ◆ **Dislocación cervical:** Acción o efecto de separar el cráneo de la columna vertebral.
- ◆ **Efecto:** Cualquier cambio producido por una sustancia química sobre un sistema biológico concreto.
- ◆ **Hiperglicemia:** Es un trastorno caracterizado por la elevación de los niveles sanguíneos de glucosa por arriba de las cifras consideradas como “deseables” para reducir el riesgo de enfermedad diabética.
- ◆ **Hipoglicemiante:** cualquier sustancia farmacológicamente activa que tenga la propiedad de disminuir los niveles de glucosa en sangre.
- ◆ **Parámetros bioquímicos:** Los parámetros bioquímicos representan la concentración de determinadas sustancias químicas que se encuentran en la sangre en el momento del análisis
- ◆ **Peso corporal:** Es la masa del cuerpo en kilogramos. También se le llama masa corporal. En algunos países como Estados Unidos se mide en libras en vez de kilogramos.

III. ANEXOS

ANEXO N° 01

CERTIFICADO SANITARIO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 296-2012

Producto	: Rata albina	Lote N°	: R - 11 - 2012
Especie	: <u>Rattus norvegicus</u>	Cantidad	: 300
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 meses
Peso	: 200 gr.	Sexo	: Machos
R.U.C.	: 20131257750	GR. 26725	Destino : SEGURO SOCIAL DE SALUD ESSALUD - IQUITOS
Fecha	: 05. 11 2012		

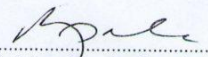
El Médico Veterinario, que suscribe, **ARTURO ROSALES FERNÁNDEZ**. Coordinador de Bioterio, Certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia : PR.T-CNPB-153; Procedimiento para el ingreso, cuarentena y control sanitario para animales de experimentación.

Chorrillos, 05 de Noviembre del 2012

(Fecha de emisión del certificado)

NOTA : El bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo.


M.V. Arturo Rosales Fernández.
C.M.V.P. 1586

ANEXO N° 02

Certificado de identificación taxonómica de *Tabebuia obscura*



UNAP

Herbarium Amazonense - AMAZ
Centro de Investigación de Recursos Naturales

CONSTANCIA N° 54

LA COORDINADORA DEL HERBARIUM AMAZONENSE, AMAZ-CIRNA, DE LA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

CERTIFICA:

Que, las muestras botánicas presentadas por el Instituto de Medicina Tradicional IMET-ESSALUD; fueron verificados e identificados en este Centro de Enseñanza e Investigación AMAZ, CIRNA-UNAP, que a continuación se indican:

Nombre común	Nombre Científico	Familia
"morera"	<i>Morus alba</i> L.	MORACEAE
"Tahuari"	<i>Tabebuia obscura</i> (Bureau & Schumann) Sandiwith	BIGNONACEAE
"amor seco"	<i>Bideres pilosa</i> var. <i>pilosa</i>	ASTERACEAE
"sacha huaca"	<i>Clibadium remotiflorum</i> O.E. Schulz.	ASTERACEAE
"guanabana"	<i>Annona muricata</i> L.	ANNONACEAE
"palta"	<i>Persea americana</i> Miller var. <i>americana</i>	LAURACEAE
"chacrana"	<i>Psychotria viridis</i> Ruiz & Pav.	RUBIACEAE
"noni"	<i>Morinda citrifolia</i> L.	RUBIACEAE

Se expide el presente certificado al interesado para los fines que se estime conveniente.

Iquitos, 14 de Agosto del 2012

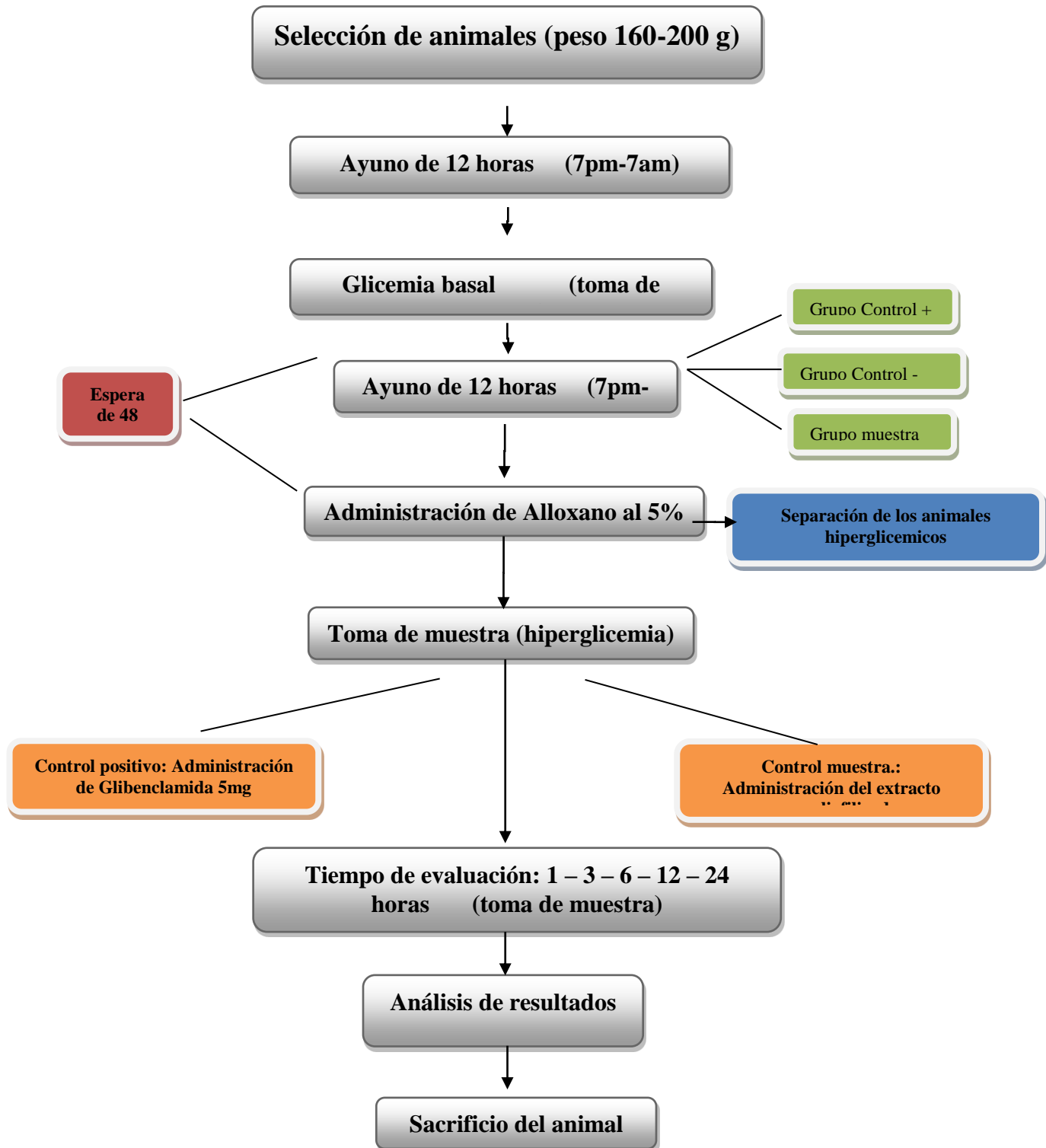
Atentamente,

Blga. FELICIA DÍAZ JARAMA M.Sc.
Coordinadora, AMAZ-CIRNA-UNAP



ANEXO N° 03

ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA PARA ENSAYO DE HIPOGLICEMIANTES.



ANEXO N° 04

Ficha de Recolección de datos para los Niveles de Glicemia pre y post tratamiento

(esta ficha se llenara para cada uno de los 4 grupos)

Grupo experimental : _____

Sustancia : _____

Dosis : _____

Fecha : _____

Marca de identificación	Glucosa antes de la adm. de Alloxano y/o Stz.	Glicemia postadm. Alloxanoa 48h(basal hiperglicémico o Glicemia pre-tratamiento)	Glicemia post-Tratamiento				
			1h	3h	6h	12h	24h

ANEXO N° 05

MÉTODO PARA DETERMINAR EL NIVEL DE GLICEMIA EN SUERO DE SANGRE DE RATAS ALBINAS

✓ **Metodología Glucosa Oxidasa**

En el método GOD-POD, en un primer paso la glucosa oxidasa cataliza la oxidación de la D-glucosa a ácido D-glucónico con formación de peróxido de hidrógeno. Éste es utilizado por la peroxidasa para oxidar a la 4-aminofenazona y al fenol, dando lugar a una quinonamina coloreada. La intensidad de color será proporcional a la concentración de glucosa presente inicialmente. (En ocasiones se utilizan otros sustratos en lugar de 4-aminofenazona+fenol, tales como o-dianisidina, guayacol y ABTS.).

✓ **Preparación (estándar) reactivo de trabajo**

Medir con probeta el volumen de agua destilada indicado en el rótulo. Transvasar el contenido del envase de reactivo a un frasco definitivo resuspendiéndolo en una parte del agua de reconstitución. Agregar el resto de agua hasta completar el volumen final, arrastrando el remanente de polvo que pudiera quedar adherido a las paredes del frasco. Homogenizar y facetar.

✓ **Técnica para Suero o Plasma**

En tres tubos de fotocolorímetro marcados:

B = Blanco

St = Standard

D = Desconocido

Colocar:

	B	S	D
Standard de glicemia	-----	10ul	-----
Muestra o suero	-----	-----	10ul
Reactivo de trabajo (Glucosa-Oxidasa)	1ml	1ml	1ml

Incubar 10 minutos en baño maría a 37° C, luego leer en espectrofotómetro a 505nm de longitud de onda, llevando el aparato a cero con el blanco.

✓ **Cálculo de los resultados**

$$\text{Glucosa (mg/dL).} = \frac{\text{Absx1000}}{5}$$

5

ANEXO N° 06

Tabla de Dosificación

C/F (%)	Factor de Volumen (ml x 10 ⁻²)/p.c														
	1.4	1.6	1.8	2.0	2.2	2.4	2.6	2.8	3.0	3.2	3.4	3.6	3.8	4.0	
0.05	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	Altamente
0.1	14	16	18	20	22	24	26	28	30	32	34	36	38	40	Tóxico
0.2	28	32	36	40	44	48	52	56	60	64	68	72	76	80	
0.3	42	48	54	60	66	72	78	84	90	96	102	108	114	120	Moderadamente
0.4	56	64	72	80	88	96	104	112	120	128	136	144	152	160	Tóxico
0.5	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180	190	200	
1.0	140	160	180	200	220	240	260	280	300	320	340	360	380	400	
1.5	210	240	270	300	330	360	390	420	450	480	510	540	570	0	
2.0	280	320	360	400	440	480	520	560	600	640	680	720	760	800	
2.5	350	400	450	500	550	600	650	700	750	800	850	900	950	1000	
3.0	420	480	540	600	660	720	780	840	900	960	1020	1080	1140	1200	Ligeramente
3.5	490	560	630	700	770	840	910	980	1050	1120	1190	1260	1330	1400	Tóxico
4.0	560	640	720	800	880	960	1040	1120	1200	1280	1360	1440	1520	1600	
5.0	700	800	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000	
10	1400	1600	1800	2000	2200	2400	2600	2800	3000	3200	3400	3600	3800	4000	
15	2100	2400	2700	3000	3300	3600	3900	4200	4500	4800	5100	5400	5700	6000	
20	2800	3200	3600	4000	4400	4800	5200	5600	6000	6400	6800	7200	7600	8000	Prácticamente
25	3500	4000	4500	5000	5500	6000	6500	7000	7500	8000	8500	9000	9500	10000	No
30	4200	4800	5400	6000	6600	7200	7800	8400	9000	9600	10200	10800	11400	12000	Tóxico
35	4900	5600	6300	7000	7700	8400	9100	9800	10500	11200	11900	12600	13300	14000	
40	5600	6400	7200	8000	8800	9600	10400	11200	12000	12800	13600	14400	15200	16000	
45	6300	7200	8100	9000	9900	10800	11700	12600	13500	14400	15300	16200	17100	18000	
55	7700	8800	9900	11000	12100	13200	14300	15400	16500	17600	18700	19800	20900	22000	
65	9100	10400	11700	13000	14300	15600	16900	18200	19500	20800	22100	23400	24700	26000	Inocuo
75	10500	12000	13500	15000	16500	18000	19500	21000	22500	24000	25500	27000	28500	30000	
85	11900	13600	15300	17000	18700	20400	22100	23800	25500	27200	28900	30600	32300	34000	
95	13300	15200	17100	19000	20900	22800	24700	26600	28500	30400	32300	34200	36100	38000	

ANEXO N° 07

Fórmulas para calcular la cantidad de soluto y solvente para la preparación del extracto acuoso liofilizado.

- **Volumen requerido del solvente (solución salina 0.9%):**

$$VS \text{ (ml)} = PP \text{ (g)} \times FV \times NI$$

VS : volumen del solvente

PP : peso promedio de los animales

FV : factor de volumen

NI : número de individuos

- **Cantidad requerida del extracto liofilizado:**

$$ExL \text{ (g)} = \frac{[] \text{ g} \times VS \text{ (ml)}}{100 \text{ ml}}$$

ExL : extracto liofilizado

[] g : concentración

VS : volumen del solvente

- **Volumen de la solución preparada del extracto liofilizado a administrar a cada animal:**

$$VI \text{ (ml)} = \frac{D \times W}{[]}$$

VI : volumen administrado

W : peso del animal

D : Dosis

[] : Concentración del Extracto

ANEXO N° 08

FOTOS N° 01: *Tabebuia obscura*. En jardín botánico. IMET - ESSALUD



FOTOS N° 02. PROCESO DE SECADO DE LA CORTEZA DE *Tabebuia obscura*, en la sala de desecación.



FOTOS N 03. PROCESO DE LIOFILIZACION DE LA CORTEZA DE *Tabebuiaobscura*



FOTOS N° 04. MARCADO Y PESADO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION.



FOTOS N° 05. TOMA DE MUESTRA SANGUINEA DE LA VENA CAUDAL



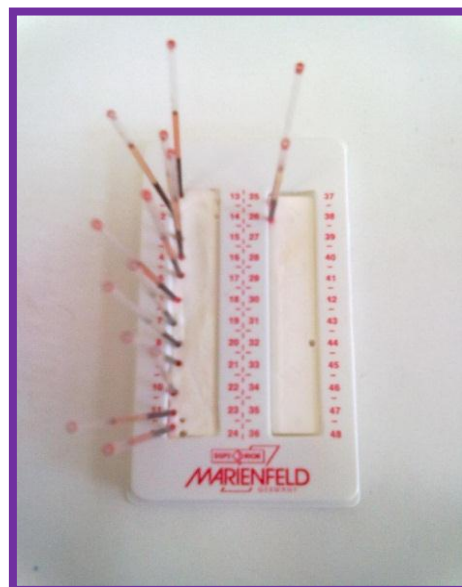
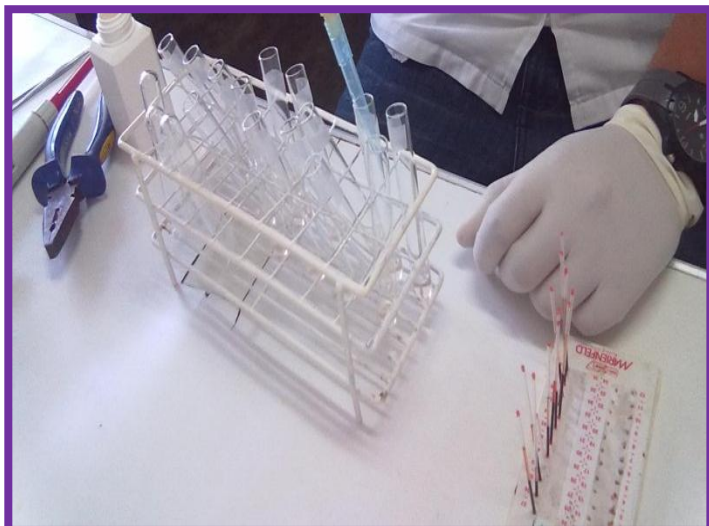
FOTO N° 06. ADMINISTRACIÓN POR VÍA ORAL.



FOTO N° 07. CENTRIFUGACIÓN DE LOS CAPILARES HEPARINIZADOS



FOTOS N° 08. PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA.



FOTOS N°09. INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS EN BAÑO MARIA



FOTOS N° 10. LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO



FOTO N° 11. SACRIFICIO POR DISLOCACIÓN CERVICAL.

