UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA.

"ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Geranium ayavacense "PASUCHACA"* EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALOXANO – IQUITOS–IMET 2013"

PROYECTO DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

QUIMICO FARMACEUTICO.

Presentado por:

BACH. TORREJON RIOS TEDDY AMERICO

BACH. TUESTA VILLACORTA ROMEL

Asesor:

Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG

IQUITOS – PERÚ

2013

COLABORADORES: Bach. Ampudia Guerrero, Ramón El Grande

Bach. DomínguezSangama, Charles Frank

Bach. Neves Saavedra, Jaime Luis Alberto

INSTITUCIONES

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

"ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Geranium ayavacense* "*PASUCHACA*" EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALOXANO – IQUITOS–IMET 2013"

Bach. Tuesta Villacorta, Romel; Bach. Torrejón Ríos, Teddy Américo

RESUMEN

Se determinó que la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3 mg/Kg y 12.7 mg/Kg de peso corporal, sobre la hiperglicemia inducida en ratas albinas machos de la cepa de Holtzmann, mediante el estudio experimental, aleatorio con el grupo control. El extracto se administró por vía oral después de 48 horas de la inducción de diabetes experimental con solución de Aloxano al 5% (administrados por vía intraperitoneal) a ratas albinas normoglicémicos con peso promedio de 160 – 250 g con previo ayuno de 12 horas. Fueron asignadas 40 ratas aleatoriamente distribuidos en 4 grupos; 2 grupos recibieron las dosis correspondientes por la planta de estudio (6.3 mg/Kg y 12.7 mg/Kg); y el 3er grupo recibió solución salina al 0.9% y el 4to recibió vía oral la solución de Glibenclamida 5 mg. Después de administrar las respectivas sustancias, se cuantifico la glicemia a: 1, 3, 6, 12 y 24 horas. Al final del estudio se realizó la eutanasia de todos los animales por dislocación cervical. Se concluye que el extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense,*** presentó actividad hipoglicemiante estadísticamente significativa a las 24 horas post tratamiento a dosis de 12.7 mg/Kg. (19.4%) y una menor porcentaje a dosis de 6.3 mg/Kg. (15.2%).

Palabras claves: *Geranium ayavacense*, pasuchaca, actividad hipoglicemiante, ratas albinas.

"EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE *Geranium ayavacense* EN RATAS ALBINAS CON DIABETES INDUCIDA POR ALLOXANO – IMET 2013".

Bach. Tuesta Villacorta, Romel; Bach. Torrejón Ríos, Teddy Américo.

ABSTRACT

It was determined that the hypoglycemic activity of the lyophilized aqueous extract of Geranium ayavacense dose of 6.3 mg / Kg and 12.7 mg / kg body weigh, on the hyperglycemia induced in male albino rats Holtzmann strain by the experimental, randomized study the control group. The extract was orally administered 48 hours after induction of experimental diabetes with alloxan solution 5% (intraperitoneally administered) to albino rats of average weight normoglycemic 160-250 g prior fasting for 12 hours. Were assigned 40 randomly rats distributed into 4 groups two groups received the appropriate dose for the plant under study (6.3 mg / Kg and 12.7 mg / Kg) and the 3rd group received saline 0.9 % and the 4th received orally the Glibenclamide 5 mg solution. After administration of the respective substances, glycaemia was quantified: 1, 3, 6, 12 and 24 hours. At study end the euthanasia of all animals was performed by cervical dislocation. It is concluded that the lyophilized aqueous extract of Geranium ayavacense presented statistically significant at 24 hours post treatment at doses of 12.7 mg / kg hypoglycemic activity. (19.4 %) and a lower percentage of dose of 6.3 mg / Kg(15.2 %).

Keywords: Geranium ayavacense, pasuchaca, hypoglycemic activity, albino rats.

DEDICATORIA

- A mis padres, por su apoyo incondicional en cada paso de mi vida.
- A mis hermanos, por el cariño y por sus enseñanzas en cada día.

Romel Tuesta Villacorta

- A mi padre y madre, por todo el respaldo que me dieron todos estos años de estudio.
- A mi esposa e hijos, porque son el motivo de mi superación y razón de vivir.
- A mis hermanos, por todas sus enseñanzas y por alentarme a seguir adelante.

Teddy Américo Torrejón Ríos

A G R A D E C IM IE N T O

- Nuestro agradecimiento especial es para nuestro asesor de tesis, Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong por su gran ayuda, guía y enseñanza en cada paso que dimos para la realización de nuestra Tesis.

- A nuestros miembros del jurado evaluadores de nuestra Tesis por sus recomendaciones para mejorar cada aspecto sobre la redacción de esta Tesis, haciendo que mejoremos cada vez más.

- Agradecemos también al Instituto de Medicina Tradicional (IMeT) – EsSalud, y a todos sus miembros trabajadores por su ayuda incondicional en la realización de este trabajo de Tesis.

- A la Facultad de Farmacia y Bioquímica y a todo su personal docentes, administrativos y otros trabajadores por su ayuda cada año de nuestros estudios en esta casa que nos formó como profesionales para el futuro.

INDICE

RESUMEN

DEDICATORIA

AGRADECIMIENTO

CAPITULO I

I. INTRODUCCION 18

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 21

III. OBJETIVOS 22

3.1. Objetivo General 22

3.2. Objetivos Específicos 22

CAPITULO II

I. MARCO TEORICO 24

1.1. Especie En Estudio 24

1.1.1. Clasificación Taxonómica 24

1.1.2. Habitad 24

1.1.3. Sinonimia Científica 24

1.1.4. Sinonimia Vulgar 24

1.1.5. Descripción Morfológica 24

1.1.6. Características Edáficas 25

1.1.7. Características Climáticas 25

1.1.8. Características Fitogeograficas 25

1.1.9. Características Fenólicas 25

1.1.10. Información Etnomedicinal 25

1.1.11. Farmacobotanica Y Farmacognosia 26

1.2. Composición química 26

1.2.1. Flavonoides 26

1.2.2. Esteroides 27

1.2.3. Taninos 28

1.2.4. Antraceno 28

1.2.5. Antocianinas 29

1.2.6. Azucares reductores 30

1.3. Actividad Hipoglicemiante 31

1.4. Antecedentes 32

1.5. Diabetes mellitus 37

1.5.1. Epidemiologia 38

1.5.2. Clasificación de diabetes mellitus 38

1.5.3. Diabetes mellitus tipo I o insulino dependiente 39

1.5.4. Sintomatología de la diabetes tipo I 40

1.5.5. Tratamiento de la diabetes tipo I 41

1.5.6. Diabetes mellitus tipo II o no insulinodependiente 42

1.5.7. Síntomas clínicos 43

1.5.8. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo II 44

1.5.9. Complicaciones 44

1.5.10. Tratamiento farmacológico 45

1.5.10.1. Glibenclamida 48

1.6. Aloxano 50

1.7. Animales de experimentación 51

1.7.1. Modelos de la diabetes mellitus tipo II 51

1.7.2. Biomodelos espontáneos 51

1.7.3. Dm 2 con hiperglicemia severa 51

1.7.4. Dm 2 con hiperglicemia moderada 52

1.7.5. Disminución de la tolerancia a la glucosa 53

1.8. Administración de sustancias químicas y métodos quirúrgicos 54

II. HIPOTESIS 55

III. DEFINICIONES OPERACIONALES 56

3.1. Variable independiente 56

3.2. Variable dependiente 56

3.3. Indicadores 56

3.4. Operacionalizacion de variables 57

CAPITULO III

I. METODOLOGIA 60

1.1. Tipo de estudio 60

1.2. Diseño experimental 60

1.3. Población y muestra 61

1.3.1. Población vegetal 61

1.3.2. Muestra 61

1.3.3. Población animal 62

1.3.4. Muestra animal 62

1.3.5. Muestreo 63

1.3.6. Criterios de inclusión de la muestra animal 63

II. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL 64

2.1. Recolección del material vegetal 64

2.2. Obtención del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* 64

2.3. Evaluación del efecto hipoglicemiante 65

III. MATERIALES 68

3.1. Material vegetal 68

3.2. Material animal 68

3.3. Drogas e insumos químicos 68

3.4. Materiales de laboratorio 68

3.5. Equipos e instrumento 69

IV. TECNICAS USADAS EN LA RECOLECCION DE LOS DATOS 70

4.1. Peso corporal 70

4.2. Bioquímica clínica 70

4.2.1. Toma de muestra 70

4.2.2. Procedimiento 70

4.2.3. Procesamiento de las muestras 70

4.2.4. Método para la determinación enzimática de glucosa 71

V. ANALISI E INTERPRETACION DE DATOS 72

VI. PROTECCION DE LOS DERECHOS DE LOS ANIMALES 72

CAPITULO IV

I. RESULTADOS 75

II. DISCUSIÓN 91

III. CONCLUSIONES 95

IV. RECOMENDACIONES 96

CAPITULO V

I. BIBLIOGRAFIA 98

II. ANEXOS 109

INDICE DE CUADROS

CUADRO N° 01.	Estructura de un Flavonoide (Kaempferol).	27
CUADRO N° 02.	Estructura de un Esteroide	27
CUADRO N° 03.	Estructura de una Tanino	28
CUADRO N° 04.	Estructura de un Antraceno	29
CUADRO N° 05.	Estructura de un Antocianina	30
CUADRO N° 06:	Estructura de un azúcar reductor	31
CUADRO N° 07:	Distribución de los Grupos Experimentales	61

INDICE DE TABLAS

TABLA N° 01

Fármacos para el tratamiento de la Diabetes Mellitus tipo II 46

TABLA N° 02

Modelos de animales que desarrollan DM 2 y severa hiperglicemia 52

TABLA N° 03

Modelos de animales que desarrollan DM 2 y moderada hiperglicemia 53

TABLA N° 04

Modelos de animales que desarrollan DM 2 eintolerancia a la glucosa 54

TABLA N° 05

Operacionalizacion de variables independientes 57

TABLA N° 06

Operacionalizacion de variables dependientes 58

TABLA N° 07

Niveles de glicemia sérica post administración de Aloxano al 5% en todos los grupo experimentales 75

TABLA N° 08

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

TABLA N° 09

Comparación delaactividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5mg/kg respecto a *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg 82

TABLA N° 10

Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5mg/kg respecto a *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg 84

TABLA N° 11

Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg respecto a *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg 86

TABLA N° 12

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

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO N° 01

Niveles de glicemia sérica post administración de Aloxano 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 de *Geranium* ayavacense 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 de *Geranium* ayavacense 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 de *Geranium* ayavacense según el grupo control *Geranium* ayavacense 6.3 mg/kg 80

GRAFICO N° 05

Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado de *Geranium* ayavacense según el grupo control *Geranium* ayavacense12.7 mg/kg 81

GRAFICO N° 06

Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5mg/kg respecto a *Geranium* ayavacense 6.3 mg/kg 83

GRAFICO N° 07

Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5mg/kg respecto a *Geranium* ayavacense 12.7 mg/kg 85

GRAFICO N° 08

Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de *Geranium* ayavacense 6.3 mg/kg respecto a *Geranium* ayavacense 12.7 mg/kg 87

GRAFICO N° 09

Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas en todos los grupos experimentales y tiempo de tratamiento 89

GRAFICO N° 10

Porcentajes mayores de disminución de nivel sérico de glicemia de todos los grupos experimentales a las 24 horas en ratas diabéticas 90

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 01:

Certificado sanitario de los animales de experimentación 109

ANEXO N° 02:

Certificado de identificación taxonómica de *Geranium ayavacense* 110

ANEXO N° 03:

Esquema de la metodología para el ensayo de Hipoglicemiante 111

ANEXO N° 04:

Ficha de recolección de datos para los niveles de glucosa pre y post tratamiento 112

ANEXO N° 05:

Método para determinar el nivel de glucosa en el suero de la sangre de ratas albinas 113

ANEXO N° 06:

Tabla de dosificación 115

ANEXO N° 07:

Fórmulas para calcular la cantidad de soluto para la preparación del extracto acuoso liofilizado 116

ANEXO N° 08:

Fotos 117

C A P I T U L O I

I. INTRODUCCIÓN.

El uso de plantas medicinales con fines curativos, es una práctica que se ha utilizado durante mucho tiempo; los remedios naturales y sobre todo las plantas medicinales, fueron el principal e incluso el único recurso del que se disponían para calmar las diferentes dolencias. [1]

Las plantas medicinales constituyen una fuente de investigación, muchas aún desconocidas y en otros casos no se ha encontrado explicación a sus propiedades curativas. La Organización Mundial de la Salud ha insistido en que el uso de plantas medicinales puede ser de gran aplicación en la atención primaria de los sistemas de salud, pero sobre bases científicas que sustenten seguridad, efectividad y calidad requeridas para la administración en humanos. [2,3]

En el Perú las plantas medicinales constituyen uno de los pilares de la etnofarmacología y la medicina tradicional. Siendo éstas utilizadas en forma empírica por sus bondades terapéuticas en el cuidado y restauración de la salud. [4]

Por su naturaleza epidemiológica, la diabetes se ha convertido en un problema grave de salud pública a nivel mundial, ha aumentado tremendamente en las dos décadas recientes, y muchos de los que padecen esta enfermedad aún no lo saben causando numerosas muertes y afectando seriamente la capacidad de los sistemas de salud de lidiar con la epidemia. 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 e interrelacionados que tienen que ver además con los cambios socioeconómicos y la industrialización de los países en vías de desarrollo. [5]

La FID señala que en la actualidad existen 366 millones de enfermos diabéticos en el mundo y lo estimado para 2030 será que 552 millones de personas tendrán diabetes mellitus tipo II; el cálculo que se hizo es que hay tres casos nuevos cada 10 segundos en todo el mundo. Destacó que México, pues con poco más de 15 millones de personas con diabetes, 14.4 por ciento de la población general ocupa el primer lugar en prevalencia de esta enfermedad crónica no trasmisible (ECNT) en América Latina (AL), y está después de Estados Unidos y antes que Canadá y Haití.[6]

En el año 2011, en el Perú, los estudios realizados por el Dr. M. Zubiate, han reportado cifras de prevalencia de Diabetes mellitus tipo II que oscilan entre el 1.6% encontrando en Lima 0.4%, en Cusco, 1.8% en Pucallpa, hasta el 5% encontrado en Piura.[7]

En el 2010, en la región Loreto, la diabetes mellitus fue la tercera causa de morbilidad, siendo mayor en personas de 50 años en un 5% según datos del Hospital Regional de Loreto "Felipe Arriola Iglesias". Al igual que el Hospital Apoyo Iquitos "Cesar Garayar García" en donde también es la tercera causa de morbilidad en un 7.23% en personas de 11 a 90.[8]

La diabetes mellitus tiene una prevalencia en la población mundial que oscila entre 2 a 6 %. Esta enfermedad produce un importante impacto socioeconómico en el país cuya valoración aún no ha sido realizada pero es una importante causa de hospitalización prolongada, ausentismo laboral, discapacidad y mortalidad, producto de las complicaciones agudas y crónicas además es una enfermedad de mayor demanda del consultorio externo de endocrinología, constituyendo así la diabetes mellitus en 95% de la población atendida por esta enfermedad.[9]

Las plantas medicinales con actividad antidiabética pueden constituir una fuente importante de nuevos compuestos orales hipoglucemiantes, ya sea como compuestos de primera línea, en el tratamiento de la diabetes o como coadyuvantes de las terapias existentes.[10,11]. Para ello es muy importante validar científicamente la efectividad y la seguridad (relativa inocuidad) de estas plantas para garantizar su uso, a bajo costo por la población de pacientes diabéticos. Lo que justifica, ampliamente la realización de estudios de este tipo. Por ejemplo la actividad hipoglucemiante, del Geranium ayavacense (pasuchaca) utilizadas en la medicina tradicional y, que en estudios previos ha demostrado su eficacia como reductoras de los niveles de glicemia elevado.

En el Perú, en 1989, se logró, por Resolución Ministerial, aprobar el listado de recursos terapéuticos vegetales para ser usados en los Centros Asistenciales, del antes Instituto Peruano de seguridad Social (IPSS), hoy Seguro Social de salud (EsSalud); sin embargo no logró el impacto necesario entre los profesionales de la salud para su utilización debido, entre otras razones, al desconocimiento del efecto terapéutico, acompañado de falta de experiencia clínica confiable, con un soporte del control toxicológico de las plantas medicinales mencionadas, lo que generó desconfianza entre los médicos. Sin embargo, existen algunos principios activos aislados de las plantas como: flavonoides, alcaloides y otros compuestos que se encuentran en diferentes plantas con actividad hipoglucemiante.[12,13]

II. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

¿Tendrá actividad hipoglicemiante el extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* en ratas albinas con diabetes inducida por Aloxano IQUITOS – IMET 2013?

III. OBJETIVOS.

3.1.GENERAL:

- Determinar la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense*** "Pasuchaca" en ratas albinas con diabetes inducida por Aloxano. IQUITOS IMET –2013

3.2.ESPECÍFICO:

- Inducir hiperglicemia experimental con Aloxano en ratas albinas cepa Holtzmann.

- Evaluar la dosis de 6.3 mg/kg y 12.7 mg/kg del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, sobre la hiperglicemia inducida en ratas con diabetes aloxanica.

- Comparar la actividad hipoglicemiante de ambas dosis frente al control negativo y positivo.

C A P I T U L O I I

I. MARCO TEORICO

1.1.ESPECIE EN ESTUDIO:

Geranium ayavacense

1.1.1. Clasificación Taxonómica.

REINO	:	Plantae
DIVISIÓN	:	Magnoliophyta
CLASE	:	Magnoliopsida
ORDEN	:	Geraniales
FAMILIA	:	Geraniaceae
GÉNERO	:	Geranium
ESPECIE	:	ayavacense

1.1.2. Habitad: Terrenos Planos

1.1.3. Sinonimia Científica: Geranium partitum Willd [14]

1.1.4. Sinonimia Vulgar: Pasuchaca [15], pulipunche, andacushman.[14,16,17]

1.1.5. Descripción Morfológica:

Hierbas perennes de raíces delgadas o demasiadas ramificadas, que están unidas a las hojas basales y numerosas ramificaciones ascendentes difusamente geniculadas. Tallos procumbentes, de varios decímetros de longitud; entre nudo aproximadamente de 15 cm de longitud, filosos, puberulentos. Hojas con muy fino indumento, orbiculares, palmadamente 7-partidas, generalmente hacia la base; lóbulos irregulares, bi o trilaciniados; las secciones laterales iguales en longitud, lineales, submucronados; hojas caulinares cortamente pecioladas con estipulas triangular-lanceoladas. Flores solitarias, axilares de 3-10 mm de longitud, pubescentes. Sépalos ovados-

oblongos, ligeramente acuminados, puberulentos y largamente ciliados. Pétalos ovobados, blanquecinos; 5 estambres. Fruto esquizocarpico de hasta 18 mm de longitud.[14]

1.1.6. Características Edáficas.

Suelos: arcilloso, limo-arcilloso, franco-limo-arcilloso o llanos de muy poco declive, alternando con las plantas almohadilladas o arrosetadas de la jalca o puna.[14]

1.1.7. Características Climáticas:

Clima: frio

Temperatura: de 5 a 22ºC

Precipitación: de 500 a 2500 mm

Humedad atmosférica: de 60 a 80%[14]

1.1.8. Características Fitogeograficas.

Distribución altitudinal: de 3000 a 4000 m.s.n.m

Distribución latitudinal: de 3º 30´-11º L.S.

Distribución por departamentos: Piura, Ancash y Huánuco.[14]

1.1.9. Características Fenológica:

Época de floración entre Mayo a Julio

Época de fructificación: entre Julio a Septiembre.

Forma de propagación: por semillas.[14]

1.1.10. Información Etnomedicinal

Parte usada de la planta: Hojas y tallos.

Formas de preparación: Cocimiento e infusión

Uso Etnomedicinal: Hipoglicemiante, astringente, estomatitis ulcerosa, gastritis, gingivitis y lesiones (manual de fitoterapia)[14]

1.1.11. Farmacobotánica y Farmacognosia

Por el método de la lixiviación, empleando como solvente la mezcla alcohol-éter, se obtuvo un rendimiento de 3.87% de extracto seco [15].

1.2. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

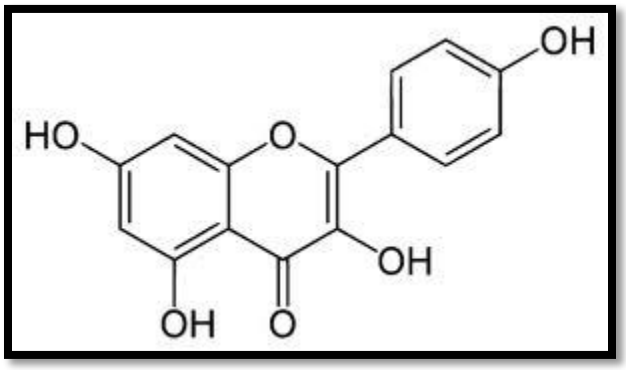
Taninos, esteroides, flavonoides, antocianinas, antracenos, compuestos reductores, celulosa y almidón. [15,17]

1.2.1. 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 humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos.[18]

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.[19]

Ferreira F. *et. al.* 2010. Como evidencia reciente sugiere que ciertos flavonoides como kaempferol, presentes en hojas de *Geranium robertianum* pueden mejorar la biogénesis mitocondrial, la rata Goto Kakizaki les pareció un modelo animal adecuado para la evaluación de los extractos de estas plantas con efectos en la fosforilación oxidativa por un ensayo in vivo disminuyendo los niveles de glucosa. [20]

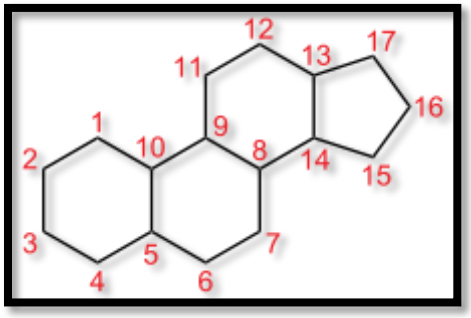


Cuadro N° 01. Estructura de un Flavonoide (Kaempferol). [18]

1.2.2. Esteroides

Los **esteroides** son derivados del núcleo del ciclopentano perhidrofenantreno o esterano que se compone de carbono e hidrógeno formando cuatro anillos fusionados, tres con seis átomos y uno con cinco; posee en total 17 átomos de carbono. En los esteroides esta estructura básica se modifica por adición de diversos grupos funcionales, como carbonilos e hidroxilos (hidrófilos) o cadenas hidrocarbonadas (hidrófobas).Se sintetizan a partir del colesterol. [21]

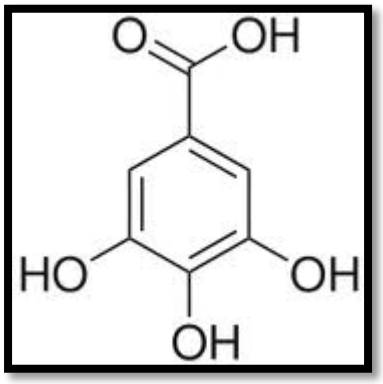
Son hormonas lipófilas que atraviesan libremente la membrana plasmática, se unen a un receptor citoplasmático, y este complejo receptor-hormona tiene su lugar de acción en el ADN del núcleo celular, activando genes o modulando la transcripción del ADN. [22]



Cuadro N° 02. Estructura de un Esteroide. [22]

1.2.3. 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.[23]

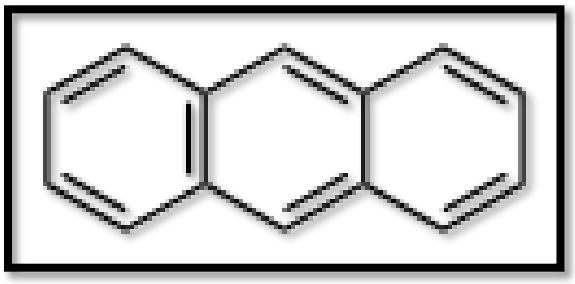


Cuadro N° 03. Estructura de una Tanino[23]

1.2.4. Antraceno

El **antraceno** es un hidrocarburo aromático policíclico. A temperatura ambiente se trata de un sólido incoloro que sublima fácilmente. El antraceno es incoloro pero muestra una coloración azul fluorescente cuando se somete la radiación ultravioleta. Casi todo el antraceno es oxidado para dar antraquinona y por lo tanto sustancia de partida en la síntesis de una amplia gama de colorantes como la alizarina. Además se utiliza en la síntesis de algunos insecticidas, conservantes, etc.[24,25]

Cuatro estructuras principales contribuyen al estado híbrido de la molécula de antraceno, la aplicación de la teoría de los orbitales, lleva a la conclusión que nubes de electrones están parcialmente supuestas y se encuentran por encima y por debajo del plano molecular. La sustancia pura cristaliza el benceno en laminillas brillantes con fluorescencia azul. Funde a 217o C, hierve a 355° C Y forma un picrato que funde a 138° C. [26]

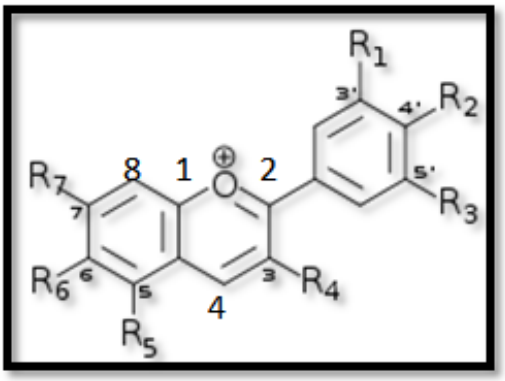


Cuadro N° 04. Estructura de un Antraceno [26]

1.2.5. Antocianinas

Son pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos. Desde el punto de vista químico, las antocianinas pertenecen al grupo de los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. Sus funciones en las plantas son múltiples, desde la de protección de la radiación ultravioleta hasta la de atracción de insectos polinizadores. [27]

Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ion flavilio, también llamado 2-fenil-benzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; el flavilio normalmente funciona como un catión[27,28,29]

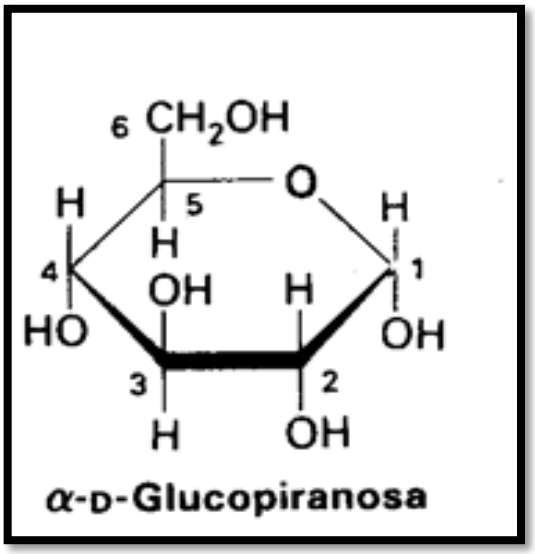


Cuadro N° 05. Estructura de un Antocianina.[27]

1.2.6. 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 iníciales 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 iníciales 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.[23]

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.[23]



Cuadro N° 06: Estructura de un azúcar reductor.[23]

1.3. ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE

Cambio producido por una sustancia química sobre un sistema biológico concreto que permite que metabolitos secundarios y principios activos tengan la propiedad de disminuir los niveles de glucosa en sangre.

Con objeto de estudiar y conocer nuevas sustancias que favorezcan a disminuir los niveles de glucosa sérica, y tratamientos alternativos a un bajo costo, con menos efectos secundarios para el organismo, utilizando las materias primas que el hombre de la amazonia encuentra en su alrededor (plantas medicinales)

1.4.ANTECEDENTES

DELGADO W. HENRY; VILLACREZ V. ISAAC (2012). Tamizaje Fitoquímico de las especies del Plan Operativo IMET-ESSALUD. Realizaron un estudio Fitoquímico, obteniendo los siguientes compuestos que han sido aislados de ***Geranium ayavacense***. Antocianinas, Antracenos, Alcaloides, Aceites Esenciales (Geraniol), Esteroides, Taninos, Flavonoides y Azucares reductores (Celulosa y Almidon).[30]

FERREIRA F., *et al*, 2010. En un estudio sobre el té de *Geranium robertianum* disminuye los niveles de glucosa en sangre y mejora la fosforilacion oxidativa mitocondrial del hígado en ratas diabéticas Goto-Kakizaki, en la cual postula que un flavonide, Kaempferol, es responsable del estos procesos.[20]

CASTAÑEDA B. 2008, Realizaron un Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 Plantas con efecto hipoglicemiante en el cual se encontraba "yacón", **pasuchaca**, cuti-cuti y albahaca". En este trabajo concluyeron que solo el yacón, pasuchaca y cuti-cuti tuvieron efecto hipoglicemiante llegando a normalizar la glucosa hasta por 24 horas en las ratas con diabetes inducidas por Aloxano. Haciéndole responsable a los flavonoides y alcaloides a la disminución de glucosa presentes en estas plantas sin mayor estudio.[31]

MARIKOK. (2006), realizó un estudio "**Efecto inhibitorio del extracto pasuchaca (*Geranium dielsiaum*), sobre la *α*-glucosidasa en ratones.** Donde reportó que los extractos alcohólicos de **Pasuchaca**, tiene un efecto reductor de la glucosa en sangre después de la administración post-prandial de sacarosa y maltosa en ratones; concluyendo que la Pasuchaca, es un supresor de los niveles altos de glucosa en sangre y su ingesta puede prevenir los desórdenes metabólicos de la diabetes. Según su postulado debido a la presencia de alcaloides y flavonoides.[32]

AVALOS, V. 2005, Realizó un estudio denominado **Efecto hipoglicemiante e hipolipidémico de Cissampelos pareira y Geranium lechleri, en ratas con diabetes inducida por aloxano, comparado con glibenclamida.** Se utilizó extractos alcohólicos de Abuta y Pasuchaca, en 50 ratas hembras, administrados por vía oral, en periodos de 1, 2 y 24 horas. Abuta presentó un buen efecto hipoglicemiante desde la primera hora hasta las dos horas; la combinación Abuta-Pasuchaca demostró un efecto mayor que la Glibenclamida. La Abuta puede ser usada como hipoglicemiante efectivo y la disminución de los niveles de HDL colesterol fue menor que lo observado con la Pasuchaca y Glibenclamida. [33]

CASTAÑEDA C.2005, Realizó un **estudio fitoquímico y farmacológico de plantas con efecto hipoglicemiante.** Se encontró que los extractos metanolicos de Natholaena nívea, **Geranium lechleri** y hojas de Smallanthus sonchifolius, poseen efecto hipoglicemiante frente a la hiperglicemia aloxanica. La Notholaena nívea, "Cuti-Cuti", administrada por vía oral a dosis de 250 mg/kg, además de un buen efecto hipoglicemiante frente a la hiperglicemia inducida por aloxano. En la evaluación fotoquímica del extracto se encontró la presencia de: flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, leucoantocianidinas, entre otros. Se observó la presencia de rutina y Quercetina. [34]

CASTRO Y COLABORADORES (2002), estudiaron metabolitos secundarios de plantas medicinales con efecto hipoglucemiante donde determinaron el cromo como factor de tolerancia a la glucosa concluyeron que en los extractos acuosos en caliente de: Phyllantysniruri L. (Chancapiedra), **Geranium dielsianum Knut (Pasuchaca),** Gentianella alborosea G. (Hercampure), Otholobium pubescens(Culen) Smallantussonchifolia(Yacón), Chloraphora tintoria(Mora) y Taraxacu mofficinalis W (Diente de león), se logró determinar vía analítica cualitativa la presencia del cromo, con el reactivo difenilcarbazida manifestándose a través de una coloración violeta o rojo. El análisis cuantitativo se determinó por Espectrofotometría de Absorción Atómica con los siguientes resultados en ppm: Gentianella alboroseaG. (Hercampure) 0.030, Geranium dielsianumKnut ((Pasuchaca) 0.010, Phyllantus niruri L. (Chancapiedra) 0.050,

Chloraphora tinctoria (Mora) 0.027, Taraxacum of ficinalis W. (Diente de León) 0.039, Otholobium pubescens (Culen) 3.2321, Smallantus sonchifolia (Yacón) 0.041.[35]

LARA (2000), en su estudio determinó el Efecto Hipoglucemiante y DL 50 del extracto acuoso de hojas y flores de **Geranium sessiliflorum Cav. "Pasuchaca"** en animales de experimentación, en el año 2000, no se encontró mortalidad en la dosis de 200,300 y 400 mg/Kg p.c. de los extractos acuosos de dicha droga en estudio en las ratones; la dosis mínima efectiva del extracto acuoso fue de 6.25 mg/Kg p.c en ratas normoglucémicas.[36]

Un estudio realizado en la UNIVERSIDAD CAYETANO HEREDIA, concluye que el extracto liofilizado de **G. ayavacense** a dosis de 0.416g/kg de p.c. exhibe una actividad hipoglucemiante en ratas con hiperglicemia experimental inducida con streptozotocina, extendiéndose incluso hasta las 24 horas[37].

VÁSQUEZ Y URQUIZO (Trujillo 1999), determinaron que el decocto de **G. ayavacense** administrado por vía oral en ratas a dosis de 150 y 300 mg/kg p.c. ejerce efecto regenerativo estadísticamente similar, pero dicho efecto es menor al producido por la ranitidina a dosis de 4,28 mg/kg p.c.[17]

CHÁVEZ Y ESPINOZA (1998), investigaron la Actividad biológica de **Geranium lechleri Knuth (Pasuchaca)** sobre la glucemia en animales de experimentación cuyo extracto fue acuoso atomizado de hojas; donde se halló la dosis media letal que es mayor a 12,5 g/kg de peso corporal en ratas, al comparar las curvas normales de tolerancia de la glucosa en ratas normoglucémicas tratadas y no tratadas, no se encontró una variación estadísticamente significativo ($p<0,05$), en las poblaciones estudiadas. En ratas normoglucémicas se observó un incremento notable de la glucemia, en la primera hora posterior a la administración de la droga, y en las aloxanadas se notó un descenso de la glucosa en la primera media hora.[38]

PERALTA Y AMARO (1990), ACOSTA (1992), ORELLANA (1992), VALDIVIA E HIDALGO (1996), SILVA Y GARCÍA (1997) Y CAPCHA Y VILLENA (1997) concluyeron que existen, cerca de 400 especies vegetales hipoglucemiantes de uso tradicional en nuestro país; de los cuales solo el 12.5% han sido estudiadas. El 70% de los pacientes del Hospital Guillermo Almenara ingirieron algún producto tradicional en su tratamiento teniendo entre ellos: Berros (Naturtiu maquatioum), Botoncillo (Spilanthe samerica), Casco de Vaca (Bauhinia varigata),Cudidova o Balsamina (Momordica charantia), Cholan (Teomastans), Marañón (Anacardium occidentales), Orégano (Origanum vulgare),Hercampurí (Gentianella arborocea),Caigua (Cyclantera pedata**), Pasuchaca (Geranium ayavacense)**,Chancapiedra (Phyllantus niruri),Canchalagua (Asteracea esckuhria), Tuna (Opuntíasp),Diente de León (Taraxacum officinalis),Sangre de grado (Crotonsp), Uña de gato (Uncariasp)y Culen (Psoralea glandulosa, Psoraleapubescens).[39,40,41,42,43,44]

RAMOS H. (1994) En el estudio de Diabetes Mellitus experimental donde usó agentes químicos como el aloxano para producir hiperglucemia, esto permitió realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurrieron durante y después de la inducción; especialmente el aloxano provocó hiperglicemia con citotoxicidad especifica destruyendo las células beta del páncreas y causando un estado de deficiencia primaria de insulina mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula beta.[8]

En un estudio experimental PAZ Y PÉREZ (Trujillo, 1991) determinaron que el extracto alcohol-éter de **G. ayavacense** administrado por vía oral en ***Oryctolatus cunniculus*** con diabetes experimental aloxanica, posee propiedades hipoglicemioantes[16].

En un estudio experimental "in vivo", SIFUENTES Y VILLANUEVA, demostraron en conejos que el extracto crudo y acuoso de la raíz de **G. ayavacense** a la dosis de 300mg/kg, poseen efecto hipoglucemiante y es semejante al producido por clorpropamida a la misma dosis[45].

ROSA DÍAZ (Trujillo 1988), determinó que el extracto crudo y acuoso de **G. ayavacense** administrado en conejos por vía oral, posee actividad hipoglucemiante en animales con hiperglicemia experimental, evidenciándose una mayor actividad con el extracto crudo[15].

1.5.DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus es un trastorno heterogéneo definido por la presencia de hiperglucemia. La hiperglucemia en todos los casos se debe a una deficiencia funcional de acción de la insulina. La acción deficiente de la insulina puede deberse a una disminución de su secreción por las células beta del páncreas, una reducción en la respuesta de tejidos blanco a la insulina (resistencia a la insulina), o un aumento en las hormonas contra reguladoras que se oponen a los efectos de la insulina.[46]

La insulina es una hormona protéica segregada, en el hombre y los mamíferos, por las células beta de los islotes de Langerhans.[47]

Se encarga de controlar la captación, utilización y almacenamiento de nutrientes por las células.[48]

Su estructura molecular está compuesta por dos cadenas polipeptídicas: alfa con 21 aminoácidos y beta con 30 aminoácidos unidos por puentes disulfuro.[49]

La liberación de insulina a la sangre para ejercer su acción endocrina se produce principalmente como respuesta al aumento de glucosa en la circulación. Su concentración en sangre es de 0.4 ng/ml. Después de comidas ricas en carbohidratos, esta cifra puede aumentar 3 a 4 veces, la vida media de la insulina en sangre es de 3 a 4 minutos. Diariamente el páncreas segrega a la sangre 1 a 2 mg de insulina.[47]

La insulina ejerce sus efectos al enlazarse a receptores de insulina presentes en las superficies de las células blancos. Hay receptores de insulina en hígado, músculo y grasa que son los tejidos clásicos sensibles a la insulina responsable de la homeostasis del combustible.[50,51]

1.5.1. EPIDEMIOLOGÍA

La diabetes aparece por un problema en la forma en la que el cuerpo produce o utiliza la insulina. Puede haber una resistencia a la insulina o una producción insuficiente de insulina para la utilización en las células del cuerpo. Por lo general, la **diabetes tipo 2** se desarrolla gradualmente, debido a que el páncreas se va deteriorando con el tiempo, por la sobreproducción de insulina en primera instancia y el posteriormente el déficit. Salvo en los países escandinavos, la incidencia poblacional de diabetes mellitus tipo 2 es por una deficiencia de glucosa superior a la de tipo 1, con una relación media de 85:15% entre ambas.[52]

1.5.2. CLASIFICACIÓN DE DIABETES MELLITUS

La clasificación clásica de la diabetes incluye dos grandes tipos: diabetes mellitus insulinodependientes y diabetes mellitus no insulinodependientes. Sin embargo, actualmente se han acumulado nuevos conocimientos en los que se han identificado defectos a nivel de células, tejidos o funciones que están relacionados con la expresión de la enfermedad. Esto ha dado lugar a la aparición de nuevas propuestas para clasificar la diabetes mellitus. Recientemente, el Comité de Expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha propuesto una nueva clasificación que contempla 4 grupos (Americam Diabetes Association 1997)

La Diabetes Mellitus se clasificada de la siguiente manera:

1.- Diabetes mellitus tipo 1 o Insulino dependientes.

2.- Diabetes mellitus tipo 2 o Insulino no dependientes.

3.- Otro tipos específicos de diabetes

4.- Diabetes mellitus gestacional.

Para efecto de nuestro estudio solo nos ocuparemos de la diabetes mellitus tipo 2 (DMT2).[52]

1.5.3. DIABETES MELLITUS TIPO 1 O INSULINO DEPENDIENNTE

Este tipo de diabetes es consecuencia de la destrucción de origen autoinmune de las células beta pancreáticas. La agresión autoinmune comienza años antes de que fracase la secreción de insulina, de tal modo que cuando se diagnostica la diabetes mellitus, las células beta están dañadas de forma irreversible.[53]

Este tipo de diabetes afecta por lo general a individuos menores de 20 años de edad (diabetes de inicio juvenil). Los pacientes presentan después de unos cuantos días o semanas de poliuria, polidipsia y pérdida de peso, con un aumento muy notable en las concentraciones de glucosa en suero. Los cuerpos cetónicos también aumentan debido a la notable carencia de insulina, lo que suele producir una acidosis grave que pone en peligro la vida (cetoacidosis diabética).[52]

Consiste en realizar el reemplazo insulínico imitando en forma dinámica la secreción pancreática por lo que tendremos que utilizar dosis basales y pre-pradiales, aplicando diferentes esquemas terapéuticos adaptados a las necesidades de cada individuo. Los diferentes tipos de insulina. [54]

1.5.4. SINTOMATOLOGÍA DE LA DIABETES TIPO 1

Es probable que muchas personas afectadas por la diabetes tipo 1 no experimenten síntomas antes de que les sea diagnosticada la enfermedad. Otros pueden notar algunos síntomas como la fatiga, tener más sed o hambre, orinar más a menudo, tener una visión borrosa, pérdida de peso involuntaria o pérdida de sensibilidad u hormigueo en los pies. Por lo general, estos síntomas no se asocian desde el principio con la afección que los origina. Otros signos, por el contrario, sí que obedecen más específicamente a la diabetes tipo 1, y suelen presentarse asociados a episodios de hiperglucemia. Dichos síntomas son:Boca y piel seca, Respiración profunda y rápida, Cara enrojecida, Aliento con olor a fruta, Náuseas y vómitos, Dolor de estómago.[52]

Entre las personas diagnosticadas que están tomando insulina, pueden darse situaciones de glucemia baja (hipoglucemia). Los síntomas más característicos son:Debilidad, Sudoración, Dolor de cabeza, Temblores, Hambre, Nerviosismo, Palpitaciones.[52]

1.5.5. TRATAMIENTO DE LA DIABETES TIPO 1

Cuando el cuerpo no es capaz de utilizar la glucosa como fuente de energía, ya que no tiene insulina o su producción es insuficiente, aparece la cetoacidosis diabética. Junto a los niveles altos de glucemia, son los dos síntomas que el tratamiento tiene como objetivo prevenir y controlar. No es extraño que en algunos casos estos síntomas se traten con el paciente hospitalizado, ya que su aparición suele ser súbita y revestir una gravedad considerable. En cuanto a la prevención se trata de evitar complicaciones como la ceguera, el daño neurológico, la cardiopatía, insuficiencia renal o la amputación de extremidades.[51],[52]

La diabetes tipo 1 puede tener complicaciones graves como:Cataratas, Vasculopatía periférica, Glaucoma, Hipertensión arterial, Úlceras y llagas en los pies, con riesgo de amputación, Nefropatía diabética, Edema macular, Daño neurológico, Accidente cerebrovascular, Pérdida de visión o ceguera, Problemas de erección, Infecciones de piel en el tracto genital femenino o en las vías urinarias.[51]

En el tratamiento es fundamental la implicancia del paciente para manejar adecuadamente la enfermedad. En este sentido el afectado debe saber reconocer y tratar los niveles altos y bajos de glucemia, llevar una dieta estricta, saber administrarse la insulina en situaciones normales o cuando se hace ejercicio o controlar las cetonas en orina.[52]

1.5.6. DIABETES MELLITUS TIPO 2 O INSULINO NO DEPENDIENTES

La diabetes mellitus tipo 2 es más frecuente que la tipo 1, se presenta más en adultos, se vincula con aumento de la resistencia a los efectos de la insulina en sus sitios de acción, así como una disminución de la secreción de insulina por el páncreas

No se sabe con certeza si la lesión primaria es la liberación anormal de la insulina de la célula del islote o la resistencia a la insulina.[52]

Algunos investigadores establecen la hipótesis de que la resistencia a la insulina quizá sea la lesión primaria, lo cual produce en compensación un incremento en la secreción de insulina que por último no puede ser sostenida por el páncreas. Cuando el páncreas "se agota" y no cubre las demandas de insulina, se produce diabetes clínica. Otros sugieren que la hiperinsulinemia, un defecto primario de la célula beta, tal vez inicie el proceso patológico. Las concentraciones altas de insulina, lo que conduce a resistencia a esta hormona y a la vía común final de agotamiento de la célula beta [53]

En este tipo de diabetes puede ocurrir sobreproducción de otras hormonas como el Glucagón y la hormona de crecimiento que se opone a la acción de la insulina. Hay también una deficiencia en la secreción de Somastatina en respuesta a la glucosa, lo cual puede contribuir a la hiperglucemia. La somastatina prolonga el tránsito intestinal y retarda la absorción de la glucosa.[55]

Con frecuencia (85% de los casos) se vincula con obesidad, lo cual es otro factor que incrementa la resistencia a la insulina. Para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 se emplean medidas no farmacológicas y farmacológicas. Las medidas no farmacológicas están orientadas al manejo nutricional y a la actividad física.[56]

1.5.7. SÍNTOMAS CLÍNICOS

La diabetes mellitus tipo 2 se caracteriza precisamente por ser prácticamente asintomática en sus fases iniciales. Este es en realidad el gran problema, ya que diagnosticamos diabetes con retraso (varios años con frecuencia) y se calcula que hasta un 50 % de personas con diabetes mellitus tipo 2 permanecen sin diagnosticar en este momento. Esto hace que con frecuencia (hasta un 20 %) las personas con este tipo de diabetes presenten signos de complicaciones en el momento del diagnóstico.[57]

Todo ello hace que la diabetes mellitus tipo 2 haya que buscarla de forma específica en las personas con riesgo, esto es, cualquier persona a partir de los 45 años y menores de 45 con: Obesidad, Antecedentes familiares de DM, Diabetes durante anteriores embarazos o niños con peso al nacer superior a 4 kg, Hipertensión arterial, Colesterol o triglicéridos elevados, Antecedentes de alteraciones de la glucosa en sangre.[57]

El diagnóstico se realiza inicialmente mediante la determinación de glucosa en ayunas. Actualmente se considera patológico un valor repetido de glucosa mayor a 126 mg/dl. En un examen de glucosa aleatorio (sin ayunar) se sospecha la existencia de diabetes si los niveles son superiores a 180 mg/dl.[57]

En casos dudosos, se recurrirá a la realización de una curva de glucosa (determinación de glucosa en sangre de forma seriada) tras la toma de un preparado con 75 g de glucosa.[57]

1.5.8. TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS TIPO 2.

El tratamiento de la diabetes tipo 2 se basa en tres pilares fundamentales:

1. Seguimiento de un plan de alimentación equilibrado
2. Práctica de ejercicio físico regular
3. Tratamiento farmacológico personalizado.[58,59]

1.5.9. COMPLICACIONES.

Entre las complicaciones crónicas asociadas a esta enfermedad están la:

a) Retinopatía
b) la enfermedad coronaria
c) la neuropatía
d) 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 (WhoStudyGroup Diabetes mellitus 2002)[59]

Las complicaciones de diabetes mellitus tipo II son las responsables de la mayor parte del gasto sanitario directo (hospitalizaciones, visitas ambulatorias, tratamiento farmacológico, tiras reactivas e instrumentos para la automonitorización), 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) Tanto es así que el paciente diabético, en general, valora su calidad de vida sensiblemente peor que pacientes con otras patologías como asma o infección por VIH.[60]

1.5.10. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO.

Los medicamentos que actualmente se utilizan por vía oral para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 son:[61]

a. Sulfonilureas (primera, segunda y tercera generación).

b. Biguanidas (metformina)

c. Inhibidores de alfa glucosidasas (acarbosa, miglitol)

d. Tiazolidinedionas (pioglitazona, rosiglitazona)

Tabla N° 01: Fármacos para el tratamiento de la Diabetes tipo 2.

CLASE	COMPUESTOS	MECANISMO	ACCIONES	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Biguanidas	Metformina	AMP kinasa	Disminuye la producción de glucosa hepática Disminuye la absorción intestinal de glucosa Aumenta la acción de la Insulina.	No provoca aumento de peso No produce hipoglucemias. Reduce eventos cardiovasculares y mortalidad	Tiene efectos gastrointestinales como diarrea y dolor abdominal. Rara vez provoca acidosis láctica Puede provocar deficiencia de vitamina B12. Contraindicada en disfunción renal.
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	Generalmente bien tolerada. Reduce eventos cardiovasculares y mortalidad.	Relativamente independiente para la estimulación de la secreción de insulina dependiente de glucosa: hipoglucemias que incluyen episodios que requieren admisión hospitalaria. Ganancia de peso. Puede disminuir el pre-condicionamiento isquémico miocárdico Baja "durabilidad"
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.	Hipoglucemia. Ganancia de peso. Puede disminuir el pre-condicionamiento isquémico miocárdico. Frecuencia de la dosis.

Tiazolidinedionas	Pioglitazona	Activa la transcripción del factor nuclear PPAR gamma	Aumenta la sensibilidad periférica a la Insulina	No provoca hipoglucemia. Aumenta HDL y disminuye TG.	Ganancia de peso Edemas Descompensación de la falla cardíaca Fracturas óseas Aumenta el colesterol LDL
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.	Efectos gastrointestinales acentuados (meteorismo, dolor abdominal, diarrea). Frecuencia de la dosis.
Agonistas del receptor GLP-1 (mimméticos 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)	Aumenta la secreción de Insulina dependiente de glucosa. Disminuye la secreción de glucagón (dependiente de glucosa) Enlentece el vaciamiento gástrico. Aumenta la saciedad.	Reducción de peso Potencial aumento tanto de la masa como la función de las células Beta del Páncreas.	Efectos gastrointestinales (náuseas, vómito, diarrea) Se han reportado casos de pancreatitis Hiperplasia de las células C (casos de cáncer medular de tiroides con Liraglutide) Inyectable Seguridad a largo plazo desconocida.
Inhibidores de DPP4 ("reforzadores" de la acción de incretinas)	Sitagliptina – Vildagliptina – Saxagliptina – Linagliptina	Inhibe la actividad DDP4, prolongando la supervivencia de las incretinasendógenas.	Activa el aumento de GLP-1 y GIP (polipéptidoinsulinotrópico dependiente de glucosa). Aumenta la secreción de Insulina y disminuye la de Glucagón	No produce hipoglucemias. "Neutralidad" con el peso corporal.	Reportes ocasionales de angio-edema ó urticaria. Se han observado casos de pancreatitis. Seguridad a largo plazo desconocida.

1.5.10.1. 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.[62]

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 extrapancreaticos. 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 pacreaticas. 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. ([63]

EFECTOS ADVERSOS:

Principales efectos adversos: Hipoglucemia (como resultado del efecto hipoglucemiante de la glibenclamida) y signos adicionales de contrarregulaciónadrenérgica; 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.[55]

CONTRAINDICACIONES:

Diabetes mellitus insulinodependiente (tipo 1): Cetoacidosis diabética; coma o precomadiabéticos; hipersensibilidad a la glibenclamida o a alguno de sus excipientes; insuficiencia hepática o renal grave. Embarazo y lactancia.[54]

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.[63]

1.6.ALOXANO

El alloxano es una sustancia química capaz de provocar diabetes en animales de experimentación. Aunque desde hace años se conoce la actividad diabetogénica de esta sustancia el mecanismo de acción es aún desconocido [65,66]

Algunas evidencias indican que el efecto del alloxano es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula beta. Otros estudios en lo que se ha utilizado alloxano marcada con 14C revelan que hay una alta afinidad de esta sustancia por la membrana celular, lo que ocasiona alteraciones en su permeabilidad, lo cual puede explicar, en parte la necrosis selectiva observada en las células beta del islote pancreático ,Se ha postulado que el aloxano 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 toxicos que inducen ruptura del ADN [66].

1.7. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

1.7.1. 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. [67]

1.7.2. Biomodelos espontáneos

La descripción de los biomodelos de esta categoría se hará atendiendo a una clasificación más práctica, según la naturaleza del síndrome. [68]

1.7.3. DM 2 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°1, se exponen algunos Biomodelos, elegidos para las investigaciones al respecto. [69]

TABLA Nº02. Algunos modelos animales que desarrollan DM 2 y severa hiperglucemia

Especie	Líneas
Ratón	db/db (mutante) C57BL/KsJ*Spiny(Acomyscirimus)*.
Rata	Sand, (Psammomysobesus) fa/fa OLEFT (*Otsuka Long -Evans Tokushima Fatty*) Obesa BBZ/ Wor.
Hámster	H. chino (*Cricetulusgriseus*) H. húngaro (*Phodopussungorus*) H sudafricano (*Mysteomysalbicaidatus*).

1.7.4. DM 2 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 ß, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. En la TABLA Nº2 se exponen algunos Biomodelos elegidos para las investigaciones al respecto. **(70,71)**

TABLA Nº 03. Algunos modelos animales que desarrollan DM 2 y moderada hiperglucemia

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 *CtenomysTalarum*
	Hibrido Wellesley.

1.7.5. 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.[72]

El modelo es la rata obesa Zucker fa/fa que presenta intolerancia a la glucosa y obesidad, pero sin diabetes manifiesta. En la TABLA Nº 3 se describen algunos modelos que se escogen para estudios al respecto.

TABLA N°04. Algunos modelos animales que desarrollan DM 2 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 insulinorresistente).

1.8. Administración de sustancias químicas y métodos quirúrgicos

La administración de estreptozotocina (STZ) o Aloxano, en altas dosis, induce severa insulinodeficiencia y hasta cetosis, mientras que las bajas dosis causan una parcial reducción de la masa de células ß, 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 ß 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. [73]

II. HIPÓTESIS.

El extracto acuoso liofilizado de Geranium *ayavacense "Pasuchaca"* presenta actividad hipoglicemiante en ratas albinas con diabetes inducida por Aloxano IQUITOS–IMET–2013

III. DEFINICIONES OPERACIONALES:

3.1.Variable Independiente.

- ✓ Extractoacuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense.***

  Indicador

  NIVEL DE DOSIS

3.2.Variable Dependiente

- ✓ ACTIVIDAD hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***

3.3.Indicador

- ✓ Niveles de Glucosa Sérica

3.4.Operacionalizacion De Variables

TABLA N° 05. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES INDEPENDIENTES.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense*	Producto obtenido 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 x10^{-3} MBARR/72 horas)	Niveles de Dosis 6.3mg/kg Y 12.7 mg/kg	Dosis 6.3mg/kg • Sin efecto • Con efecto 12.7 mg/kg • Sin Efecto • Con Efecto	Intervalar Tipo: Cuantitativo

TABLA N° 06. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES.

VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR	INDICE	ESCALA
Actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense*	Acción de disminuir los niveles elevados de glucosa e incrementar los valores de insulina en sangre post administración de sustancias con dicha capacidad hipoglicemiante.	Cantidad de glucosa en sangre por debajo de los niveles normales Cantidad de glucosa en sangre en los niveles normales Cantidad de glucosa en sangre por encima de los niveles normales.	Niveles de Glucosa	Basal: < 70 mg/dl Normoglicemia: entre 70 mg/dl ≤ 110 mg/dl Hiperglicemia: >250 mg/dl	• Racional e intervalar - Tipo: Cuantitativo

Utilizando el reactivo de: Human

C A P I T U L O I I I

I. METODOLOGÍA

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 tomaron 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 realizará en ratas albinas Rattus novericus cepa de Holtzmann machos, con peso corporal de 160±250g mediante el método glucosa-oxidasa, se trabajará con 4 grupos, a los cuales a dos grupos se les administrará el extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* a dosis de 6.3 y 12.7 mg/Kg de peso corporal, otro grupo se realizará con el control positivo (Glibenclamida a dosis de 5 mg) y de igual manera con el control negativo (solución salina 0,9%). Estas soluciones serán administradas posterior a las 48 horas de administrado el Aloxano al 5%.

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

CUADRO N° 07: 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	10 por grupo	Oral
CONTROL POSITIVO (Glibenclamida 5mg)	5 mg/Kg de peso corporal	10 por grupo	Oral
CONTROL MUESTRA (*Geranium ayavacense*)	6.3 mg/Kg de peso corporal	10 por grupo	Oral
CONTROL MUESTRA (*Geranium ayavacense*)	12.7 mg/Kg de peso corporal	10 por grupo	Oral

1.3. POBLACIÓN Y MUESTRA

1.3.1. Población vegetal

Constituida por Conjunto de plantas de *Geranium ayavacense* (Pasuchaca).

Para la identificación de la muestra vegetal, se utilizará como patrones de comparación las plantas herborizadas del Herbarium de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

1.3.2. Muestra

La selección de la planta entera de ***Geranium ayavacense***, en buen estado de conservación. Se someterán al proceso de infusión (3gr muestra fresca en 1000ml de agua).

Criterios de inclusión de la muestra vegetal

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

1.3.3. Población Animal

La población animal estará constituida por ratas albinas Rattus norvegicus cepa Holtzmann, sexo macho, con un peso promedio de 160-250g procedentes del Centro Nacional de Producción Biológica del Instituto Nacional de Salud – MINSA, con sede en Lima, con certificado de salud, y albergadas en las instalaciones del bioterio del IMET - ESSALUD

1.3.4. Muestra Animal

La muestra animal estará conformada por un conjunto de 40 ratas albinas, cepa Holtzmann, machos; elegidos al azar, los cuales fueron distribuidos en 4 grupos experimentales (10 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 Aloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas solución salina 0.09 %. Sin tratamiento.
- **Grupo II (Control positivo):** Ratas con hiperglucemia experimental inducida con solución de Aloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg de peso corporal y tratados con Glibenclamida 5 mg.
- **Grupo III(Muestra problema):** Ratascon hiperglucemia experimental inducida con solución de Aloxano al 5 % a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas con ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3 mg/ kg de peso corporal.
- **Grupo IV. (Muestra problema):** Ratascon hiperglucemia experimental inducida con solución de Aloxano al 5% a una dosis de 135 mg/kg/ y tratadas con ***Geranium ayavacense*** a dosis de 12.7 mg/ kg de peso corporal.

1.3.5. Muestreo

Al azar no probabilístico

1.3.6. 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.

II. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1. Recolección del material vegetal

El material vegetal recolectado fue ***Geranium ayavacense***. Del cual se obtuvo el extracto acuoso liofilizado. Para la recolección se siguieron los siguientes pasos:

- Selección de las especies de ***Geranium ayavacense.***

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 planta entera de ***Geranium ayavacense*** 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 *Geranium ayavacense.***

    La muestra vegetal fue identificada en el *Herbarium Amazonense* AMAZ-CIRNA de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. **(Ver Anexo Nº 02)**

2.2. Obtención de los Extracto Acuoso Liofilizado de *Geranium ayavacense.*

Planta de *Geranium ayavacense:*

Realizar la cocción de la planta entera con agua a temperatura entre 60° a 70°C, durante 2 a 3 horas; luego dejar enfriar a temperatura ambiente, posteriormente filtrar con algodón, después con papel filtro y dejar 72 horas en reposo bajo refrigeración para que las partículas pesadas y extrañas sedimenten.

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

Liofilización del extracto acuoso: Utilizar un liofilizador de 4.5 Lt, el proceso consistirá en deshidratar el extracto acuoso congelado a una temperatura y presión de vapor bajo (-40ºC y 1.33 x 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: Almacenar en un ambiente seco a temperatura menor de 25ºC, en frasco con cierre hermético.

2.3. Evaluación dela Actividad Hipoglicemiante. (Ver Anexo Nº 03)

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 Nº 5)**

Inducción experimental de hiperglucemia

Posterior al ayuno de 12 horas, a los animales se les tomó una 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 inoculó una solución de Aloxanoal 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;

Tratamiento de los grupos experimentales.

Inmediatamente después de evaluar el índice hiperglicémico de las ratas se administró por vía oral el extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3 mg/kg/peso corporal y 12.7 mg/kg/peso corporal correspondiente a cada grupo de estudio. Al grupo del control positivo se le administró Glibenclamida 5 mg/kg/peso corporal por vía oraly 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.

Evaluación

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

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.

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.[74]

III. MATERIALES

3.1.Material Vegetal:

- ✓ Extracto acuoso de la corteza de ***Geranium ayavacense***; a Dosis según ensayo preliminar.

3.2.Material Animal:

- ✓ Ratas albinas, cepa Holtzmann, sexo macho.

3.3.Drogas e insumos químicos:

- ✓ Glibenclamida
- ✓ Set de Glicemia enzimática (Human).
- ✓ Reactivo de Aloxano (ALDRICH CHEMISTRY).
- ✓ Alcohol medicinal.
- ✓ Violeta de genciana.

3.4.Materiales De Laboratorio

- Cánula intragástrica
- Agujas descartables Nº 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 Nº 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

3.5.Equipos e Instrumentos:

- ✓ Espectrofotómetro: Wiener Lab. Metrolab 1600 DR
- ✓ Liofilizador: FreezerDrysistem / Freezone4,5 L LABCONCO
- ✓ Congeladora: Friolux de 120 lt.
- ✓ Baño maría. Selecta Precisterm
- ✓ Estufa
- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Balanza analítica. Mettler Toledo AG 204
- ✓ Balanza digital: Metler Toledo AG 204
- ✓ Centrifugadora: PselectaMixtasel
- ✓ MicrohematocritCentrifugeModel: SH120-1

IV.TÉCNICAS USADAS EN LA RECOLECCIÓN DE DATOS

4.1.Peso Corporal

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

4.2.Bioquímica clínica

4.2.1. 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.

4.2.2. 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.

4.2.3. Procesamiento de las muestras

La muestra de sangre recolectada fue centrifugada 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 Nº 5)**

4.2.4. Método para la determinación enzimática de Glucosa (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.).

V. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS.

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

- Se calculó la media y desviación estándar, que fueron 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

VI. 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. [75]

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. [76]

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. [77]

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.[78]

C A P I T U L O I V

I. RESULTADOS

INDUCCIÓN DE HIPERGLICEMIA.

TABLA N°07: Niveles de glicemia sérica post administración de Aloxano al 5%, en todos los grupos experimentales.

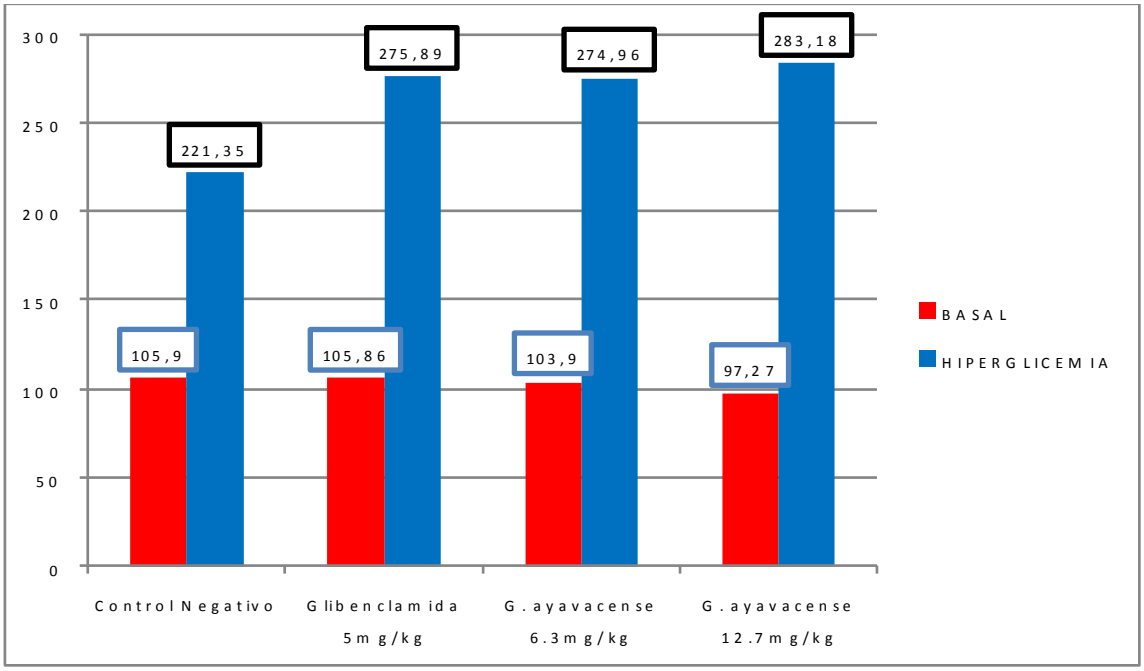
GRUPOS	BASAL X ± SD	HIPERGLICEMIA X ± SD
GRUPO 1:	105.90 ± 4,7	221.35 ± 8,9 *
GRUPO 2:	105.86 ± 8,5	275.89 ± 19.6*
GRUPO 3:	103.90 ± 16,9	274.96 ± 6,5 *
GRUPO 4:	97.27 ± 11,3	283.18 ± 10,5 *

X ± SD: Promedio y desviación standart. *: $p < 0.05$
GRUPO 1: Control negativo: agua destilada.
GRUPO 2: Control positivo: Glibenclamida 5 mg/kg
GRUPO 3: Geranium ayavacense 6.3 mg/Kg de peso corporal
GRUPO 4: Geranium ayavacense 12.7 mg/Kg de peso corporal

En la Tabla N°07, 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 Aloxano al 5%.

Se evidencia una diferencia estadística significativa (**$p < 0.05$**), en todos los grupos experimentales (Grupo 1: Basal 105.90 mg/dL; hiperglicemia 221.35 mg/dL; Grupo 2: Basal 105.86 mg/dL; hiperglicemia 275.89 mg/dL; Grupo 3: Basal 103.90 mg/dL, hiperglicemia 274.96 mg/dL; Grupo 4: Basal 97.27mg/dL; hiperglicemia 283.18mg/dL).

GRÁFICO Nº 01: Niveles de glicemia sérica post administración de Aloxano al 5%, en todos los grupos experimentales.



En el Grafico N° 01: Muestran los niveles de glicemia sérica post administración de Aloxano al 5%, donde se aprecia un incremento significativo en niveles hiperglicémicos en todos los grupos experimentales (**Grupo 1: 221.35 mg/dL.; Grupo 2: 275.89 mg/dL; Grupo 3: 274.96 mg/dL; Grupo 4: 283.18 mg/dL**.).

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE:

TABLA N°08: 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
GRUPO 1:	221,35 ± 8,9	236,96± 8,06	215,07± 66,4	236,75± 14,5	247,90 ±7,1	244,54 ± 9,0
GRUPO 2:	275.89 ± 19.6	250.63 ± 20.9	235.46 ± 44.3	216.93 ± 16.12*	202.16 ± 21,4*	174.23 ± 26,5*
GRUPO 3:	274,96 ± 6,5	281,19 ± 11,8	275,00±10,8	263,1 ±15,5	257,6 ± 30,2	233,31± 46,3*
GRUPO 4:	283,18 ± 10,5	275,01 ± 19,4	258,3 ± 18,8*	263,6± 15,5*	238,33± 56,7*	228,38 ± 69,2*

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

GRUPO 1: Control negativo: agua destilada.

GRUPO 2: Control positivo: Glibenclamida 5 mg/kg

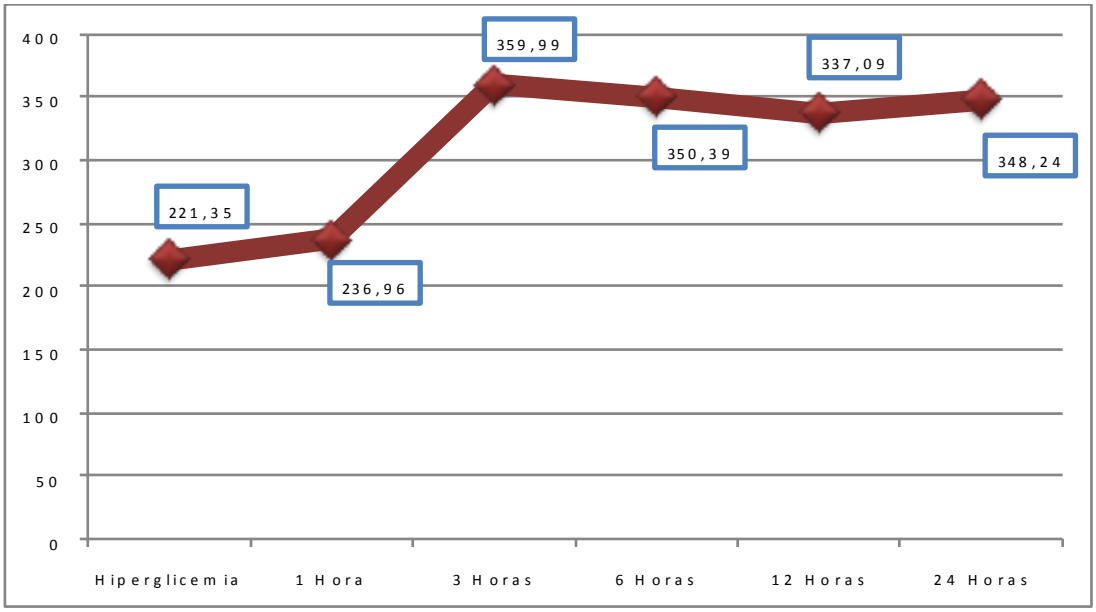
GRUPO 3: Geranium ayavacense 6.3 mg/Kg de peso corporal

GRUPO 4: Geranium ayavacense 12.7 mg/Kg de peso corporal

En la Tabla 08: En el Grupo 1: **Control Negativo** no presento evidencia de disminución de la glicemia; en el Grupo 2: **Glibenclamida 5 mg**, se presentó una reducción de glicemia sérica, encontrándose diferencia estadística significativa a las 6 (216.93 mg/dL), 12 (202.16 mg/dL) y 24 horas (174.23 mg/dL); en el Grupo 3: ***Geranium ayavacense,*** a dosis de 6.3 mg/Kg., evidenció diferencia estadística significativa solo a las 24 horas (225.28 mg/dL). En el Grupo 4:***Geranium ayavacense,*** a dosis de 12.7 mg/dL., evidencio diferencia estadística significativa a las3 horas (258.3 mg/dL); 6 horas (263.6 mg/dL); a las 12 horas (238.33 mg/dL); a las 24 horas (228.38 mg/dL).

CONTROL NEGATIVO

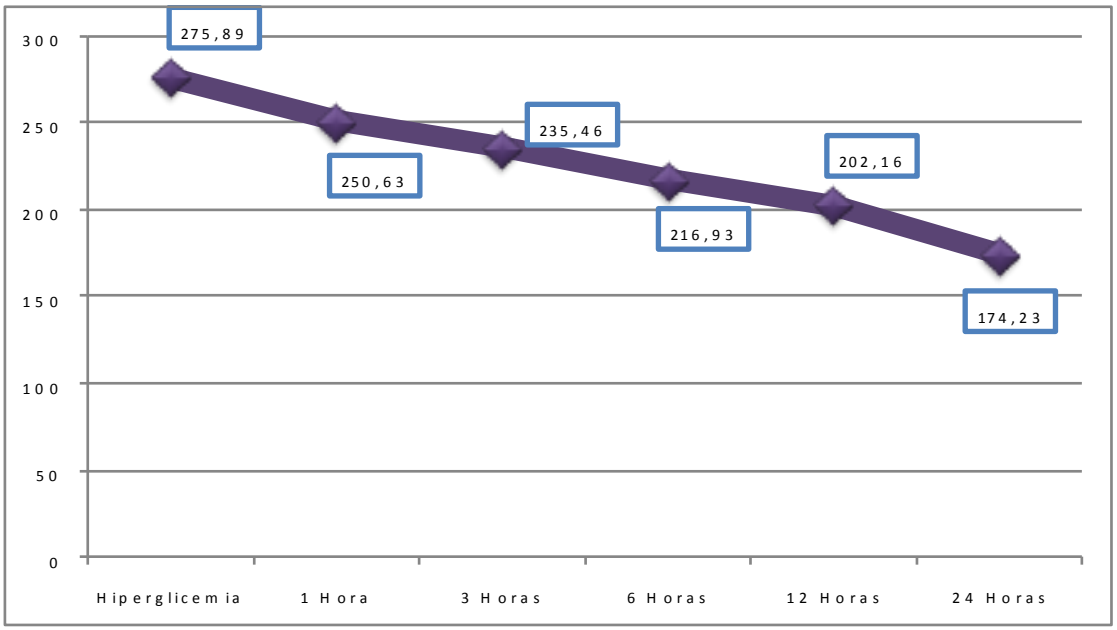
GRAFICO N° 02: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, según el grupo control negativo.



En el Grafico N° 02: En el Grupo 1: Control negativo, no presento evidencia estadística significativa al observarse elevación en los niveles de glucosa sérica.

CONTROL POSITIVO

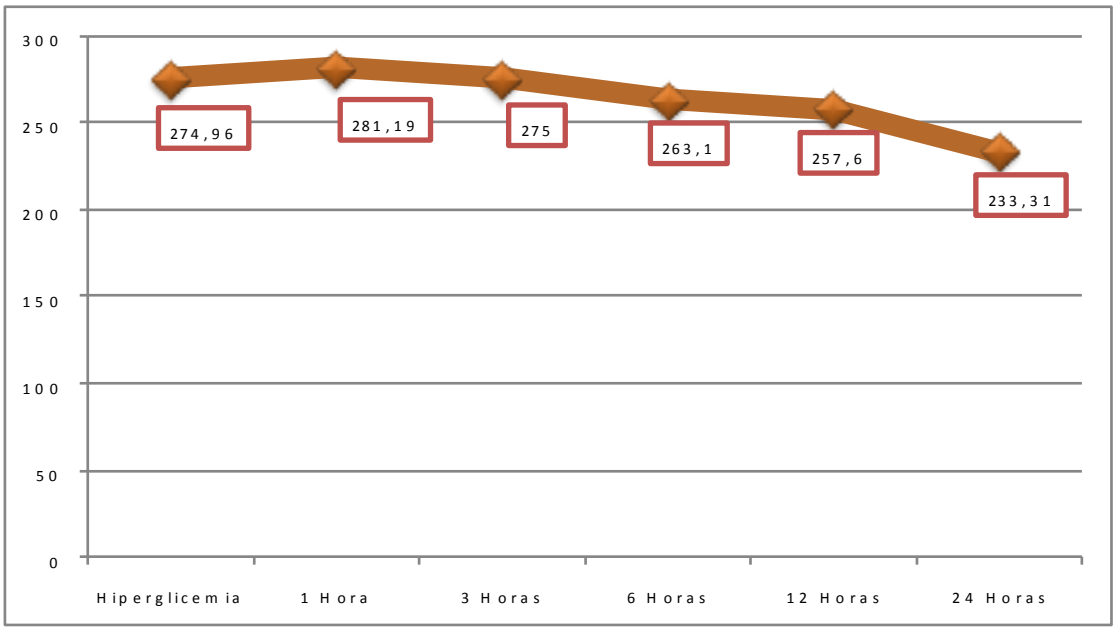
GRAFICO N° 03: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del Extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, según el grupo control positivo.



En el Grupo N° 03: En el Grupo 2: Control positivo, presento evidencia estadística significativa a las 6 horas (216.93 mg/dL), 12 horas (202.16 mg/dL) y 24 horas (174.23mg/dL)

GRUPO CONTROL *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg

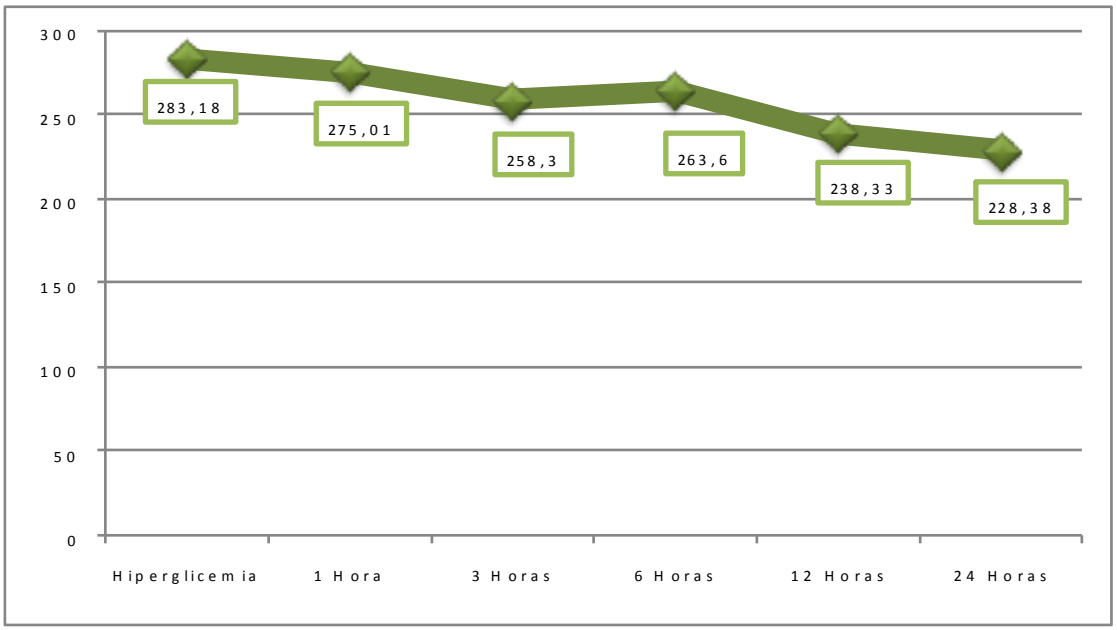
Grafico N° 04: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del Extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, según el grupo control *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg.



En el Grafico N° 04: Grupo 3: Dosis de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg., presentó evidencia estadística significativa solo a las 24 horas (225.28 mg/dL)

GRUPO CONTROL *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg

1.1.Grafico N° 05: Variación de los niveles séricos de glicemia en ratas albinas machos por acción del Extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense***, según el grupo control *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg



En el Grafico N° 05: Grupo 4: Dosis de *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg, presentó evidencia estadística significativa a las 3 horas (258.3 mg/dL); 6 horas (263.6 mg/dL); a las 12 horas (238.33 mg/dL); a las 24 horas (228.38 mg/dL).

Comparación de la actividad hipoglicemiante del grupo control positivo en relación al grupo control *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg y grupo control *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg

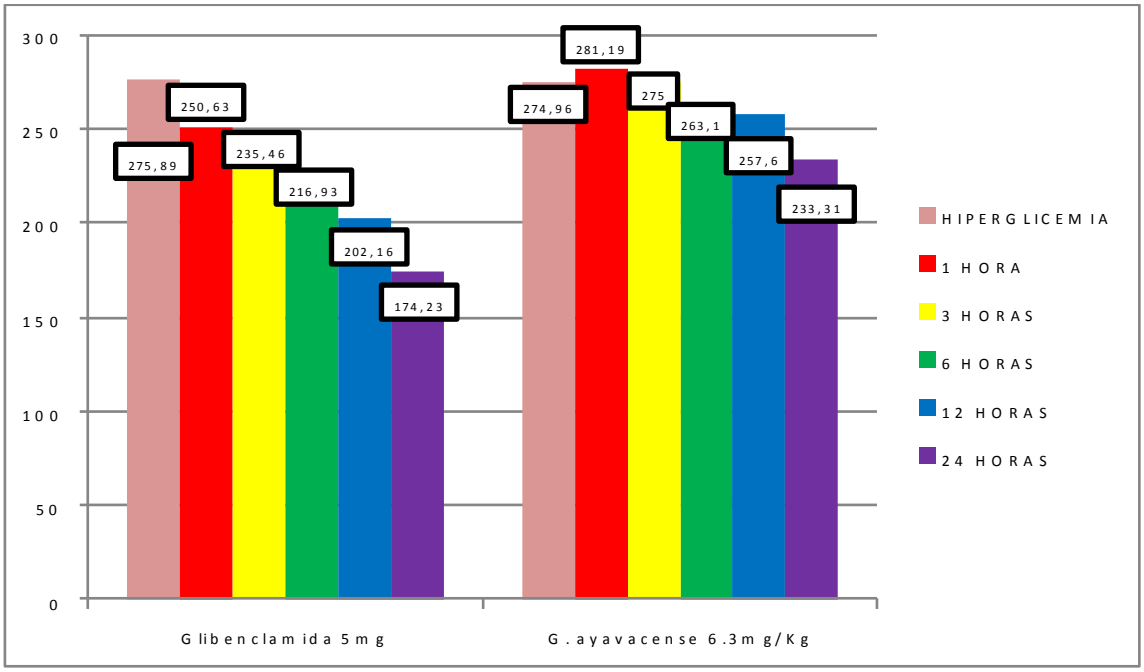
Comparación de la actividad del control positivo en relación al grupo control *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg

Tabla N° 09: Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5 mg respecto a *Geranium ayavacense* 6.3 mg/kg

Grupos	Basal hiper-glicemico 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 5 mg/kg	275.89 ± 19.6	250.63 ± 20.9	235.46 ± 44.3	216.93 ± 16.12*	202.16 ± 21,4*	174.23 ± 26,5*
Geranium ayavacense 6.3 mg/kg	274,96 ± 6,5	281,19 ± 11,8	275,00±10,8	263,1 ±15,5	257,6 ± 30,2	233,31± 46,3*

En la Tabla N° 09: En el Grupo 2: Control positivo, presentó evidencia estadística significativa a las 6 horas (216.93 mg/dL), 12 horas (202.16 mg/dL) y 24 horas (174.23mg/dL). En el Grupo 3: Dosis de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg., presentó evidencia estadística significativa solo a las 24 horas (225.28 mg/dL)

Grafico N° 06. Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5 mg respecto a *Geranium ayavacense 6.3 mg/Kg*



En el Grafico N° 06: En el Grupo 2: Control Positivo presenta una disminución de la glicemia (174.23 mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de Tratamiento; mientras que en el Grupo 3: ***Geranium ayavacense a dosis 6.3 mg/Kg***, presenta un disminución de la glicemia a las 24 horas (233.31 mg/dL) de tratamiento.

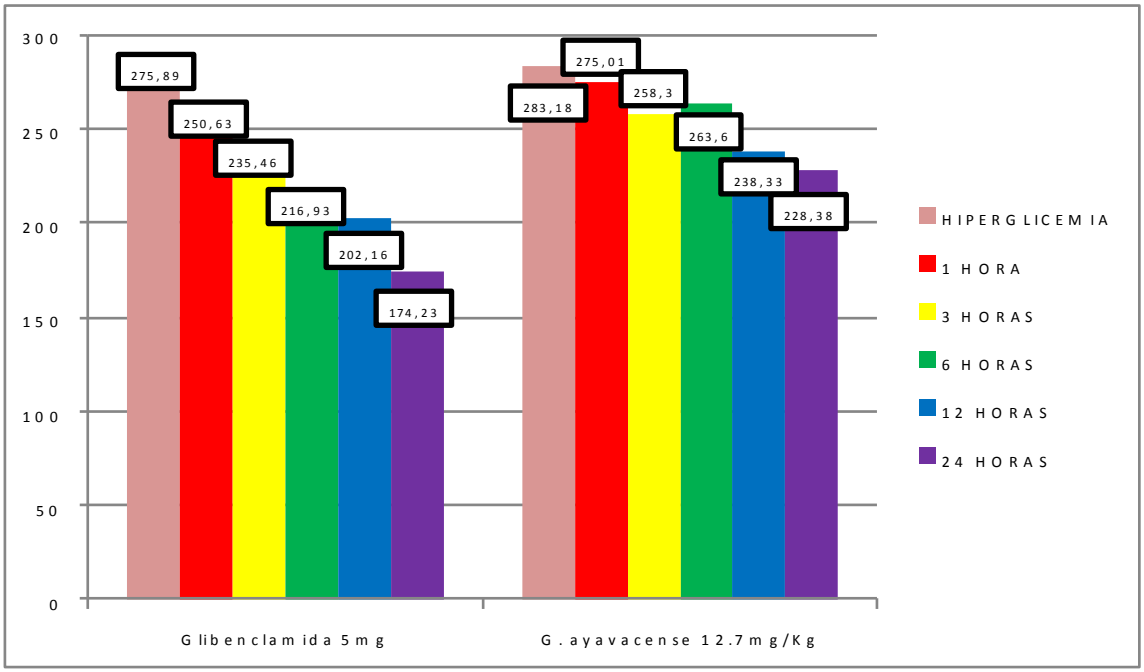
Comparación De la actividaddel Control Positivo En Relación Al Grupo Control *Geranium ayavacense 12.7* mg/Kg

Tabla N° 10: Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5 mg respecto a *Geranium ayavacense 12.7* mg/Kg.

GRUPOS	BASAL HIPER-GLICEMICO 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 5 mg/kg	275.89 ± 19.6	250.63 ± 20.9	235.46 ± 44.3	216.93 ± 16.12*	202.16 ± 21,4*	174.23 ± 26,5*
Geranium ayavacense 12.7 mg/Kg	283,18 ± 10,5	275,01 ± 19,4	258,3 ± 18,8*	263,6± 15,5*	238,33± 56,7*	228,38 ± 69,2*

En la Tabla N° 10: En el Grupo 2: Control positivo, presentó evidencia estadística significativa a las 6 horas (216.93 mg/dL), 12 horas (202.16 mg/dL) y 24 horas (174.23mg/dL). En el Grupo 4: Dosis de *Geranium ayavacense*12.7 mg/kg, presentó evidencia estadística significativa a las 3 horas (258.3 mg/dL); 6 horas (263.6 mg/dL); a las 12 horas (238.33 mg/dL); a las 24 horas (228.38 mg/dL).

Grafico N° 07.Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de Glibenclamida 5 mg respecto a *Geranium ayavacense 12.7* mg/Kg.



En el Grafico N° 07: En el Grupo 2: Control Positivo presenta una disminución de la glicemia (174.23 mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de Tratamiento; mientras que en el Grupo 4: ***Geranium ayavacense,*** a dosis de 12.7 mg/Kg., presenta una mayor disminución de la glicemia (228.38mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de tratamiento.

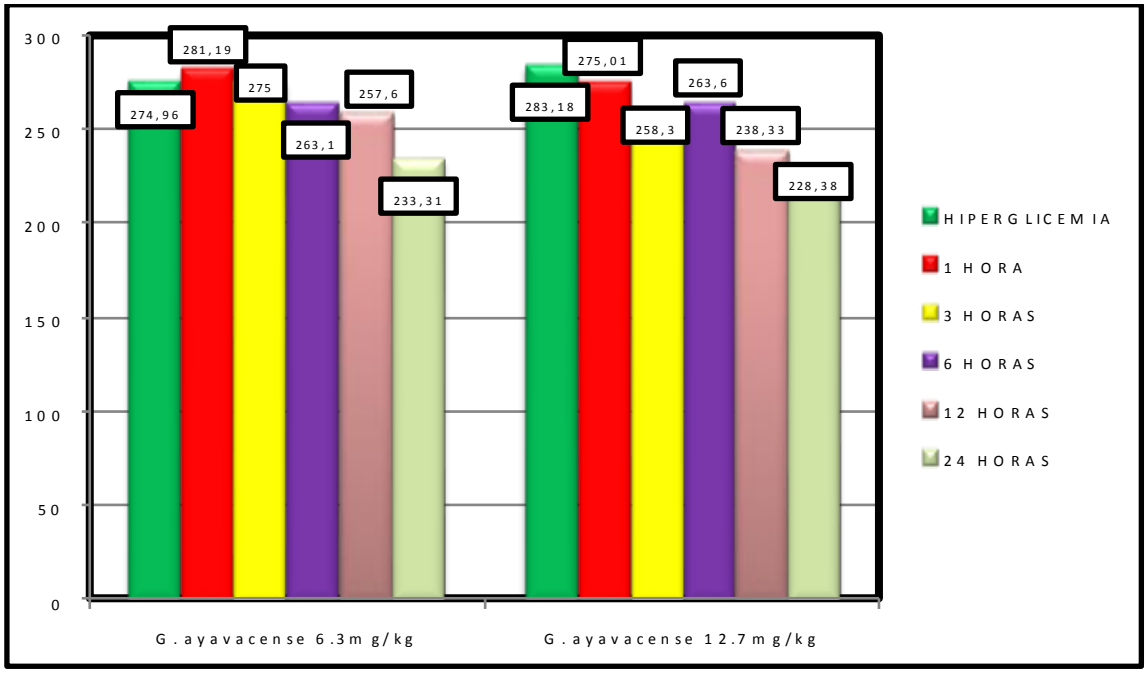
Comparación de la actividad hipoglicemiante entre el grupo control *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg y el grupo control *Geranium ayavacense* 12.7 mg/Kg

Tabla N° 11: Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg y el grupo control *Geranium ayavacense* 12.7 mg/Kg.

GRUPOS	BASAL HIPER-GLICEMICO 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
Geranium ayavacense 6.3 mg/Kg	274,96 ± 6,5	281,19 ± 11,8	275,00±10,8	263,1 ±15,5	257,6 ± 30,2	233,31± 46,3*
Geranium ayavacense 12.7 mg/Kg	283,18 ± 10,5	275,01 ± 19,4	258,3 ± 18,8*	263,6± 15,5*	238,33± 56,7*	228,38 ± 69,2*

En la Tabla N° 11: En el Grupo 3: Dosis de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg., presentó evidencia estadística significativa solo a las 24 horas (225.28 mg/dL). En el Grupo 4: Dosis de *Geranium ayavacense* 12.7 mg/kg, presentó evidencia estadística significativa a las 3 horas (258.3 mg/dL); 6 horas (263.6 mg/dL); a las 12 horas (238.33 mg/dL); a las 24 horas (228.38 mg/dL).

Grafico N° 08. Comparación de la actividad sobre los niveles de glicemia de *Geranium ayavacense* 6.3 mg/Kg. Respecto a *Geranium ayavacense* 12.7 mg/Kg.



En el Grafico N° 08: En el Grupo de ***Geranium ayavacense a dosis 6.3 mg/Kg***, presentó un disminución de la glicemia a las 24 horas (233.31 mg/dL) de tratamiento, mientras que en el Grupo 4: ***Geranium ayavacense,*** a dosis de 12.7 mg/Kg., presenta una mayor disminución de la glicemia (228.38mg/dL) con respecto a su basal a las 24 horas de tratamiento.

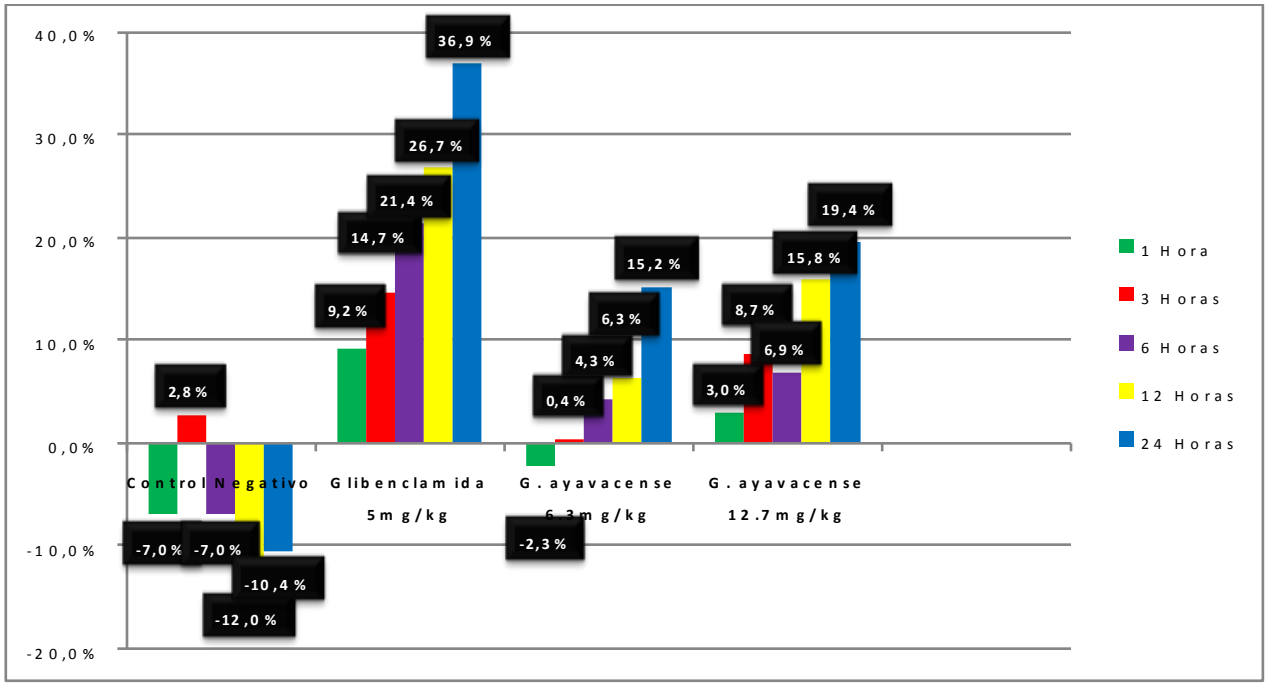
1. **Porcentaje de disminución de los niveles séricos de glicemia**

TABLA N°12: Porcentaje de disminución de los niveles de séricos de glicemia en ratas albinas, en todos los grupos experimentales.

GRUPOS	1 HORA %	3 HORAS %	6 HORAS %	12 HORAS %	24 HORAS %
Control Negativo	-7.0	2.8	-7.0	-12.0	-10.4
Glibenclamida 5mg/kg	9.16	14.65	21.37	26.72	36.85
G. ayavacense 6.3 mg/Kg	-2.3	0.4	4.3	6.3	15.2
G. ayavacense 12.7 mg/Kg	3.0	8.7	6.9	15.8	19.4

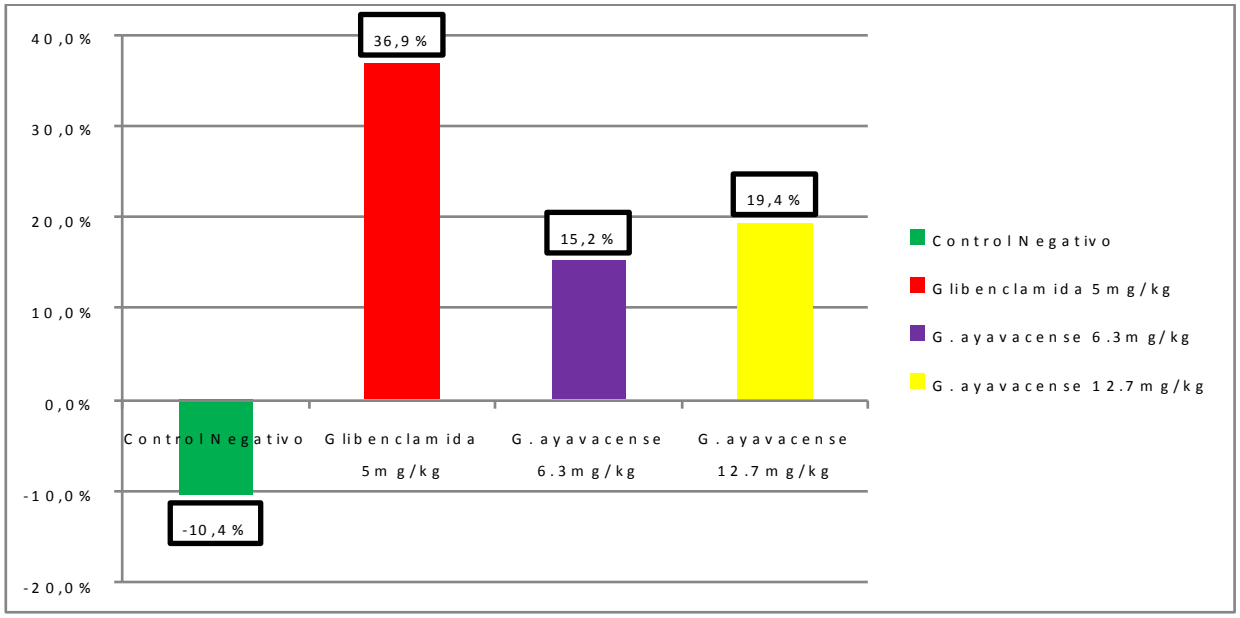
En la Tabla N°12: Se muestra el porcentaje de disminución de los niveles de glicemia en ratas albinas de todos los grupos experimentales. Se observa que el grupo que utilizó Glibenclamida 5mg, produjo una disminución de 12.8% a las 24 horas de tratamiento, siendo su mejor porcentaje de disminución de 33.12% a las 6 horas; mientras que el grupo de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3 mg/Kg. manifestó una disminución del 15.2 % a las 24 horas de tratamiento; en el grupo de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 12.7 mg/Kg. produjo una disminución del 19.4 % en los niveles de glicemia a las 24 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 un mayor porcentaje de disminución de la glicemia a las 24 horas con 36.85%, así mismo para los grupos de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3 mg/Kg y 12.7 mg/Kg, se aprecia un incremento progresivo de los porcentajes de disminución de Glicemia sérica, siendo el mayor en el grupo de ***Geranium ayavacense*** 6.3 mg/Kg a las 24 horas con 15.2 %, y el grupo de ***Geranium ayavacense*** de 12.7 mg/Kg. a las 24 horas con 19.4%.

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 obtuvo una disminución del 36.85%, asimismo en el grupo de ***Geranium ayavacense*** a dosis de 6.3mg/Kg manifestó el mayor porcentaje con un 15.2% en comparación al grupo de ***Geranium ayavacense*** a dosis 12.7mg/Kg que solo obtuvo un 19.4%.

II. DISCUSION.

El presente estudio se realizó con el propósito de evaluar la actividad hipoglicemiante in vivo del extracto acuoso liofilizado de ***Geranium ayavacense* (pasuchaca)** a las dosis de 6.3mg/kg y 12.7mg/Kg de peso corporal.

Para la inducción de Diabetes experimental en ratas albinas, se utilizó una solución de aloxano al 5%, el cual respondió favorablemente, generando un incremento en los niveles de glicemia sérica de 297.22 mg/dL; lo cual es suficientemente alto para evaluar la actividad hipoglicemiante anteriormente mencionada.

La actividad hipoglicemiante de ***Geranium ayavacense*** (**pasuchaca**) fue evaluado a través del modelo de diabetes experimental inducido por Aloxano, 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 Aloxano se justifica a su similitud molecular con la estructura de la glicemia.

En el presente estudio, se obtuvo un incremento significativo de los niveles de glicemia sérica en todos los grupos experimentales (Grupo 1: 221.35 mg/dL; Grupo 2: 275.89 mg/dL: Grupo 3: 274.96 mg/dL; Grupo 4: 283.18 mg/dL), post administración de Aloxano al 5% a dosis de 135mg/kg. Estos resultados concuerdan con los con los reportados por RAMOS H.[8] En el estudio de Diabetes Mellitus experimental donde usó agentes químicos como el aloxano para producir hiperglicemia experimental esto permitió realizar estudios positivos en pruebas bioquímicas y morfológicas que ocurriendo durante y después de la inducción el aloxano provoco hiperglicemia con citotoxicidad especifica destruyendo 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

En el grupo control negativo (suero fisiológico) los valores de glucosa fueron creciendo progresivamente (basal hiperglicemico= 221.35 mg/dl, 1^{era} hora= 236.96 mg/dl, 3^{era} hora= 215.07 mg/dl, 6ta hora= 236.75 mg/dl, 12va hora= 247.90 mg/dl, y 24va hora= 244.54 mg/dl), esto se debe a que en este grupo no existe tratamiento alguno que contrarreste el aumento de glicemia (hiperglicemia).

Los resultados obtenidos por el grupo control positivo, Glibenclamida 5mg, muestran una disminución marcada de los niveles séricos de glicemia desde la 6 hora (216.93 mg/dL), 12 horas (202.16 mg/dL) hasta las 24 horas (174.23 mg/dL), 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 y cuyo mecanismo de acción consiste en promover el aumento de la secreción de insulina por parte de las células beta de los islotes del páncreas mediante un mecanismo no definido, y disminuye la glucogenolisis y la gluconeogénesis hepática.

En el presente estudio se obtuvo una disminución estadísticamente significativa de glucosa sérica en los grupos de control de *Geranium ayavacense* a dosis de 6.3 (233.31 mg/dL) y 12.7 (228.38 mg/dL) post administración del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* (pasuchaca), Estos resultados concuerdan con los reportados por **AVALOS, V. 2005**,[33] donde realizó un estudio denominado Efecto hipoglicemiante e hipolipidemico de Ccissampelos papeira y Geranium lechleri, en ratas con diabetes inducida por aloxano, comparado con glibenclamida. Donde utilizó extractos alcohólicos de Abuta y Pasuchaca, en 50 ratas hembras, administrados por vía oral, en periodos de 1, 2 y 24 horas. Asimismo Abuta presento un buen efecto hipoglicemiante desde la primera hora hasta las dos horas; la combinación Abuta-Pasuchaca demostró un efecto mayor que la Glibenclamida. La Abuta puede ser usada como hipoglicemiante efectivo y la disminución de los niveles de HDL colesterol fue menor que lo observado con la Pasuchaca y Glibenclamida.

En el presente estudio se obtuvo una disminución significativa de glucosa sérica en los grupos de control de *Geranium ayavacense* a dosis de 6.3 mg/kg (233.31 mg/dL) y 12.7 mg/kg (228.38mg/dL) post administración del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* (pasuchaca), lo cual podemos atribuir que la actividad hipoglicemiante es por la presencia de flavoniodes y alcaloides presentes en la planta en estudio. Estos resultados coinciden con los reportados por**CASTAÑENA B., (2008)**. [31] Donde reportóque: Realizó un Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 Plantas con efecto hipoglicemiante en el cual se encontraba "yacon", **pasuchaca**, cuti-cuti y albahaca". En este trabajo concluyeron que solo el yacon, pasuchaca y cuti-cuti tuvieron efecto hipoglicemiante llegando a normalizar la glucosa hasta por 24 horas en las ratas con diabetes inducidas por Aloxano. Asiéndole responsable a los flavonoides y alcaloides a la disminución de glucosa presentes en estas plantas sin mayor estudio.

En el estudio experimental con *Geranium ayavacense* a dosis de 6.3 mg/kg se logró una disminución en los valores de glucosa sérica hasta 233.31 mg/dL con respecto a las 24 horas de tratamiento; a la dosis de 12.6 mg/kg se logró una disminución en los valores de glicemia sérica hasta 228.38 mg/dL con respecto a las 24 horas de tratamiento. Estos resultados concuerdan con lo reportado por: **FERREIRA F., *et al*, 2010.** [20] Donde realizó un estudio sobre el té de *Geranium robertianum* disminuye los niveles de glucosa en sangre y mejora la fosforilacion oxidativa mitocondrial del hígado en ratas diabéticas Goto-Kakizaki, en la cual postula que un flavonide, **Kaempferol**, es responsable del estos procesos, comprobándose la efectividad de la evaluación para la diabetes tipo 2.

Este efecto hipoglicemiante puede estar relacionado a la presencia de los flavonoides y alcaliodes cuya presencia en esta especie ha sido reportado por **DELGADO. W. Henry; VILLACREZ V. Isaac** [30]; estos compuestos poseen estructuras que pueden donar electrones fácilmente ya que poseen grupos hidroxilos en posición próxima y por lo tanto ejercen una poderosa actividad de barrer electrones, además 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 ***Geranium ayavacense*** protejan las complicaciones producidas por la diabetes.

Así mismo **MARIKOK.(2006),** [32] En el estudio realizado sobre el "**Efecto inhibitorio del extracto pasuchaca (*Geranium dielsiaum*), sobre la *α*-glucosidasa en ratones.** Donde reporto que los extractos alcohólicos de **Pasuchaca**, tiene un efecto reductor de la glucosa en sangre después de la administración post-prandial de sacarosa y maltosa en ratones; concluyendo que la Pasuchaca, es un supresor de los niveles altos de glucosa en sangre y su ingesta puede prevenir los desórdenes metabólicos de la diabetes. Según su postulado debido a la presencia de alcaloides y flavonides, por otra parte, **CASTRO Y COLABORADORES (2002)** [35], en el estudio sobre metabolitos secundarios de plantas medicinales con efecto hipoglucemiante donde determinaron que ***el cromo*** como factor de tolerancia a la glucosa concluyeron que en los extractos acuosos en caliente de: Phyllantys niruri L. (Chancapiedra), **Geranium dielsianum Knut (Pasuchaca),** Gentianella alborosea G. (Hercampure), Otholobium pubescens(Culen) Smallantus sonchifolia(Yacón), Chloraphora tintoria(Mora) y Taraxacum officinalis W (Diente de león), se logró determinar vía analítica cualitativa la presencia del cromo, con el reactivo difenilcarbazida manifestándose a través de una coloración violeta o rojo. El análisis cuantitativo se determinó por Espectrofotometría de Absorción Atómica con los siguientes resultados en ppm: Gentianella alboroseaG. (Hercampure) 0.030, Geranium dielsianum Knut ((Pasuchaca) 0.010, Phyllantus niruri L. (Chancapiedra) 0.050, Chloraphora tinctoria (Mora) 0.027, Taraxacum officinalis W. (Diente de León) 0.039, Otholobium pubescens (Culen) 3.2321, Smallantus sonchifolia (Yacón) 0.041.

Por lo tanto, en el presente trabajo de investigación se demostró que el Aloxano 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 ***Geranium ayavacense*** **(pasuchaca)**, se evidenció efecto hipoglicemiante por parte de esta planta.

III. CONCLUSIONES.

- En el presente trabajo se determinó y evaluó la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* "pasuchaca"; en ratas albinas cepa Holtzman con hiperglicemia experimental inducida. El método de inducción de diabetes experimental por Aloxano 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 acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* "pasuchaca"; a dosis de 12.7 mg/kg demostró ser más efectiva que la dosis de 6.3 mg/kg reduciendo los niveles séricos de glucosa desde la 1 hora hasta las 24 horas en un 19.4% comparando con el control positivo Glibenclamida 5 mg/kg que fue de 36.9%.

- La dosis de 6.3 mg/kg del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* que presento mayor actividad hipoglicemiante solo a las 24 horas con 233.31 mg/dL, siendo estadísticamente significativo.

- La dosis de 12.7 mg/kg del extracto acuoso liofilizado de *Geranium ayavacense* que presento mayor actividad hipoglicemiante a las 3 horas con 258.3 mg/dL, a las 6 horas con 263.6 mg/dL, a las 12 horas con 238.33 mg/dL, y a las 24 horas con 228.38 mg/dL siendo estadísticamente significativo.

IV. RECOMENDACIONES.

- Incluir un mayor número de animales de experimentación.

- Incluir un mayor número de repeticiones de los diferentes ensayos a las dosis propuestas

- Incluir mayor número de ensayos con dosis más altas de *Geranium ayavacense* (pasuchaca) para corroborar su actividad hipoglicemiante.

- Incluir dentro de las pruebas bioquímicas marcadores de daño hepático y pancreático.

- Efectuar pruebas de toxicidad a la fracción responsable de la actividad hipoglicemiante.

- Utilizar otra sustancia a parte del aloxano, como el streptozotocina, para producir diabetes experimental

- Realizar el estudio histopatológico del páncreas para observar la lesión o degradación de las células beta.

- Se recomienda el consumo de *Geranium ayavacense* (pasuchaca) para el control de glicemia en sangre. Sin embargo consideramos que sería importante poder comprobarlo en personas con problemas de diabetes.

C A P I T U L O V

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. **TaboasGuimerans** S. Fitoterapia. 2005. Disponible en: http://riie.com.ar/?a=30379.

2. Morales Taipe V. Catálogo de Plantas Medicinales estudiadas en la Facultad de farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Lima. Perú. 2000. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/farmacia/v34_n109/catalogo_pmedicinale

3. **Piloto Ferrer J, *et al*. Plantas medicinales. Diez años de evaluaciones toxicogenéticas en el CIDEM (5), 428 - 434 BLACPMA ISSN 0717 7917. 2009. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas.** Disponible en:http://www.blacpma.org/archivos/BLACPMA08050428.pdf

4. Salaverry O. Plantas medicinales y sociedad moderna. Rev Perú MedExp Salud Pública. 2005; 22(4): 245-46. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172646342005004000 1.

5. **Lilacs: diabetes en el mundo. Venezuela.** Disponible en: http://www.adaptogeno.com/svms/noticias/noticia165.asp

6. Google.2012. FID. Diabetes en América latina. México.Disponible en: http://ortomolecularnews.blogspot.com/2012/01/mexico-primer-lugar-en-diabetes-en.html

7. Zubiate M. Diabetes Mellitus, glucose intolerance and obesity prevalence in Perú. 14th IDF Congress 200. 504 A. Poster 2011; 200

8. Chavez A., Ramirez E. Estudio de la Actividad Hipoglicemiante y Toxicologico del Extracto Etanolico de *Momordicacharantia*(papailla) en Ratas Albinas (*Rattusnovergicus*)-Facultad de Farmacia y Bioquimica-2012. Tesis: Bach Farmacia. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos – Perú.

9. American diabetes Asociation, diagnosis and classification of Diabetes Mellistus. Diabetes care 2009, 32 (Supp 1):S62-S67

10. Day C. Bailey CJ. Hypoglicaemic agents frontradicional plant treatments for diabetes, IntInd Biotech 1988:8(3) 5-8

11. 3-kim OK. Lee EB. The screening of plants for hypoglycemic. Action in normal and alloxan-induced hiperglicemic rats. Korean J pharmacog 1992; 23 (2). 117 – 9

12. Cody V., Meddleton E., Harborne J., Beretz A. Plant Flavonoids in Biology and Medicine II. Alan R. Liss. INC, New York; 1987.

13. Duke, J A. CRC Handbook of medicinal Herbs. Library of Congress Cataloging in Publication Data; 2000.

14. Mostacero J, Castillo F, Mejía F, Gamarra O, Charcape J, Ramírez R. Plantas Medicinales del Perú. Taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica. Trujillo: Asamblea Nacional de Rectores; 2011. Pág. 291-292.

15. DIAZ R. (1988). Estudio fitoquimico de los extractos de la Sp. *Geranium ayavacense*Willdex-ensayo experimental de su actividad hipoglicemiante en *Oryctolagus cunniculus*. Tesis Bach. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo- Peru.

16. PAZ CG, PEREZ MR. (1991). Obtención del extracto tánico con mezclas alcohol-etre de la especie *de Geranium ayavacense* W. y ensayo de su efecto hipoglicemiante en *Oryctolatus cunniculus* con diabetes experimental aloxanica. Tesis Bach. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo- Perú.

17. VASQUEZ MR, URQUIZO FO. (1999). Efecto del decoctodo de la Sp. Geranium ayavacense Willdex en lesiones gástricas de Rattusrattusvaralbinus y su comparación con la ranitidina. Tesis Bach. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo - Perú.

18. Winkel-Shirley, B. 2001. "Flavonoid Biosynthesis. A Colorful Model for Genetics, Biochemistry, Cell Biology, and Biotechnology". *PlantPhysiology* 126: 485-493.

19. Winkel-Shirley, B. 2001b. "It takes a garden. How work on diverse plant species has contributed to an understanding of flavonoid metabolism". *PlantPhysiology* 127: 1399-1404.

20. Ferreira F., 2010. "Mito Tea": Geranium robertianum L. decoctions decrece blood glucose levels and improve liver mitocondrial oxidative phosphorilation in diabetic Goto-kakizaki rats.

21. Devlin, T. M. 2004. *Bioquímica*, 4ª edición. Reverté, Barcelona. ISBN 84-291-7208-4

22. DUCHAINE, D. (1989). Underground Steroid Handbook II (LIMITADA ed., Vol. 2). (COPYRIGHT, Trad.) EUA: EDICION REVISADA

23. 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 modulatorios 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.

24. Brewster, Ray Q. Mcewen, Willian E. Química Orgánica/ Ray Q Brewster, Willian E Mcewen Instituto Cubano del Libro. La Habana. Edición Revolucionaria. 1975_950p

25. http://medicina.usac.edu.gt/quimica/hidrocar/aromaticos/Introducci_n.htm

26. http://www.grupoprevenir.es/fichas-seguridad-sustancias-quimicas/0825.htm

27. Wong, D. 1995. Química de los Alimentos: Mecanismos y Teoría. Ed. Acribia, S. A. España. 476 p.

28. Badui, S. 1999. Química de los Alimentos. Longman de México Editores. México. 648 p.

29. International Union of Pure and Applied Chemistry IUPAC Goldbook. Interdivisional Commitée on Nomenclature and Symbols. Consultado el 1 de octubre de 2009.

30. **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.

31. **Castañeda B. 2008,** Realizaron un Estudio fitoquímico y farmacológico de 4 Plantas con efecto hipoglicemiante en el cual se encontraba "yacon", **pasuchaca**, cuti-cuti y albahaca". Horizonte Médico, 2004, vol 4 (1): 9-22. ISSN 1727-558X. www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/**2008**_I/Art1_Vol8_N1.pdf

32. Mariko K. Inhibitory effect of pasuchaca (Geranium dielsiaum) extract on α-glucosidase in mouse. BiosciBiotechnol 2006; 70(6): 1482-1484.

33. V congreso mundial de medicina tradicional 22-24 de Abril, 2005. Organizado por: Centro de Investigacion de medicina Tradicional. LIMA-PERÚ.

34. V congreso mundial de medicina tradicional 22-24 de Abril, 2005. Organizado por: Centro de Investigacion de medicina Tradicional. LIMA-PERÚ.

35. Castro A, Choquesillo F, Bell C, Palomino R, Ramos N, Felix L y col. Investigación de metabolitos secundarios en plantas medicinales con efecto hipoglucemiante y

determinación del cromo como factor de tolerancia a la glucosa.Revista de Ciencia e Investigación de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Mayor de San Marcos de Lima. 2002; 5 (1); 23-29

36. Lara R. Determinación del efecto hipoglucemiante y DL50 delextracto acuoso de hojas y flores de Geranium sessiliflorum Cav. "Pasuchaca" en animales de experimentación (Tesis de Título), Huancayo – Perú: Universidad Peruana Los Andes. 2000. 97 pp

37. TALLA O, VILLEGAS L, FERNANDEZ I. (2000). Efecto hipoglicemiante del extracto de Geranium ayavacense en ratas tratada con streptozotocin. Primer congreso internacional FITO 2000. Instituto de Fitoterapia Americano.Lima- peru;p:149

38. Chávez M, Espinoza Y. Actividad biológica de Geranium lechleriKnuth (pasuchaca) sobre la glucemia en animales de experimentación (Tesis de Título), Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 1998. 79 pp.

39. Valdivia F, Hidalgo M. Uso de medicina tradicional en diabetes mellitus noinsulino-dependiente. Revista de Análisis de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima 1996; 3 (3); 180-185.

40. Peralta G, Amaro E. Comercialización de plantas medicinales del Cuzco (Tesis de Título), Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor deSan Marcos. 1990. 102 pp.

41. Acosta M. Vademecum de plantas medicinales del Ecuador. 2 ed. Quito: Abya-yala. Fundación de estudios sociales en Quito. 1999. p 37-42.

42. Orellana P. El libro verde, guía de recursos terapéuticos y vegetales.3 ed. Lima: MINSA IMMETRA, 1992. p 189.

43. Silva H, García J. La medicina tradicional de Loreto-Iquitos-Perú (Tesis de Título), Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.1997. 182 pp.

44. Capcha R, Villena D. Determinación del efecto hipoglucemiante del fruto MomordicacharantiaL. "Balsamina" (Tesis de Título), Lima – Perú: Universidad NacionalMayor de San Marcos. 1997. 91 pp.

45. SIFUENTES DA, VILLANUEVA AM. (1989). Efecto hipoglicemiante de los estractos acuoso y crudo de las raíces del Geranium ayavacense "pasuchaca" en Oryctolagus cunniculus. "conejos" con pruebas de tolerancia a la glucosa. Tesis Bach. Farmacia Universidad Nacional de Trujillo- Perú.

46. 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/suplement_1

47. Villavicencio Núñez, Marino. 1995.Mecanismos moleculares y bioquímicos de la acción de la insulina. La diabetes mellitus y los avances en su tratamiento. Editorial Buenaventura. Perú.

48. Davis S. y Granner D. 2003. Insulina, hipoglicemiantes orales y propiedades farmacológicas del páncreas endocrino. En: Goodman&Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10º edición. México: Mc Graw Hill Interamerica. p. 1697 – 1733.

49. Rodriguez LG. 2003. Insulinoterapia. Rev. Med. Herd.; 14(3):140-144.

50. Salido E., Hernández D., Torres A. 2001. Avances moleculares y terapéuticos en la diabetes: perspectiva de futuro. La Laguna, Tenerife. Hospital Universitario de Canarias. Nefrología, Vol. XXI. Suplemento 3.

51. Le Marchand-Brustel Y. 1999. Molecular mecanismsofinsulin action in normal and insulin- resistant status. Exp. Clin. Endocrinol Diabetes 107, 126-32.

52. Diabetes Care. 1997. American Diabetes Association Report of the expert comite on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. 20:1183-97

53. Page CP, Curtis MJ, Walker MJA, Hoffman BB. Sutter MC. 1998. FarmacologíaIntegrada. Edición en Español. HarcourtBrace de España.; p:262-266.

54. Bustamante SE, Muñoz J, Gallardo R, Figueroa H, Morales M. 2002. El extracto de Vitisvinifera revierte la disfunción vascular aórtica inducida por diabetes en ratas. Sociedad asturiana de fitoterapia, III Congreso Internacional de Fitoterapia Técnicas afines, Ciudad de Oviedo, España.; p:93-98.

55. Mcphee, J., Ganong F., Lingappa R., Lange D. 2000. Trastornos del pancreas endocrino. En: Fisiopatología médica una introducción a la medicina clínica. 2da edición. México. Editorial El Manual Moderno S.A.p:491-522.

56. Minsal /OPS. 2004.Programa salud cardiovascular: Programa de actividad física en la prevención y control de factores de riesgo cardiovasculares.

57. Montane Lozoya J. 2011.diagnostico, síntomas y causas de la diabetes tipo 2. Disponible en: http://suite101.net/article/diabetes-tipo-1-diagnostico-sintomas-causas-dieta-tratamiento-a42998

58. Diabetes mellitus tipo 22012. Disponible en: http://www.cun.es/area-salud/enfermedades/endocrinologicas/diabetes-mellitus-tipo-2.

59. Tratamiento de diabetes mellitus tipo 22011. Disponible en: http://www.slideshare.net/underwear69/219-diabetes-mellitus-tipo-ii-tratamiento. Publicado desde: 15 de junio de 20011.

60. Who Study Group Diabetes Mellitus: (2002).Diabetes Mellitus World Health Organization. Geneva FactSheet n 138.

61. 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

62. Glibenclamida2009. Disponible en: http://www.medizzine.com/pacientes/medicamentos/G/glibenclamida.php.

63. Glibenclamida componentes. Argentina 2008. Disponible en:http://www.labspuntanos.com.ar/index.php/component/content/article/124-jhg.html

64. Costa Rica2008. Disponible en: http://diagnopharm.com/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=38.

65. Flores J., Freijanes J. Insulina e hipoglicemiantes orales. Glucagón. En: Flores J. Farmacologia Humana. 3 Ed. Barcelona: editorial Masson, 1996.

66. Goldner, M.G. and Gomor, G. Studies on the mechanism of alloxan diabetes. Endocrinoly. 35:245-248-2000

67. 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

68. Berglund, O.; Frankel, B.J.; Hellman, B. Development of insulin secretory defect in the geneticaly diabetic (db/db) mouse. ActaEndocrinológica 1978.

69. Ferranni, E.; Vichi, S.; Beck, H. Insulin action and age. Diabetes 1996.

70. Schumenam de Aluja Alnin. Derechos de los animales. Gaceta Médica de Méjico Nº 131 (1) PAG. 49-63. Jan-Feb. 1995.

71. Berglund, O.; Frankel, B.J.; Hellman, B. Development of insulin secretory defect in the geneticaly diabetic (db/db) mouse. ActaEndocrinológica 1978.

72. Ferranni, E.; Vichi, S.; Beck, H. Insulin action and age. Diabetes 1996.

73. 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.

74. Betancourt J. Cuestiones éticas en la experimentación animal. DOC. IMET – EsSALUD – Cuba. 1999, Iquitos – Perú.

75. Betancourt J. Cuestiones éticas en la experimentación animal. DOC. IMET – EsSALUD – Cuba. 1999, Iquitos – Perú.

76. 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

77. Cuesta Brey L., Sánchez Rodríguez K. Aspectos éticos de la experimentación con animales. 2007. Bioética. Disponible en: http://cbioetica.net/revista/72/722527.pdf

78. Gokora IH. Ethics and animal use in biomedical research. Adv. Exp. Med. Biol. 2004; 553:359-71. PMID: 15503469.

. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **Control:** Caso, grupo o individuo seleccionado para usarlo como referencia en un estudio por sus características específicas, como edad, sexo, raza, estatus económico, etc. Término relacionado: patrón, estándar.
- **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.
- **Actividad:** 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.

A N E X O S.

A N E X O N ° 0 1

C E R T I F I C A D O S A N I T A R I O D E L O S A N I M A L E S D E E X P E R I M E N T A C I O N .

16/05/13

Rosario S. Mego Bardales
BIÓLOGO
CBP. 6908

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

CERTIFICADO SANITARIO N° 101- 2013

Producto	: Rata albina	Lote N°	: R - 05 - 2013
Especie	: *Rattus norvegicus*	Cantidad	: 250
Cepa	: Holtzman	Edad	: 2 a 2 meses ½
Peso	: 160 a 240 gr.	Sexo	: Machos (150) Hembras(100)
R.U.C.	: 20131257750 GR. 004-27599	Destino	: SEGURO SOCIAL DE SALUD ESSALUD - IQUITOS
Fecha	: 15. 05 2013		

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, 15 de Mayo del 2013

(Fecha de emisión del certificado)

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

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

UNAP

Herbarium Amazonense - AMAZ

Centro de Investigación de Recursos Naturales

CONSTANCIA Nº 15

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:

Nº de Herbarium	Nombre común	Nombre Científico	Familia
41033	"pasuchaca"	*Geranium ayavacense* Willd. ex Kunth	GERANIACEAE
34119	"Tahuari"	*Tabebuia obscura* (Bureau & Schumann) Sandiwth	BIGNONACEAE

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

Iquitos, 28 de Mayo del 2013

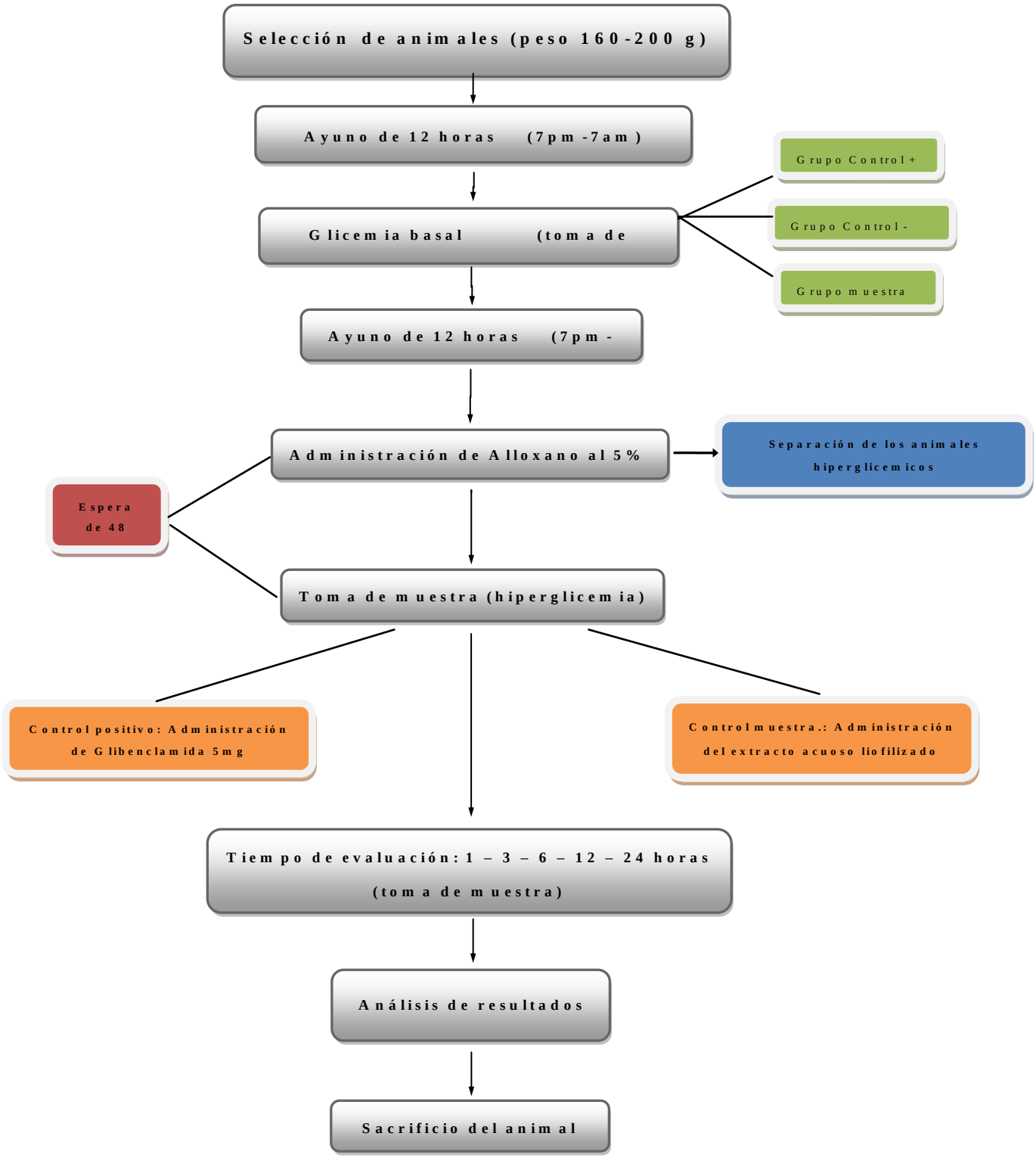
Atentamente,

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

Dirección: Pevas/Nanay - Iquitos, Perú Centro de Investigación de Recursos Naturales

ANEXO N° 03

ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA PARA ENSAYO DE HIPOGLICEMIANTES



ANEXO Nº 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 : _____

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

Fecha : _____

ANEXO Nº 05

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

- ✓ Metodología Glucosa Oxidasa

A. 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 la4-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 37º C, luego leer en espectrofotómetro a 505nm de longitud de onda, llevando el aparato a cero con el blanco.

- ✓ **Cálculo de los resultados**

$$\textbf{Glucosa (mg/dL).} = \frac{\textbf{Absx1000}}{\textbf{St}}$$

ANEXO 06

Tabla De Dosificacion

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 Nº 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%):**

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

VS : volumen del solvente

PP : peso promedio de los animales

FV : factor de volumen

NI : número de individuos

- **Cantidad requerida del extracto liofilizado:**

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

ExL : extracto liofilizado

[ ]g : concentración

VS : volumen del solvente

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

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

VI : volumen administrado

W : peso del animal

D : Dosis

[ ] : Concentración del Extracto

A N E X O N ° 0 8

F O T O S N ° 0 1: ***G e r a n i u m a y a v a c e n s e*** **. IM E T - E S S A L U D**

F O T O S N 0 2. P R O C E S O D E L I O F I L I Z A C I O N ***G e r a n i u m a y a v a c e n s e***

FOTOS N° 03. MUESTRA LIOFILIZADA DE ***Geranium ayavacense***

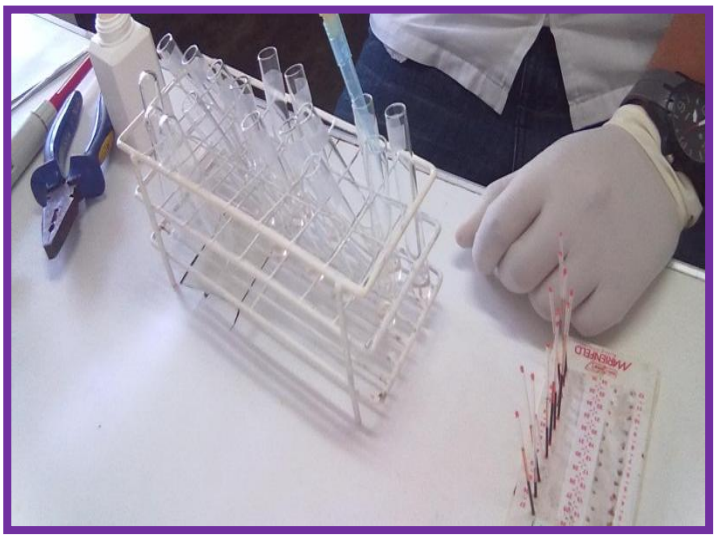
FOTOS N° 04. MARCADO Y PESADO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACION.

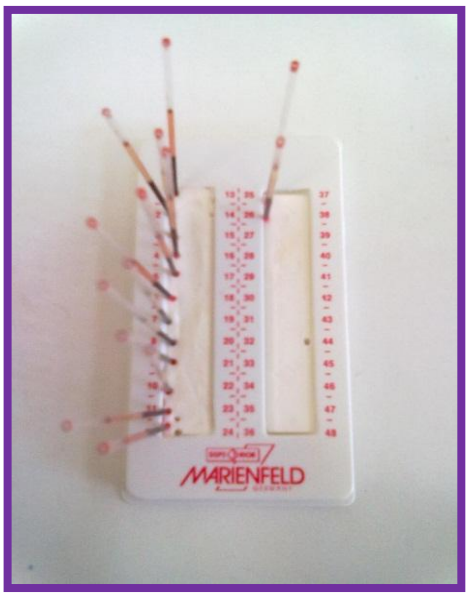
FOTOS N° 05. TOMA DE MUESTRA SANGUINEA DE LA VENA CAUDAL

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.

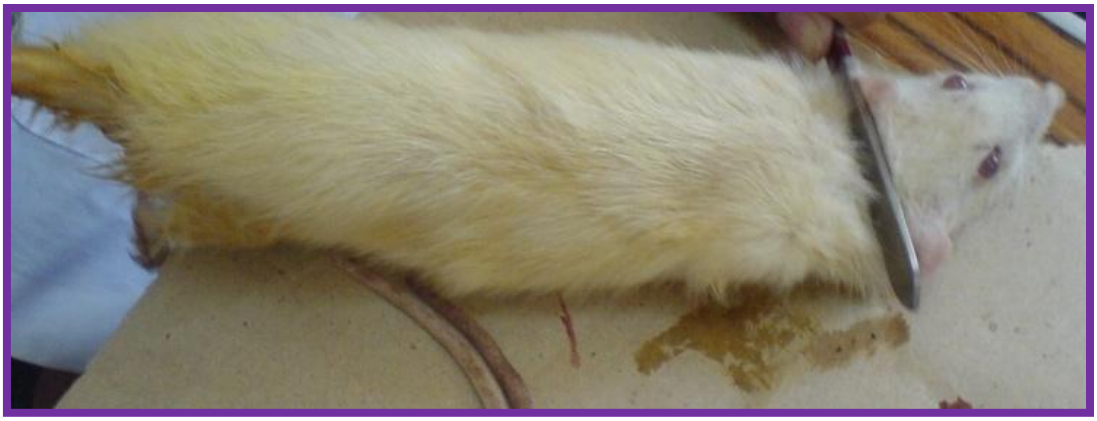


FOTO N° 12. EQUIPO DE TRABAJO