

# UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

## FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

### PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



### “ ESTUDIO DEL EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” EN RATAS WISTAR. AREQUIPA - 2010”

Tesis presentada por la Bachiller:

Caro Palomino, Nefdy Miriam

Para optar el Título Profesional de:

Químico Farmacéutico

Asesor:

José Antonio Villanueva Salas Ph.D.

AREQUIPA – PERÚ

2012

## AGRADECIMIENTO

*Desde mi corazón a mis padres, a los dos pilares de mi vida, que significan amor, perseverancia, confianza y unión; que hicieron realidad culminar uno de mis grandes anhelos.*

*A mi asesor Dr. José Villanueva Salas, por brindarme su apoyo incondicional durante la realización del trabajo de investigación.*

## ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	
SUMMARY	
INTRODUCCIÓN	
HIPÓTESIS	
OBJETIVOS	
<b>CAPÍTULO I</b>	
<b>MARCO TEÓRICO</b>	
1. GENERALIDADES DE LA ESPECIE EN ESTUDIO	9
1.1. <i>Otholobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén”	
2. DIABETES MELLITUS	14
2.1. Definición	
2.2. Clasificación de la Diabetes	
2.2.1. Diabetes Mellitus Tipo 1	15
2.2.2. Diabetes Mellitus Tipo 2	
2.2.3. Diabetes Gestacional	16
2.2.4. Otros tipos específicos de Diabetes	
2.3. Síntomas de la Diabetes	17
2.4. Diagnóstico para la Diabetes	18

	Pág.
2.5. Factores de Riesgo	20
2.6. Complicaciones de la Diabetes	21
2.6.1. Complicaciones Agudas	
2.6.2. Complicaciones Crónicas	23
3. PÁNCREAS ENDOCRINO	25
3.1. Histología del Páncreas	
3.2. Insulina	27
3.3. Glucagón	31
3.4. Somatostatina	32
4. DIABETES EXPERIMENTAL	
4.1. Estreptozotocina	
5. TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES	34
5.1. Dieta	
5.2. Ejercicio Físico	
6. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES	35
6.1. Sulfonilureas	
6.2. Tiazolidindionas	37
6.3. Biguaninas	
6.4. Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas	38
6.5. Insulinoterapia	39



## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

2. MATERIALES	41
2.1. Materiales de Estudio	
2.1.1. Materia Vegetal	
2.1.2. Material Biológico	
2.2. Ambientes de Trabajo	42
2.3. Equipos y Materiales de Laboratorio	
3. MÉTODOS	44
3.1. Preparación de la Planta	
3.1.1. Selección de la Materia Prima	
3.1.2. Preparación de <i>Othobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén”	
3.2. Método de Obtención del Extracto de <i>Othobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén” con solventes: metanol, acetato de etilo y hexano	45
3.3. Rendimiento de los Extractos	49
3.4. Análisis Fitoquímico	50

	Pág.
3.4.1. Identificación por Cromatografía en Capa Fina	
3.4.2. Identificación de Saponinas	55
3.5. Métodos Biológicos	
3.5.1. Etapas de Ambientación y Alimentación de los Animales	
3.5.2. Grupos formados para la Investigación	56
3.5.3. Producción Experimental de Diabetes por Estreptozotocina	58
3.5.4. Obtención de la Muestra Sanguínea	
3.5.5. Medición de la Glicemia	59
3.6. Análisis Estadístico	60
3.6.1. Pruebas de Significancia Estadística	
3.6.1.1. Análisis de Varianza (ANOVA)	
3.6.1.2. Prueba Tukey	
<b>CAPÍTULO III</b>	
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	
3. Rendimiento de los Extractos	61
4. Análisis Fitoquímico	62
4.1. Identificación de los metabolitos por Cromatografía en Capa Fina	

	Pág.
4.2. Identificación de Saponinas	66
5. Estudio Experimental	
6. Análisis Estadístico de los grupos experimentales	70
CONCLUSIONES	86
RECOMENDACIONES	87
BIBLIOGRAFÍA	88
ANEXOS	94





## RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el efecto hipoglicemiante del extracto de hojas de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, en diabetes experimental inducida por estreptozotocina en ratas, el cual se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María los meses de Julio-Diciembre del 2010.

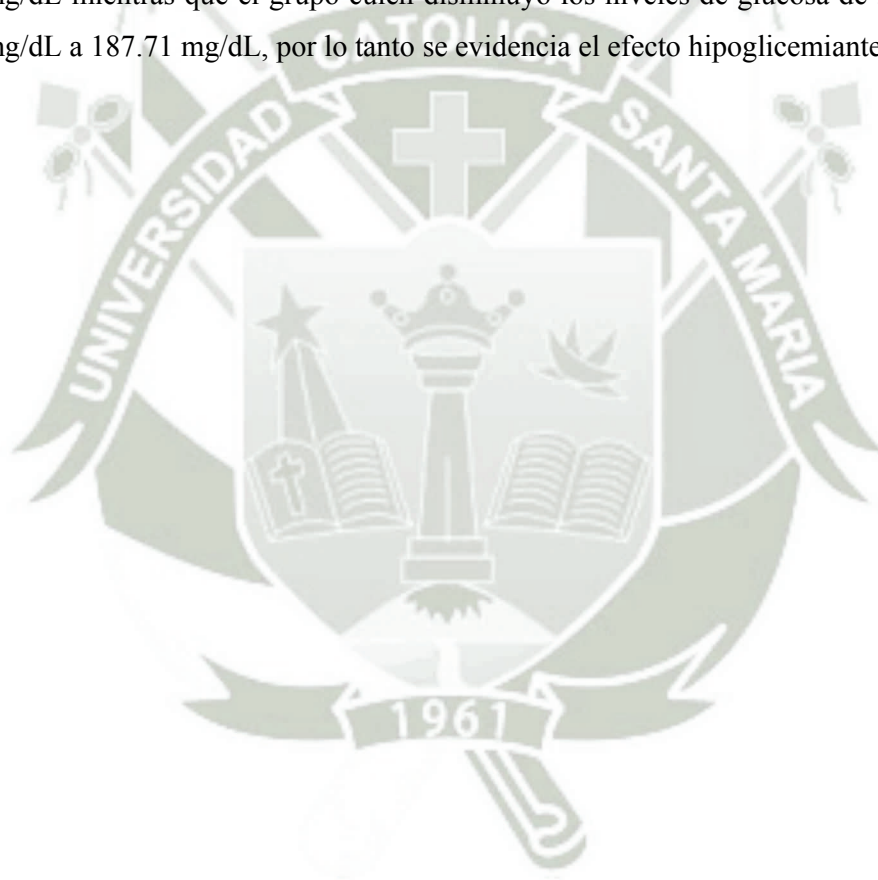
Previamente se efectuó un análisis de los metabolitos de los extractos de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” en el cual se evidenció la presencia de flavonoides, taninos, glicósidos antraquinónicos y saponinas. También se determinó mediante una prueba piloto conformado por 14 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) el extracto con mayor efecto hipoglicemiante con los diferentes solventes: metanol, acetato de etilo y hexano; donde se obtiene que el extracto metanólico da mejores resultados, a partir de ello se procedió a la administración de los tratamientos, en cada grupo de experimentación, midiendo el nivel de la glucosa basal.

La investigación se realizó empleando 28 ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) de sexo masculino, de 3 meses de edad, con un peso promedio de 250-300 gramos, aparentemente sanos, los cuales fueron distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos: **Grupo control**, los cuales recibieron estreptozotocina para producir diabetes experimental y un placebo (agua destilada) en lugar del tratamiento con culén.; **Grupo preventivo**, los cuales recibieron tratamiento con una dosis de 7.0 mg/Kg de peso del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” durante 30 días previos antes de la administración de estreptozotocina y después; **Grupo culén**, los cuales recibieron tratamiento con una dosis de 7.0 mg/Kg de peso del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”; **Grupo metformina**, los cuales recibieron un tratamiento con metformina a una dosis de 850 mg.



Una vez obtenidos los datos se realizó el análisis estadístico mediante las pruebas estadísticas de ANOVA y la prueba específica de Tukey y el procesamiento de datos se realizó mediante el software estadístico Statgraphics.

Los resultados mostraron que el extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” presenta un efecto hipoglicemiante estadísticamente significativo sobre la diabetes experimental inducida por estreptozotocina ( $p < 0.05$ ). También se determinó que el mejor resultado se obtuvo en el grupo preventivo que aún administrando estreptozotocina aumentó la glucosa de 80.14 mg/dL a 261.14 mg/dL y continuando con el tratamiento llegó hasta 147.86 mg/dL mientras que el grupo culén disminuyó los niveles de glucosa de 381.14 mg/dL a 187.71 mg/dL, por lo tanto se evidencia el efecto hipoglicemiante.



## SUMMARY

In the present research was evaluated the hypoglycemic effect of leaf extract *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, in experimental diabetic induced by Streptozotocin in rats, which was carried out in the Pharmacognosy laboratory and in the biotery from the Catholic University of Santa Maria between the months of July to December 2010.

Previously was carried out an analysis of metabolites from the extracts of *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, in which was showed the presence of flavonoids, tannins, anthraquinone glycosides and saponins. It was also determined through a pilot test with 14 Wistar rats (*Rattus norvegicus*) extract more hypoglycemic effect with different solvents: methanol, ethyl acetate and hexane, where the methanol extract obtained better results, since it proceeded to the administration of the treatments in each group experiment by measuring the basal glucose level.

The research was carried out using 28 Wistar rats (*Rattus norvegicus*), males of 3 months old, with an average weight of 250-300 grams, apparently healthy, who were randomized into four groups: **control group**, who received streptozotocin to produce experimental diabetic and a placebo (distilled water) instead of treatment with culen; **preventive group**, which were treated with a dose of 7.0 mg/Kg of weight of methanolic extract of *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” for 30 days before and after the administration of streptozotocin; **culen group**, which were treated with a dose of 7.0 mg/Kg of weight of methanolic extract of *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”; **metformin group**, which were treated with metformin a dose of 850 mg.

Once collected, the data analysis was carried out using the statistical tests ANOVA and Tukey test specifies, and the data processing was performed by Statgraphics software.

The results showed that the methanolic extract of *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” have statistically significant hypoglycemic effect on experimental diabetes induced by streptozotocin ( $p < 0.05$ ). Also according with the study was determined that the best result was obtained by the preventive group that even administering streptozotocin increased glucose 80.14 mg/dL to 261.14 mg/dL and continuing treatment reached 147.86 mg/dL while the culen group decreased levels of glucose 381.14 mg/dL to 187.71 mg/dL, therefore evidence hypoglycemic effect.





## INTRODUCCIÓN

Las plantas han sido desde la antigüedad un recurso al alcance del ser humano para su alimentación y la curación de sus enfermedades, estas últimas llamadas plantas medicinales, eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido, transmitiéndose de generación en generación; nadie buscaba el saber porqué o cómo actuaban, pero era un hecho incontestable y que parecía mágico.<sup>24</sup>

Aún en la actualidad cientos de plantas son utilizadas en la medicina tradicional, pero la ciencia moderna, analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas, quiere precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades, para agrupar a las plantas de efectos similares, para conocer los principios activos responsables de aliviar o curar las enfermedades.<sup>24</sup>

El “culén”, *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes es una planta curativa conocida como tal desde hace años. En los pueblos tiene fama de ser cicatrizante, hipoglicemiante, laxante, antiinflamatorio, antiinfeccioso y antioxidante;<sup>1,7</sup> actualmente esta planta se expende comercialmente en forma empírica, en establecimientos informales, por lo que considero conveniente evaluarla experimentalmente.

La diabetes mellitus es la enfermedad metabólica con mayor prevalencia en el mundo y se ha convertido en el problema de salud pública más importante en los últimos años, constituyendo un motivo de preocupación en investigadores y especialistas.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) estimó que para el año 2030 la población de diabéticos en el mundo ascendería a 370 millones de personas. En el Perú la diabetes afecta a casi 2 millones de personas y es una de las principales causas de mortalidad, cifra alarmante de una enfermedad cuyas complicaciones crónicas son en parte consecuencia de los hábitos poco saludables de nuestra población como: abusar de los alimentos ricos en grasa y



azúcares, consumir alimentos chatarra, consumir bebidas alcohólicas, no tomar agua y beber líquidos con azúcar y gas.<sup>53</sup>

Considerando todo lo anterior, motivo a la realización del trabajo de investigación el cual tuvo el propósito de investigar la propiedad hipoglicemiante que se le confiere a *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” al contribuir a mejorar la calidad de vida de las personas.



## HIPÓTESIS

Dado que la medicina tradicional le atribuye a *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” propiedades benéficas en la diabetes, es **probable** que los extractos de esta planta tengan efecto hipoglicemiante sobre la diabetes inducida experimentalmente por estreptozotocina en ratas.

## OBJETIVOS

1. Realizar un análisis fitoquímico preliminar de los metabolitos secundarios de los extractos de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.
2. Obtener el extracto de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” con diferentes solventes y determinar aquel con mayor efecto hipoglicemiante.
3. Comprobar el efecto hipoglicemiante de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” frente al fármaco metformina.
4. Determinar si *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” tiene efecto preventivo y/o curativo y cuál de estos dos tratamientos tiene mejor efecto hipoglicemiante.

## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1. GENERALIDADES DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

##### 1.1. *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.

###### **Estudio Botánico.**

Arbusto erguido, ampliamente ramificado que alcanza entre 1.50 a 3.00 metros de altura; tallo aéreo, semileñoso; densamente pubescente de color blanquecino; hojas compuestas trifoliadas, aromáticas y presenta foliolos oblongo-lanceolados, de borde entero de 5 a 8 cm de longitud por 1.5 a 2.5 cm de ancho, pubescente con largos tricomas en el nervio de la cara inferior; flor presenta inflorescencia racimosa axilar alargada de 10 a 15 cm de longitud, pedúnculos densamente vellosos y las flores pequeñas de color lila azulada, de 10 a 12 mm de longitud, corola papilionada pentámera cigomorfa (forma de mariposa); fruto es seco y pequeño, oval, acuminado e indehiscente, legumbre que contiene una semilla.<sup>1</sup>

###### **Clasificación de la especie.**

Según el Sistema de Clasificación de Cronquist.

<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Orden</b>	Fabales
<b>Familia</b>	Fabaceae
<b>Genero</b>	<i>Otholobium</i>
<b>Especie</b>	<i>Otholobium pubescens</i> (Poiret) Grimes
<b>Nombre común</b>	Culén



**Nombres comunes.**

Culén, Huallhua, Colin macho, Huayllana, Albahaquilla, Hierba de mataduras.<sup>9</sup>

**Habitat.**

El *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes es una planta silvestre que crece en la región andina del Perú, Chile, Bolivia y Argentina; crece de preferencia en lugares húmedos de los valles y las quebradas de la precordillera.<sup>1</sup>

En el Perú esta planta se desarrolla entre los 2 000 a 4 000 m.s.n.m., en los departamentos de Ayacucho, Apurímac, Cusco, Puno, Junín, Cajamarca, Ica y Huancavelica.<sup>1</sup>



**Figura N° 01:** *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”

### **Composición Química.**

*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” contiene: taninos, gomas, resinas, furocumarinas, terpenoides, antraquinonas, saponinas, flavonoides.<sup>1</sup>

Dentro de la composición química cabe destacar: flavonoides, taninos, antraquinonas y saponinas.<sup>7</sup>

#### ➤ **Flavonoides**

Son pigmentos casi universales en los vegetales. Casi siempre hidrosolubles, son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas.<sup>21</sup>

Son compuestos fenolitos, que no pueden ser producidos por el organismo y lo protegen del daño producido por agentes oxidantes, en su estructura química poseen grupos hidroxilo fenolito y excelentes propiedades de quelación de hierro y otros metales de transición, lo que le confiere su gran capacidad antioxidante.<sup>21</sup>

Estimulan la secreción de las catecolaminas, consideradas como las hormonas antiinflamatorias. Asimismo se le atribuyen propiedades antioxidantes, antimicrobianas y anticancerosas.<sup>45</sup>

#### ➤ **Taninos**

Son compuestos polifenólicos, que cumplen con la función cicatrizante y hemostática, deteniendo el sangrado, al constreñir los vasos sanguíneos.<sup>21</sup>

Precipitan las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas, lo cual constituyen la acción astringente.<sup>21</sup>

➤ **Glicósidos antraquinónicos**

Las antraquinonas son quinonas tricíclicas derivadas del antraceno que a menudo contienen uno o más grupos hidroxilo:<sup>45</sup>

- Si poseen dos grupos OH en posiciones 1 y 2 tienen propiedades colorantes.
- Si se encuentran en las posiciones 1 y 8, el efecto es laxante.

Pueden utilizarse como laxantes o como purgantes según las dosis administradas. Generalmente se encuentran en forma heterosídica, es decir, unidas a azúcares como la glucosa o la ramnosa. Los derivados antraquinónicos pueden encontrarse en forma oxidada (antraquinona) o en forma reducida (generalmente se habla de antronas) y ser monómeros o dímeros (diantronas).<sup>45</sup>

Actúan inhibiendo la absorción de electrolitos y agua desde el lumen intestinal, de forma que al aumentar el contenido de líquido intestinal favorecen la actividad motora del intestino.<sup>45</sup>

➤ **Saponinas**

Son sustancias vegetales solubles y altamente detergentes que tienen propiedades antisépticas y antibióticas.<sup>21</sup>

También es un poderoso astringente que tiene la propiedad de limpiar en lo más profundo, llegando a las tres capas de la piel, ya que la desobstrucción de los poros y conductos glandulares hace que sus agentes activos penetren con mayor facilidad hasta la capa más profunda.<sup>21</sup>



### Usos y formas de administración.

Las informaciones recogidas del uso empírico y popular de esta especie, refieren su empleo como cicatrizante, hipoglicemiante, antidiarreico, laxante, antiinflamatorio, antiinfeccioso y antioxidante.<sup>1,7</sup>

Indicada tanto de manera tópica como de uso interno ajustando la dosis de acuerdo a la dolencia y zona afectada, así dentro de sus propiedades terapéuticas tenemos que están indicadas para los siguientes casos:

- **Cicatrizantes de las heridas;** aplicar las hojas machacadas cubriendo la herida, siendo cambiadas diariamente.<sup>19</sup>
- **Hipoglucemiante;** hacer hervir 10 g de hojas en un litro de agua y tomar de cuatro a seis vasos al día.<sup>19</sup>
- **Laxante;** utilizándose la planta entera tierna, hacer un cocimiento y tomar.<sup>19</sup>

## 2. DIABETES MELLITUS

### 2.1. Definición.

Las células metabolizan la glucosa para convertirla en una forma de energía útil; por ello el organismo necesita recibir glucosa (a través de los alimentos), absorberla (durante la digestión) para que circule en la sangre y se distribuya por todo el cuerpo, y que finalmente, de la sangre entre al interior de las células para que pueda ser utilizada. Esto último sólo ocurre bajo los efectos de la insulina, una hormona secretada por el páncreas.<sup>49</sup>



En la Diabetes Mellitus el páncreas no produce o produce muy poca insulina (DM Tipo 1) o las células del cuerpo no responden normalmente a la insulina que se produce (DM Tipo 2). Esto evita o dificulta la entrada de glucosa en la célula, aumentando sus niveles en la sangre (hiperglucemia). La hiperglucemia crónica que se produce en la diabetes mellitus tiene un efecto tóxico que deteriora los diferentes órganos y sistemas y puede llevar al coma y la muerte.<sup>15</sup>

## 2.2. Clasificación de la Diabetes.

La Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), propuso una clasificación de acuerdo con las causales de la enfermedad.

- Diabetes Mellitus Tipo 1
- Diabetes Mellitus Tipo 2
- Diabetes Gestacional
- Otros tipos específicos de Diabetes <sup>51</sup>

### 2.2.1. Diabetes Mellitus Tipo 1.

También denominada Diabetes Mellitus Insulinodependiente (DMID), se debe a la deficiencia de la insulina causada por la destrucción autoinmunitaria de las células  $\beta$  en los islotes pancreáticos.<sup>51</sup>

Casi siempre aparece antes de los 40 años de edad, de ahí que se denomina Diabetes Juvenil. Los pacientes con esta enfermedad no son obesos y tienen alta incidencia de cetosis y acidosis. Se encuentran varios tipos de anticuerpos contra células  $\beta$  en el plasma, pero la teoría actual es que la diabetes mellitus tipo 1 es una enfermedad mediada por linfocitos T. También existe una

susceptibilidad genética definitiva, la principal anomalía genética está en el complejo mayor de histocompatibilidad en el cromosoma 6, lo cual hace mucho más proclives a desarrollar la enfermedad a individuos con ciertos tipos de antígenos de histocompatibilidad.<sup>15,51</sup>

### **2.2.2. Diabetes Mellitus Tipo 2.**

También denominada Diabetes Mellitus no Insulinodependiente (DMNID), se caracteriza por la resistencia a la insulina y alteración en la secreción de la misma. Es el tipo de diabetes más frecuente y casi siempre se relaciona con la obesidad, por lo general se desarrolla después de los 40 años de edad y no se acompaña de la pérdida total de la capacidad secretora de insulina. Su inicio es insidioso y pocas veces se acompaña de cetosis; generalmente se encuentran células  $\beta$  de morfología normal y el contenido de insulina en ellas no está agotado.<sup>15</sup>

### **2.2.3. Diabetes Gestacional.**

También llamada diabetes del embarazo aparece durante la gestación en un porcentaje de 1 % a 14 % de las pacientes, y casi siempre debuta entre las semanas 24 y 28 del embarazo. En ocasiones puede persistir después del parto y se asocia a incremento de trastornos en la madre (hipertensión o presión arterial elevada, infecciones vaginales y en vías urinarias, parto prematuro y cesárea) y daños graves al bebé (muerte fetal o macrosomía).<sup>49</sup>

El embarazo constituye un esfuerzo metabólico en el cuerpo de la madre, ya que el bebé utiliza sus órganos para obtener alimento (energía), oxígeno y eliminar sus desechos. Por esta razón, la mujer que se embaraza tiene mayor posibilidad de presentar una deficiencia de la hormona que permite que el azúcar o glucosa sea empleada por las células (insulina), haciendo que se presente este problema.<sup>49</sup>

#### 2.2.4. Otros tipos específicos de Diabetes.

- Defectos genéticos en la función de las células  $\beta$ .
- Defectos genéticos en la función de la insulina.
- Enfermedades del páncreas exocrino.
- Endocrinopatías.
- Fármacos u otras sustancias químicas.
- Infecciones.
- Formas raras de diabetes relacionadas con procesos autoinmunes.
- Otros síndromes genéticos.<sup>51</sup>

#### 2.3. Síntomas de la Diabetes.

Los síntomas de ambos tipos de diabetes son similares.

##### ➤ **Poliuria (eliminación excesiva de orina).**

Cuando los niveles de glucosa en sangre alcanzan un cierto nivel, los riñones filtran el exceso de glucosa para eliminarla de la sangre. Para poder eliminarla del cuerpo se produce más orina, lo que significa, que se mixione con mayor frecuencia.<sup>49</sup>



➤ **Polidipsia (sed excesiva).**

Al tener eliminación excesiva de orina se deshidrata, lo que provoca sed.<sup>49</sup>

➤ **Falta de energía.**

Puede que haya cansancio todo el tiempo, que sea difícil llevar a cabo las actividades diarias y que, incluso, siga habiendo cansancio aunque se descansa bien o duerma más de lo normal. Esto se debe a que toda o parte de la glucosa en sangre no puede entrar en las células corporales para así proporcionar energía.<sup>49</sup>

➤ **Pérdida de peso.**

Cuando el cuerpo no puede utilizar la glucosa, empieza a metabolizar sus reservas adiposas y musculares para obtener energía de otra fuente.<sup>49</sup>

La pérdida de peso es más común y rápida en la diabetes de tipo 1 que en la de tipo 2. En la de tipo 2, la pérdida de peso puede darse muy lentamente o darse en absoluto.<sup>49</sup>

➤ **Visión borrosa.**

Cuando los niveles de glucosa en sangre son altos, el cristalino absorbe glucosa y agua. Esto hace que se hinche, lo que provoca una visión borrosa.<sup>49</sup>

➤ **Aliento con olor afrutado.**

Se trata de un síntoma tardío de la diabetes tipo 1 y es un indicativo de un nivel peligrosamente alto de glucosa en sangre. Cuando el



cuerpo metaboliza su propia grasa para obtener energía, da lugar a unos subproductos tóxicos llamados cuerpos cetónicos. Si el aliento tiene un olor afrutado (se dice que el olor es similar al de las peras pasadas o al del quitaesmalte de uñas), se trata de un síntoma de que el cuerpo está intentando eliminar cuerpos cetónicos a través de los pulmones.<sup>49</sup>

➤ **Aftas y cistitis.**

La presencia de glucosa en la orina proporciona un buen entorno para las bacterias y los gérmenes crezcan en grandes cantidades, haciendo que resulten más probables las infecciones como la cistitis y aftas.<sup>49</sup>

#### **2.4. Diagnóstico para la diabetes.**

**Criterios de diagnóstico:**

El diagnóstico de Diabetes Mellitus se realiza en cualquiera de las siguientes situaciones:<sup>3</sup>

- a) Síntomas clásicos de diabetes y una glicemia en cualquier momento del día y sin relación con el tiempo transcurrido desde la última comida mayor o igual a 200 mg/dL.
- b) Glicemia en ayunas mayor o igual a 126 mg/dL. (Ayuno se define como un período sin ingesta calórica de por lo menos ocho horas).
- c) Glicemia mayor o igual a 200 mg/dL dos horas después de una carga de 75 g de glucosa durante una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO).

El diagnóstico de Diabetes Mellitus debe confirmarse con un segundo examen alterado en un día diferente.

#### **Estados de intolerancia a la glucosa o pre-diabetes:**

➤ **Glicemia en ayunas alterada:**

Glicemia en ayunas  $\geq 100$  mg/dL y  $< 126$  mg/dL, en 2 días diferentes.

➤ **Intolerancia a la glucosa oral:**

Glicemia a las 2 horas post carga de 75 gramos de glucosa  $\geq 140$  mg/dL y  $< 200$  mg/dL, en 2 días diferentes.

#### **Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO):**

Determinación de una glicemia en ayunas y otra a las 2 horas post carga de 75 g de glucosa. Los 75 g de glucosa se disuelven en 250 mL de agua fría, o 1,75 g de glucosa / Kg de peso en niños, hasta un máximo de 75 g.

#### **Condiciones para efectuar la prueba:**

- Alimentación previa sin restricciones y actividad física habitual, al menos 3 días previos al examen.
- Suspender drogas hiperglicemiantes (corticoides, tiazidas) 5 días antes de la prueba.
- Permanecer en reposo y sin fumar durante el examen.

- No se debe efectuar en sujetos con cuadro febril, infecciones o que cumplan los criterios diagnósticos de diabetes con glicemias en ayunas ( $\geq 126$  mg/dL).

#### **Criterios diagnósticos con Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral.**

- Glicemia 2 horas post carga  $< 140$  mg/dL: Tolerancia normal a la glucosa.
- Glicemia 2 horas post carga 140-199 mg/dL: Intolerancia a la glucosa.
- Glicemia 2 horas post carga  $\geq 200$  mg/dL: Diabetes Mellitus.<sup>3</sup>

#### **2.5. Factores de riesgo.**

Una persona tiene un mayor riesgo de padecer diabetes si tiene cualquiera de los siguientes factores:<sup>12</sup>

- Obesidad (peso 20 % mayor que el peso ideal; índice de masa corporal igual o mayor a 27 Kg/m<sup>2</sup>).
- Antecedentes familiares de diabetes en parientes en primer grado: padres, hijos.
- Antecedentes de diabetes gestacional, tolerancia alterada a la glucosa o gluцемia basal alterada.
- Mujeres con antecedentes de partos macrosómicos (mayor a 4,5 Kg).
- Hipertensión arterial.



- Dislipemia: HDL-Colesterol igual o mayor a 35 mg/dL ó un nivel de triglicéridos igual o mayor de 250 mg/dL.
- Presencia de posibles complicaciones asociadas a la Diabetes Mellitus: retinopatía, proteinuria, paresia o parálisis ocular, enfermedad cardiovascular, etc. Diagnostico previo de tolerancia anormal a la glucosa o de glucemia basal alterada.

Toda persona mayor de 45 años debe hacerse revisar el nivel de glucosa en la sangre al menos cada tres años. Los chequeos regulares de los niveles de glucosa sanguínea en forma aleatoria deben comenzar a una edad más temprana y realizarse más a menudo si la persona está en mayor riesgo de padecer diabetes.<sup>12</sup>

## 2.6. Complicaciones de la Diabetes.

### 2.6.1. Complicaciones agudas.

Son situaciones, reversibles y remediables generalmente, que pueden presentarse en cualquier momento de la evolución de la diabetes, incluso desde su comienzo.<sup>11</sup>

Las más importantes son hipoglucemia, cetoacidosis y coma hiperosmolar. Interfieren de forma transitoria en la correcta compensación metabólica del diabético, y hay que conocerlas, reconocerlas y tratarlas a tiempo y de forma adecuada para evitar riesgos mayores.<sup>11</sup>

- **Hipoglucemia:** Es la complicación más frecuente de la diabetes mellitus en personas tratadas con hipoglucemiantes orales y, sobre todo, con insulina. En general se acepta que ocurre con niveles inferiores de 50 mg/dL. Factores como la



edad, sexo, ayuno previo, nivel previo de glucemia o complicaciones como la neuropatía, van a matizar la sintomatología.

➤ **Hiperglucemia:** Es la elevación de la glucemia por encima de los niveles normales pre y postprandiales. Por:

1. Error en el tratamiento (hipoglucemiantes orales o insulina insuficientes, mal estado de la insulina, mala técnica de inyección, no esperar el tiempo suficiente antes de la ingesta).
2. Errores dietéticos (exceso de hidratos de carbono).
3. Ejercicio físico habitual no realizado.
4. Estrés físico (cirugía, infecciones, etc) o psíquico (tensión emocional).
5. Ingesta o administración de medicamentos hiperglucemiantes (corticoides, anticonceptivos orales, etc).
6. Fenómeno de Somogy o de rebote: (hiperglucemia, más frecuentemente matutina, pero puede ser a cualquier hora, causada por una hipoglucemia previa).

➤ **Cetoacidosis:** Es una situación cada vez menos frecuente que se da en la diabetes tipo 1, con hiperglucemia moderada o alta. Es necesario la combinación de déficit de insulina con aumento del glucagón mantenido durante días sin control. Consiste en hiperglucemia, hipercetonemia, acidosis metabólica y deshidratación.

- **Coma hiperosmolar:** Generalmente aparece en mayores de 50 años, con diabetes tipo 2. Es la complicación menos frecuente, pero la más grave, pues tiene una mayor mortalidad. Presenta deshidratación intensa, hiperglucemia extrema, hiperosmolaridad (alta concentración de solutos en sangre) y ausencia de cetoacidosis.

### 2.6.2. Complicaciones crónicas.

La diabetes es una enfermedad sistémica que afecta a todo el organismo.

Las complicaciones crónicas son consecuencias de la hiperglucemia mantenida de forma crónica aunque se desconoce los mecanismos exactos por los que se producen. Lo más importante y con mayor beneficio es controlar la glicemia y la tensión arterial.<sup>11</sup>

Se manejan varias teorías como causantes: hiperglucémica, la glicosilación proteica, la vía de los polioles, teoría genética, hormonal, hemodinámica, hematológica, lipídica.<sup>11</sup>

Se pueden resumir en las siguientes complicaciones:<sup>11</sup>

#### a) Microvasculares.

1. **Oculares:** El 100 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 1, y el 60 % con diabetes mellitus tipo 2, presenta patología ocular.

- Retinopatía diabética
- Catarata
- Glaucoma

**2. Renales:** La incidencia de enfermedad renal terminal es del 40 % estimándose que el 10 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2, desarrollan nefropatía diabética.

- Insuficiencia renal progresiva

**3. Sistema nervioso:**

- Central
- Periférico
- Polineuropatía
- Mononeuropatía
- Autónomo

**b) Macrovasculares.**

Principales causas de morbilidad y mortalidad entre las personas.

- Cardiopatía diabética.
- Enfermedad isquémica.
- Arteriosclerosis generalizada.
- Enfermedades cerebrovasculares.
- Pie diabético.
- Piel del diabético.



### 3. PANCREAS ENDOCRINO

El páncreas es un órgano glandular, de secreción tanto exócrina como endocrina, lobulada racemosa, órgano retroperitoneal situado posteroinferior al estómago entre la cavidad del duodeno y el hilio esplénico. Tiene forma cónica, con una longitud que oscila entre 15 y 20 cm, tiene una anchura de unos 3.4 y un grosor de 1.3 a 2.5 cm, con un peso inferior a 100 gramos.

Segrega insulina, glucagón, polipéptido pancreático y somatostatina para regular la cantidad de glucosa en sangre. <sup>28,38</sup>

#### 3.1. Histología del Páncreas.

El páncreas tiene una parte exocrina y una parte endocrina.

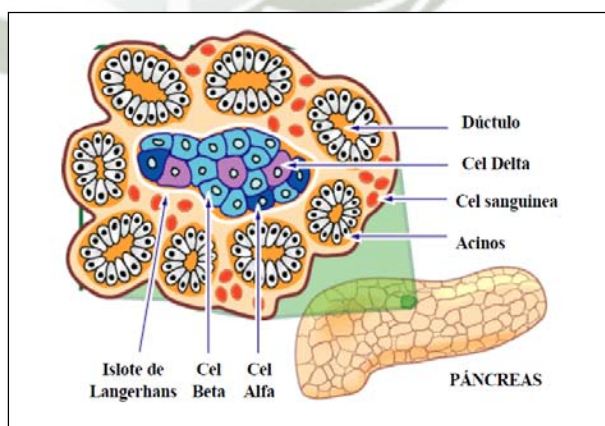
- La parte exocrina contiene unas glándulas llamadas *acinos serosos* que son redondos u ovalados con células epiteliales.
- La parte endocrina se agrupa en los llamados islotes de Langerhans. Los islotes son micro órganos compuestos por subunidades. <sup>28,38</sup>
  - a) **β**: Estas células representan el 80 % de las células totales en los islotes y fabrican insulina, hormona que permite el paso de la glucosa de la sangre al interior de la célula, estimula la formación de glucógeno en el hígado (glucogénesis) e impide la glucogenólisis. De igual modo actúa sobre los aminoácidos que ingresan en nuestro organismo: de una parte, facilitando su utilización por las células y, de otra, favoreciendo en el hígado su transformación en glucosa. Las células  $\beta$  predominan en el centro del islote.
  - b) **α**: Estas células representan el 20 % del total de las células en los islotes y predominan en su periferia. Secretan una hormona responsable del aumento de la glucemia, el



glucagón. La secreción de esta hormona es estimulada por la ingesta de proteínas, el ejercicio y la hipoglucemia, mientras que la ingesta de hidratos de carbono, la somatostatina y la hiperglucemia la inhiben. El glucagón aumenta la glucemia porque estimula la formación de glucosa en el hígado a partir del glucógeno hepático. Por esta razón se dice que el glucagón es una hormona antagónica a la insulina.

- c) **δ:** Estas células, que aparecen en muy poca proporción, son muy desconocidas y no se sabe cuál es su función pero se ha comprobado que contiene somatostatina, la cual inhibe la liberación de insulina y otras hormonas.
- d) **Polipéptido pancreático:** El polipéptido pancreático se localiza en la periferia de los islotes, junto a las células productoras de glucagón y somatostatina, pero también hay en el tracto gastrointestinal, en íleon, colon, sistema nervioso central y periférico. Es un péptido de 36 aminoácidos cuya secreción se ve estimulada por la ingestión de proteínas y por la activación vagal.

Su función más clara parece consistir en la inhibición de la secreción exocrina del páncreas. También inhibe la secreción biliar y los complejos motores migratorios intestinales.



**Figura N° 02:** Anatomía fisiológica del páncreas (cel: célula).

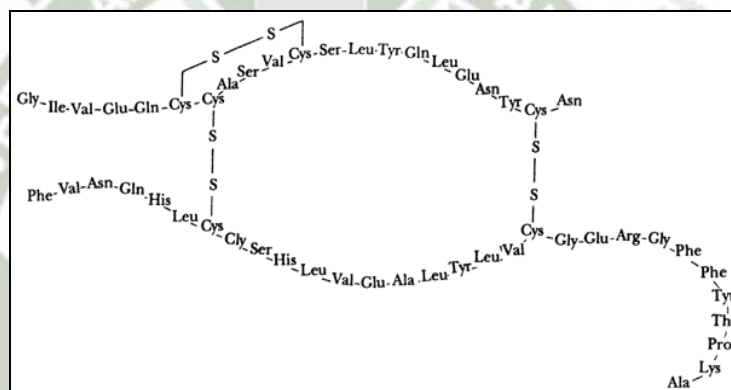
### 3.2. Insulina.

#### Estructura.

La insulina es un polipéptido que contiene dos cadenas de aminoácidos unidas con enlaces disulfuro.

La cadena A: contiene 21 aminoácidos.

La cadena B: contiene 30 aminoácidos.<sup>15</sup>



**Figura N° 03:** Estructura de la Insulina

#### Biosíntesis y secreción.

La insulina se sintetiza en el retículo endoplasmático rugoso de las células  $\beta$ . después se transporta al aparato de golgi, donde se almacena en gránulos unidos a membrana. Estos gránulos se mueven a la membrana plasmática por un proceso que implica a los microtúbulos, y su contenido se expulsa por exocitosis. Luego la insulina cruza las láminas basales de la célula  $\beta$  y el capilar vecino, para llegar a la corriente sanguínea.<sup>15</sup>

Al igual que otras hormonas polipeptídicas que entran al retículo endoplásmico, la insulina se sintetiza como parte de una preprohormona más grande. El gen para la insulina se localiza en el brazo corto del cromosoma 11 en humanos. Tiene dos intrones y tres exones.<sup>15</sup>

La **preproinsulina** tiene un péptido señal de 23 aminoácidos que se elimina cuando entra al retículo endoplásmico. Luego, el resto de la molécula se pliega y se forman los enlaces disulfuro para constituir la **proinsulina**. El segmento peptídico que conecta las cadenas A y B, el **péptido conector (péptido C)**, facilita el plegamiento y luego se desprende en los gránulos antes de la secreción. Dos proteasas participan en el procesamiento de la proinsulina; no tiene otra actividad fisiológica establecida. En condiciones normales, de 90 a 97 % del producto que liberan las células  $\beta$  es insulina, junto con cantidades equimolares de péptido C. El resto es proinsulina, en su mayor parte.<sup>15</sup>

#### **Mecanismo de acción.**

La insulina se une a su receptor de peso molecular cercano a 340 000, es un tetrámero formado por dos subunidades glucoproteicas  $\alpha$  y dos  $\beta$ . Toda éstas son sintetizadas con un solo ácido ribonucleico mensajero (mRNA) y posteriormente son separadas por acción proteolítica para unirse entre sí mediante enlaces disulfuro.<sup>15</sup>

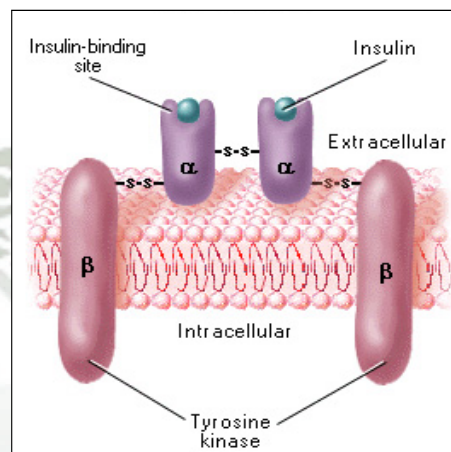
Las subunidades  $\alpha$  se unen a la insulina y son extracelulares, mientras que las subunidades  $\beta$  cruzan la membrana. Las porciones intracelulares de las subunidades  $\beta$  tienen actividad de cinasa de tirosina. Las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  se glucosilan, y los receptores glucosilados se extienden hacia el líquido intersticial.<sup>15</sup>

La unión de la insulina desencadena la actividad de la cinasa de tirosina de las subunidades  $\beta$ , lo cual produce autofosforilación de las subunidades  $\beta$  en los residuos de tirosina. La autofosforilación, que es necesaria para que la insulina ejerza sus efectos biológicos, inicia la

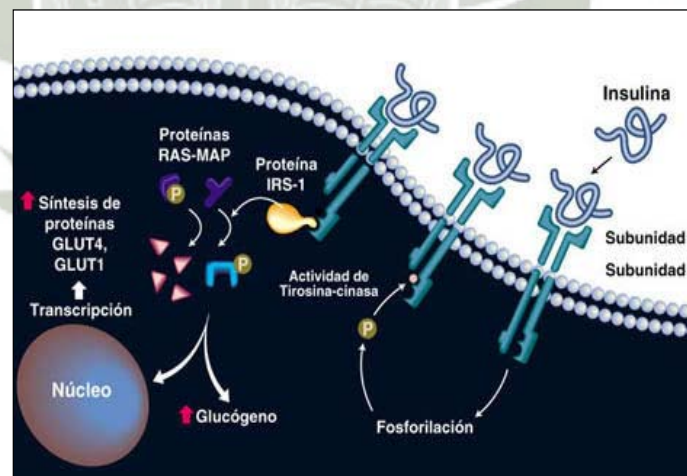


fosforilación de algunas proteínas citoplasmáticas y la desfosforilación de otras, principalmente en los residuos de serina y treonina.<sup>15</sup>

El efecto neto es activar algunas de estas enzimas en tanto otras se inactivan. Así, de este modo indirecto, la insulina gobierna la maquinaria metabólica intracelular para generar efectos deseados.<sup>15</sup>



**Figura N° 04:** Estructura de los Receptores de Insulina



**Figura N° 05:** Mecanismo de acción de la Insulina



### Efectos de la insulina.

#### ➤ Carbohidratos:

- Aumenta el transporte de glucosa.
- Aumenta la síntesis de glucógeno.
- Aumenta la glicólisis.
- Aumenta la gluconeogénesis.<sup>18</sup>

#### ➤ Grasas:

- Aumenta la actividad de la lipoproteinlipasa.
- Aumenta el almacenamiento de grasa en los adipocitos.
- Inhibe la lipólisis (lipasa sensible a la hormona).
- Aumenta la síntesis hepática de lipoproteínas.
- Inhibe la oxidación de ácidos grasos.<sup>18</sup>

#### ➤ Proteínas:

- Aumenta la síntesis de proteína.
- Aumenta el transporte de aminoácidos.<sup>18</sup>

### 3.3. Glucagón.

#### Estructura.

El glucagón es un polipéptido lineal con un peso molecular de 3 485 kDa formado por una cadena de 29 aminoácidos. Se produce en las células  $\alpha$  de los islotes pancreáticos y en la parte proximal del tubo digestivo.<sup>20</sup>

El preglucagón humano es un polipéptido de 179 aminoácidos que se encuentra en las células pancreáticas  $\alpha$ , en las células L de la parte distal del tubo digestivo y en el cerebro. Es el producto de un solo mRNA, pero se procesa de manera diferente en los diversos tejidos. En las células  $\alpha$  se procesa principalmente hasta producir glucagón.<sup>15</sup>

#### Efectos del glucagón.

- Aumenta la liberación de glucosa en sangre.
- Produce la glucogenolisis (desdoblamiento del glucógeno hepático).
- Incremento de la gluconeogénesis.<sup>18</sup>

#### 3.4. Somatostatina.

La somatostatina es un péptido de 14 aminoácidos producida por las células  $\delta$  del páncreas, en lugares denominados islotos de Langerhans. Interviene indirectamente en la regulación de la glucemia, e inhibe la secreción de insulina y glucagón.<sup>27</sup>

La secreción de la somatostatina está regulada por los altos niveles de glucosa, aminoácidos, de glucagón, de ácidos grasos libres y de diversas hormonas gastrointestinales. Su déficit o su exceso provocan indirectamente trastornos en el metabolismo de los carbohidratos.<sup>27,38</sup>

La somatostatina es también secretada por el hipotálamo y otras zonas del sistema nervioso central (región paraventricular anterior, capa externa de la eminencia media, órgano subcomisural, glándula pineal).<sup>27,38</sup>

## 4. DIABETES EXPERIMENTAL

### 4.1. Estreptozotocina.

#### Origen y química.

La estreptozotocina es un derivado N-nitroso de la glucosalina, producida por *Streptomyces achromogenes* químicamente es el N-(metil-nitrosocarbamoil)- $\alpha$ -D-glucosamina, su fórmula química es  $C_8H_{15}N_3O_7$  y su peso molecular es 265.22 g/mol.<sup>27</sup>

Se presenta como polvo cristalino de color marfil, soluble en agua, cloruro de sodio y alcohol.<sup>4,27</sup>

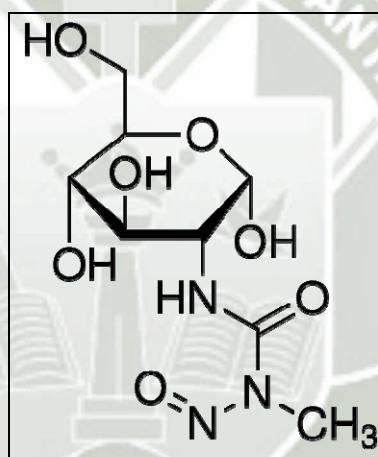


Figura N° 06: Estructura de la Estreptozotocina

#### Mecanismo de Acción.

La estreptozotocina genera radicales libres, como hidroxilo ( $OH\cdot$ ) y superóxido ( $O_2\cdot^-$ ), de la misma forma que estimula y genera peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ) causando la fragmentación del DNA en islotes



pancreáticos; daño que no alcanza a ser reparado por las células  $\beta$  llevándose así su destrucción.<sup>31</sup>

La duración y severidad del estado diabético está relacionada con la dosis de estreptozotocina. Dosis elevadas (75 mg/Kg) resulta en una inmediata destrucción de las células  $\beta$ , diabetes severa y más tarde la muerte por coma diabético.<sup>31,42</sup>

La estreptozotocina puede producir una diabetes gradual ya que posee un amplio margen de diabetogenicidad.<sup>42</sup>

La estreptozotocina se caracteriza por una disminución del número de islotes de Langerhans, asociado a una reducción de la concentración de insulina pancreática.<sup>31</sup>

## 5. TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES

### 5.1. Dieta.

La dieta constituye la base fundamental sobre la que se ajusta cualquier otra medida complementaria del tratamiento. Sin embargo, conseguir la adherencia del paciente al plan alimenticio constituye uno de los principales retos dentro del tratamiento de la diabetes, por lo que dicho plan debe establecerse de manera individualizada de acuerdo con el estilo de vida del paciente y los objetivos del tratamiento. Con la finalidad de mantener un mejor control metabólico.<sup>51</sup>

Aproximadamente, el 80 % de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 presentan sobre peso, teniendo en cuenta que aún la disminución moderada en el peso puede mejorar la glucemia, la presión arterial y el perfil lipídico del paciente.<sup>51</sup>



## 5.2. Ejercicio físico.

Al igual que ocurre con la dieta, la práctica de ejercicio físico adecuado constituye un aspecto fundamental del tratamiento de la diabetes mellitus. Entre las ventajas asociadas a su práctica regular cabe destacar, que: ayuda a conseguir un mejor control metabólico a largo plazo disminuyendo las concentraciones (basales y postprandiales) de insulina; aumenta la sensibilidad a la insulina; permite reducir el peso; reduce los factores de riesgo cardiovascular al mejorar el perfil lipídico y la presión arterial; aumenta la fuerza y flexibilidad y mejora la sensación de bienestar y la calidad de vida del paciente.<sup>20,51</sup>

Antes de entrar en este régimen el paciente debe ser evaluado y orientado por un profesional.<sup>20,51</sup>

## 6. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES

### 6.1. Sulfonilureas.

Se divide en tres generaciones de fármacos pero todos son arilsulfonilureas sustituidas. Difieren por sustitución en la posición para el anillo de benceno, y un residuo de nitrógeno de la mitad de urea.<sup>17</sup>

- Primera generación:
  - Clorpropamida
  - Tolbutamina
  
- Segunda generación:
  - Glibenclamida
  - Glipizida

- Glicazida

➤ Tercera generación:

- Glimепirida

La glibenclamida surgida de la segunda generación de sulfonilureas hipoglicemiantes es mucho más potente que los fármacos tempranos.<sup>17</sup>

#### **Mecanismo de acción.**

En general las sulfonilureas causan hipoglucemia al estimular la liberación de insulina a partir de las células  $\beta$  del páncreas. La administración aguda de las sulfonilureas aumenta la liberación de insulina del páncreas, disminuye la depuración a nivel de hígado, al inicio de la terapia hay un aumento de la concentración plasmática de insulina en ayuno, pero la administración crónica hace declinar la insulina circulante hasta cifras previas al tratamiento.<sup>17,51</sup>

Las sulfonilureas también estimulan la liberación de somatostatinas y puede disminuir un poco el glucagón.<sup>17</sup>

También se ha demostrado que las sulfonilureas suprimen la gluconeogénesis hepática, aumentan la lipogénesis disminuyendo los ácidos grasos.<sup>17</sup>

**Tolbutamina:** Es absorbida rápidamente por la vía intestinal, su vida media es de 4 a 10 horas, este fármaco es eliminado por metabolismo hepático en hidroxitolbutamina y carboxitolbutamina ambos secretados por la orina, tiene muy escaso efecto hipoglicémico, pueden producir intolerancia en el sistema gastrointestinal.<sup>27</sup>

**Clorpropamida:** Su absorción es del 100 %, su vida media es de 36 horas, se metaboliza y es excretado por la orina, produce retención de agua, reacciones gastrointestinales y dermatológicas, en algunos pacientes puede provocar una reacción tipo disulfiram por ingestión de alcohol.<sup>27</sup>

**Glibenclamida:** Ejerce su mejor acción en la hiperglucemia en ayunas, metabolismo dual a nivel hepático y renal, contraindicado en alteraciones hepáticas e insuficiencia renal, posee pocos efectos adversos en comparación al resto de las sulfonilureas; no producen retención de agua como la clorpropamida, causa rubefacción después de la ingesta de alcohol, el cual intensifica el efecto hipoglucemiante.<sup>27</sup>

**Glipizida:** Su vida media es de 4 horas, recomendada en ancianos (por su menor riesgo de hipoglucemia) e insuficiencia renal crónica (por tener metabolitos inactivos).<sup>40</sup>

## 6.2. Tiazolidindionas.

### Mecanismo de acción.

Actúa a nivel muscular y hepático disminuyendo la resistencia a la insulina y, en menor medida, disminuyendo la producción hepática de glucosa.<sup>51</sup>

El primero de estos fármacos que ha tenido aplicación clínica es la *troglitazona*. El inicio de acción de la troglitazona es muy lento. Se absorbe mal si se ingiere con el estómago vacío, por lo que debe administrarse en las comidas principales. El efecto de disminución de la resistencia periférica a la insulina es más potente que el de las biguanidas, y aparece a dosis menores que el de disminución de la producción hepática de glucosa. Los efectos secundarios de la



troglitazona son raros, habiéndose descrito aumento de peso y retención de líquidos.<sup>51</sup>

Está contraindicado en pacientes con elevación de enzimas hepáticas superior a tres veces el límite alto de la normalidad.<sup>51</sup>

### 6.3. Biguanidas.

Las biguanidas son un grupo farmacológico constituido por la metformina, fenformina y la buformina, siendo la metformina el fármaco más relevante del grupo.<sup>51</sup>

#### **Mecanismo de acción.**

La metformina ejerce varios efectos fisiológicos que contribuyen a su capacidad de disminuir la hiperglucemia.<sup>51</sup>

La metformina actúa fundamentalmente a dos niveles: en el músculo y en el hígado. En el músculo, aumenta la captación y utilización tisular de la glucosa, incrementando la sensibilidad a la insulina. En el hígado, disminuye la producción de glucosa al reducir principalmente la gluconeogénesis (de un 25 a un 40 %) y, en menor medida, reduciendo la glucogenólisis. La disminución de producción de glucosa por el hígado contribuye a la reducción de glucemia en ayunas.<sup>51</sup>

Por último, la metformina carece de efectos directos sobre la célula  $\beta$  pancreática y no influye en la secreción de la insulina directamente, sino a través de sus acciones sobre las cifras de glucosa.<sup>51</sup>

Los efectos secundarios más frecuentes se producen a nivel gastrointestinal, pudiendo ocasionar, sobre todo al inicio del tratamiento, diarrea, dolor abdominal, náuseas y vómitos y, con menor frecuencia, alteraciones del gusto o malabsorción de la vitamina B12. El principal

riesgo de las biguanidas es la posibilidad de que produzcan una acidosis láctica que puede llegar a ser mortal.<sup>41,51</sup>

Está contraindicado: insuficiencia renal, insuficiencia hepática, insuficiencia cardíaca, insuficiencia respiratoria, en aquellos con antecedentes de acidosis láctica y en gestantes.<sup>51</sup>

#### 6.4. Inhibidores de las $\alpha$ -glucosidasas.

##### **Mecanismo de acción.**

Los inhibidores de las  $\alpha$ -glucosidasas actúan inhibiendo las enzimas del borde en cepillo de la mucosa intestinal que hidrolizan los oligosacáridos a disacáridos y monosacáridos que posteriormente son absorbidos. El efecto es un retraso en la absorción de polisacáridos complejos, pero el área bajo la curva no se modifica. Esto se debe a que sistemas enzimáticos más distales se activan y contribuyen a la hidrólisis de los polisacáridos. Así, estos fármacos disminuyen la glucemia postprandial, siempre y cuando la dieta sea rica en hidratos de carbono complejos.<sup>51</sup>

Los principales efectos secundarios se producen a nivel gastrointestinal (dolor abdominal, meteorismo y diarrea), son dosis-dependientes, normalmente transitorios y pueden ser disminuidos en gran manera si se introducen de un modo gradual, empezando por una dosis pequeña que se va aumentando cada 2 a 4 semanas.<sup>51</sup>

La droga más importante de este grupo es la acarbosa, puede usarse como monoterapia o asociada a otras drogas hipoglicemiantes. Es de elección en el paciente obeso.<sup>51</sup>

Está contraindicada en embarazo, lactancia y enfermedades intestinales.

51

## 6.5. Insulinoterapia.

La insulinoterapia o terapia insulínica, se refiere al tratamiento de la diabetes por la administración de insulina exógena. La insulina es utilizada médicamente para el control del metabolismo de la glucosa circulante en el plasma sanguíneo como parte del tratamiento de algunas formas de diabetes mellitus. Los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 dependen de la insulina externa (fundamentalmente inyectada por vía subcutánea) para su supervivencia debido a que la hormona ya no se produce internamente.<sup>30</sup>

Por su parte, los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 son resistentes a la insulina o tienen relativamente baja producción de insulina, o ambos, de manera que la mayoría de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 no necesitan insulina, aunque se ha demostrado que un 30 % o más se benefician de la terapia con insulina para controlar la glucosa en la sangre, especialmente cuando otros medicamentos no son capaces de mantener adecuadamente los niveles de glucosa circulante. Estudios sugieren que la insulina es una alternativa segura, efectiva, bien tolerada y aceptada para el tratamiento a largo plazo de la diabetes tipo 2, incluso desde el primer día del diagnóstico.<sup>30</sup>



## CAPÍTULO II

### MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2. MATERIALES

##### 2.1. Materiales de Estudio.

###### 2.1.1. Material Vegetal.

Hojas de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, procedente del departamento de Puno (Yunguyo).

###### 2.1.2. Material Biológico.

###### Animales de Experimentación.

Para la ejecución del presente trabajo de experimentación se emplearon 42 ratas machos Wistar de la especie *Rattus norvegicus* las cuales tenían un peso entre 250-300 g de 3 meses de edad.

##### 2.2. Ambientes de Trabajo

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Farmacognosia y en el Bioterio de la Universidad Católica de Santa María los meses de Julio - Diciembre del 2010.

##### 2.3. Equipos y Materiales de Laboratorio

###### Material de Laboratorio.

- Probetas de 100 mL (PYREX)

- Probetas de 50 mL (PYREX)
- Fiola de 10 mL (PYREX)
- Morteros (FORTUNA)
- Tubos de ensayo (PIREX)
- Espátula

#### **Instrumentos y Equipos.**

- Glucómetro Accu-Check® Active (Roche)
- Equipo de extracción Soxhlet
- Equipo de Rotavapor
- Balanza Analítica.(Adams sensibilidad 0.1 mg - máx. 110 g)
- Balanza para pesar ratas (OHAUS)
- Cámara Fotográfica (SONY)
- Cocina eléctrica (THERMOLYNE)
- Lámpara de luz UV (VWR)

#### **Material Anexo.**

- Jeringas de 1 mL
- Alfileres, hilos y agujas
- Frascos
- Jaulas metálicas
- Guantes quirúrgicos
- Papel filtro

- Algodón
- Barbijos
- Lápiz marcador
- Capilares

**Reactivos.**

- Acetato de etilo Q.P. (MERCK)
- Ácido fórmico P.A.(JT BAKER)
- Ácido acético glacial Q.P.(MERCK)
- Ácido sulfúrico concentrado P.A.(MERCK)
- Agua destilada
- Alcohol 96°Q.P.(DELTA QUÍMICA)
- Cloroformo Q.P.(MERCK)
- Cloruro de aluminio Q.P.(JT BAKER)
- Cloruro férrico Q.P.(JT BAKER)
- Cloruro de sodio 0.9 % (TRIFARMA)
- Estreptozotocina (SIGMA)
- Hexano Q.P.(MERK)
- Metanol Q.P.(DELTA QUÍMICA)
- Parafina
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Benedict



### 3. MÉTODOS

#### 3.1. Preparación de la Planta

##### 3.1.1. Selección de Materia Prima.

Es preciso tener presente los factores que afectarán la muestra vegetal como el calor, la luz, humedad y microorganismos; factores que inciden en la degradación y oxidación, por ello es necesario tener cuidado en la obtención y almacenamiento.<sup>7</sup>

##### 3.1.2. Preparación de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.

A continuación se detalla todo el proceso de selección de culén.

Las hojas de culén fueron recolectadas en el departamento de Puno (Yunguyo) en éste lugar la planta tiene gran acogida en uso de la medicina tradicional, para la recolección se tuvo cuidado de escoger las hojas verdes, eliminándose hojas en mal estado, luego se procedió a cortar de la base de cada hoja de la planta, las cuales fueron recogidas en un recipiente limpio a fin de tener precaución y no contaminar las hojas, se recolecto 1.5 Kg de hojas de culén.

Enseguida se procedió a lavar las hojas cuidadosamente y se sumergió a estas en agua destilada a fin de eliminar sustancias extrañas.

Luego se procede a la desecación, para eliminar progresivamente la humedad ya que una planta húmeda es fácil presa de bacterias y hongos, que la atacan alterando sus principios activos. Además, estas bacterias u hongos pueden producir sustancias tóxicas. La

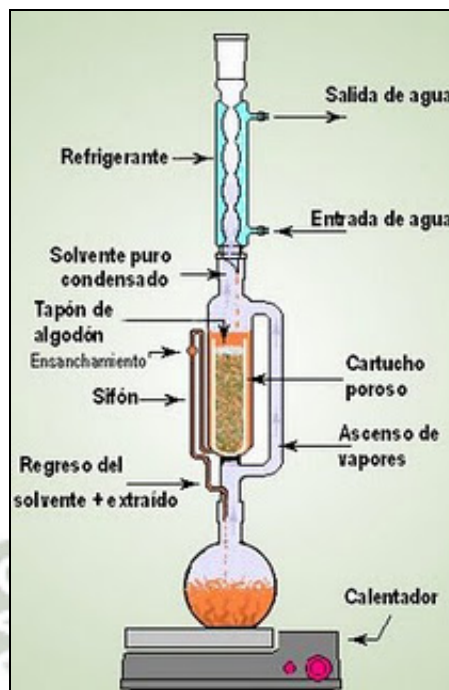
deseccación se realizó en un ambiente con sombra, aireado y exento de polvo, nunca debe hacerse al sol, pues se perderían muchos de los principios activos de la planta.<sup>7</sup>

Posteriormente se pulverizó en un mortero y luego fue almacenada en frascos de color ámbar muy bien selladas para evitar ser afectadas por la luz, y contaminantes, hasta ser utilizadas para la extracción.

### 3.2. Método de Obtención de los extractos de *Otholobium pubescens* (Poiret) “culén” con solventes: metanol, acetato de etilo y hexano.

- **Método:** Extracción con Equipo de Soxhlet.
- **Fundamento:**

La extracción repetida y exhaustiva de un sólido por un líquido caliente se realiza disponiendo aquel en el cartucho de un equipo soxhlet. El disolvente hierve con suavidad en el matraz, sus vapores ascienden por el tubo lateral, se condensan el refrigerante y el condensado gotea a través del sólido. La parte soluble pasa por gravedad al matraz, el proceso se repite automáticamente hasta que la extracción es completa.<sup>52</sup>



**Figura N° 07:** Extracción por Soxhlet

La extracción por Soxhlet es un sistema cerrado y permite el flujo del solvente en ciclos. Los equipos de Soxhlet constan de tres partes: un reservorio de solvente en la parte inferior, el cual es el balón, donde se coloca el solvente extractor y se somete a ebullición. La segunda parte es un soporte para el material vegetal el cual se coloca empaquetado en papel filtro. Finalmente se tiene un refrigerante o condensador el cual recibe los vapores del solvente que vienen desde el balón y los condensa para hacer gotear el solvente sobre el material vegetal. Cuando el soporte que mantiene el material vegetal se llena de solvente recién destilado, se activa espontáneamente un sifón que hace que el extracto formado pase al balón donde continua en ebullición. Cada llenada de solvente en el soporte de muestra es un ciclo, y pueden repetirse varios ciclos de extracción hasta el agotamiento de la muestra.<sup>36</sup>



➤ **Procedimiento:**

Se pesó 10 g de hojas pulverizadas de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” y se empaquetó en papel filtro. Se colocó el empaque en el cartucho Soxhlet, añadiendo paralelamente 150 mL del solvente en el balón. Se instala el equipo Soxhlet y se abre la llave del refrigerante. Se procedió al calentamiento, hasta agotamiento de la muestra, obteniéndose el extracto con el solvente utilizado, como se puede ver en la figura N° 08.



**Figura N° 08:** Extracción en Soxhlet para *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.

Para evaporar el solvente, posteriormente se llevó al equipo de rotavapor como se observa en la figura N° 09.



**Figura N° 09:** Equipo de Rotavapor

Luego se llevó a Baño María para su total sequedad del extracto, y así obtener el extracto seco, como se puede observar en la figura N° 10.



**Figura N° 10:** Extracto Seco de *Otholobium pubescens* (Poiret)  
Grimes “culén”

El extracto hexánico no es soluble en agua por su apolaridad, para facilitar la suspensión acuosa se utilizó polivinilpirrolidona (PVP) que es un polímero de naturaleza imídica, que tiene como

propiedades físicas su alta solubilidad en agua dando una solución tipo coloidal.

La muestra fue tratada de la siguiente manera:

Se peso 5 g de muestra y se disolvió en un volumen de 50 mL de alcohol, para luego agregar polivinilpirrolidona (PVP), la cual fue pesada en relación al peso de la muestra, es decir se colocó 7 veces el peso inicial de la muestra. Lo que significa que el recipiente que contenía los 5 g de muestra y los 50 mL de alcohol se añadieron 35 g de polivinilpirrolidona (PVP) la misma que se disolvió rápidamente.<sup>27</sup>

Una vez que se consiguió la solución homogénea se procedió a evaporar el disolvente, hasta la obtención de una masa que se pulverizó y se disolvió en agua.

Los extractos secos fueron colocados en frascos ambar y bien sellados.

### 3.3. Rendimiento de los Extractos

Para determinar el rendimiento de los extractos se cálculo de la siguiente manera.<sup>27</sup>

$$\% \text{ de Rendimiento} = \frac{\text{Peso del Extracto Seco}}{\text{Peso de la Muestra Seca}} \times 100$$



### 3.4. Análisis Fitoquímico

En esta etapa del trabajo permitirá identificar los metabolitos de interés a partir de la obtención de los extractos de *Otholobium pubescens* (Poiret) “culén”.

#### 3.4.1. Identificación por Cromatografía en Capa Fina.

La cromatografía puede definirse como una técnica que separa una mezcla de solutos basada en la velocidad de desplazamiento diferencial de los mismos que se establece al ser arrastrados por una fase móvil (líquida o gaseosa) a través de un lecho cromatográfico que contiene la fase estacionaria, la cual puede ser líquida o sólida. Las propiedades de los componentes de una mezcla determinan su movilidad entre sí y con respecto a la fase móvil. La base de la separación cromatográfica será por tanto, la diferencia en la migración de los mismos.<sup>29</sup>

➤ **Ventajas de la cromatografía:**

- Más rápida que la de papel, pues los solventes ascienden más rápido por la capa fina que en la de papel.
- Además posee la ventaja que tiene mayor poder resolutivo que la de papel, obteniéndose por lo general manchas más pequeñas.
- La cromatografía en capa fina, una vez localizada la sustancia, es más fácil eluirla para posteriormente trabajar con ella, en tanto que en la de papel, la elución de las sustancias se hace más difícil.

- Además usa menores cantidades de muestra, siendo más sensible que la cromatografía en papel.<sup>32</sup>
- La cromatografía en capa fina puede utilizar reveladores corrosivos, que sobre el papel destruirán el cromatograma.<sup>29</sup>

➤ **Adsorbentes.**

Al realizar la elección del adsorbente se debe tener en cuenta el tamaño de las partículas del adsorbente, cuanto más finamente dividido este mayor será su adhesión al soporte, aunque también se le puede añadir un adherente.<sup>29</sup>

➤ **Sílicagel.**

El gel de sílice o ácido silícico es uno de los más utilizados, es débilmente ácido, su pH oscila entre 4-5. Con lo cual no se deberá utilizar con sustancias que se corrompan con los ácidos. Generalmente lleva incorporado un agente aglomerante, yeso (sulfato cálcico semihidratado), para proporcionar firmeza al adsorbente.

También han sido incorporados dos indicadores del ultravioleta, juntos o por separado (amarillo y/o verde), en diversos tipos del gel de sílice.<sup>29</sup>

➤ **Factor de Referencia: R<sub>f</sub>**

Es un número que permite identificar sustancias considerando las distancias recorridas en un cromatograma y con un método cromatográfico dado. La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de las manchas, los

cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los  $R_f$  sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra).

El máximo valor de  $R_f$  que se puede alcanzar es de 1 mm, lo ideal es un  $R_f$  entre 0.65 y 0.7 mm.<sup>36</sup>

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

#### **Método cromatográfico.**

La muestra para análisis se aplica por medio de un tubo capilar en la superficie de una capa fina adsorbente en forma de banda, punto o mancha y es adsorbida en la superficie por la acción de las fuerzas electrostáticas.

La placa seca se coloca en una cuba cromatográfica o cámara, en el cual debe encontrarse saturado el eluyente (Fase móvil líquida). El eluyente ascenderá o desplazará por capilaridad en la placa y arrastrará los componentes, la separación se da por migración diferencial, es decir que la fase móvil arrastra a las sustancias apolares y aquellas más polares son retenidas por la fase estacionaria dando lugar a la separación. Posteriormente se evapora el eluyente y la placa se analiza por medio de métodos químicos en el que por inmersión o rociado se obtienen derivados coloreados o fluorescentes (Adición de Ninhidrina a aminas, Ácido sulfúrico para carbonizar compuestos orgánicos, etc.) o por



medio de métodos físicos ópticos utilizando radiación UV o luz visible.<sup>29</sup>

➤ **Sistemas de elección de eluyente**

La elección del eluyente dependerá del componente que se va a separar y del material en que la separación se lleve a cabo.

Principales eluyentes en orden creciente de polaridad:

- Éter de petróleo
- Éter dietílico
- Hexano
- Acetato de etilo
- Tetracloruro de carbono
- Benceno
- Etanol
- Cloroformo
- Metanol
- Diclorometano
- Agua
- Ácido acético

En la elección del eluyente influyen varios factores como el precio, la pureza, no utilizar mezclas de eluyentes

(reproducibilidad), no utilizar compuestos muy volátiles, evitar que contengan trazas de metales (catalizadores). La elección del eluyente se realiza en forma empírica. Hay que estudiar la polaridad del componente.<sup>29</sup>

➤ **Reactivos Reveladores Utilizados**

**a. Reactivo de Cloruro Férrico**

**Composición:**

Cloruro férrico ..... 1 g

Etanol c.s.p ..... 100 mL

**Procedimiento:** Pulverizar la placa con la solución recientemente preparada y dejar secar, después se somete la placa a 110 °C durante 10 minutos.

**Detección:**

Flavonoides, fenoles y taninos generando manchas azules, rojas, verdes y marrones.<sup>24</sup>

**b. Reactivo de Cloruro de Aluminio**

**Composición:**

Cloruro de Aluminio ..... 1 g

Etanol c.s.p ..... 100 mL

**Procedimiento:** Pulverizar la placa con la solución recientemente preparada y dejar secar después se pulveriza después con vapores de amoníaco para intensificar a los flavonoides.

**Detección:**

Flavonoides, generando manchas amarillas, purpuras.<sup>24</sup>

**c. Reactivo de ácido sulfúrico concentrado**

**Procedimiento:** Se sumergió la placa sembrada en una placa petric conteniendo el reactivo.<sup>24</sup>

**3.4.2. Identificación de Saponinas.**

➤ **Prueba de Espuma.**

Esta prueba se fundamenta en la disminución de la tensión superficial por acción de las saponinas.<sup>24</sup>

**Detección:**

La formación de espuma persistente por 30 minutos indica la presencia de saponinas.<sup>24</sup>

**3.5. Métodos Biológicos**

**3.5.1. Etapas de Ambientación y Alimentación de los animales.**

Los animales aparentemente sanos fueron sometidos a un periodo de estandarización por 15 días previos a la realización del experimento teniendo en cuenta las condiciones ambientales y de alimentación la cual fue con una mezcla de maíz, trigo, cebada y agua.

Luego se procedió a la conformación de los grupos experimentales los cuales fueron distribuidos en forma aleatoria y codificados al azar marcándolas con fucsina en diferentes



segmentos del cuerpo los cuales fueron colocados en jaulas acondicionadas.

Las ratas se mantuvieron en ayunas, con libre acceso al agua antes de empezar el experimento.

Se pesó a cada animal a fin de determinar las dosis a administrar de estreptozotocina así como la dosis de los extractos secos de culén.

Las condiciones fueron establecidas con la finalidad de reducir las variables que pudieran influir en los resultados.



**Figura N° 11:** Bioterio de la Universidad Católica de Santa María

### **3.5.2. Grupos formados para la investigación.**

#### **➤ Para el Grupo Piloto:**

En este grupo piloto se utilizaron 14 ratas machos de 3 meses de edad con pesos que oscilan entre los 250 a 300 g, se les distribuyeron al azar formando 4 grupos; 3 grupos conformado por 4 ratas cada uno y 1 grupo de 2 ratas, como se puede ver en el anexo N° 04.

➤ **Para el Grupo Experimental:**

En el grupo experimental se utilizaron 28 ratas machos de 3 meses de edad con pesos que oscilan entre los 250 a 300 g.

En el presente trabajo los animales se distribuyeron al azar formando 4 grupos de acuerdo al siguiente protocolo:

**GRUPO I:** Denominado **grupo control**, formado por 7 animales a los cuales se les administró estreptozotocina para producir diabetes. Este grupo no recibió tratamiento con el extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, en su lugar se le proporcionó en igual dosis agua destilada.

**GRUPO II:** Llamado **grupo preventivo** conformado por 7 animales los cuales recibieron una dosis de 7.0 mg/Kg de peso del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” por 30 días previos a la administración de estreptozotocina y después.

**GRUPO III:** Llamado **grupo de culén** conformado por 7 animales los cuales después de provocarles diabetes con estreptozotocina recibieron una dosis de 7.0 mg/Kg de peso del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.

**GRUPO IV:** Llamado **grupo de metformina** conformado por 7 animales los cuales después de provocarles diabetes con estreptozotocina recibieron metformina de 850 mg.

### 3.5.3. Producción experimental de diabetes por Estreptozotocina.

La diabetes experimental fue producida con estreptozotocina a dosis de 50 mg/Kg de peso corporal por vía intraperitoneal a todos los grupos.



**Figura N° 12:** Administración de la Solución de Estreptozotocina por vía Intraperitoneal.

Previamente se midió la glucosa basal a todos los grupos.

Transcurridas 72 horas de administrado la estreptozotocina se empezó con el tratamiento del extracto de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” y con la administración del fármaco metformina.

### 3.5.4. Obtención de la muestra sanguínea.

Luego de un ayuno previo se procedió a la toma de muestra de sangre, por el método de corte de cola se obtiene una gota de sangre que se colocará en la tira reactiva del medidor de glucosa (Accu-Chek Active).





**Figura N° 13:** Obtención de la muestra de sangre por el método de corte de cola

La ventaja de esta forma de toma de muestra es que se reduce al mínimo todo dolor, sufrimiento y trastorno que puedan sufrir los animales.

#### **3.5.5. Medición de la glicemia.**

Antes de la administración de estreptozotocina a los animales se les midió la glucosa previo ayuno, así como a las 72 horas después de la administración de la estreptozotocina, posteriormente los días 5, 10, 15, 20, 25 y 30vo día.

La medición de la glicemia se realizó con un glucómetro Accu-Chek® Active el cual está diseñado para ayudar a controlar la diabetes de una manera rápida, precisa y sencilla (ver Anexo N° 19).



**Figura N° 14:** Glucómetro Accu-Chek® Active

### **3.6. Análisis Estadístico**

El análisis estadístico consistió en lo siguiente:

#### **3.6.1. Pruebas de significancia estadística:**

##### **3.6.1.1. Análisis de varianza (ANOVA).**

Procedimiento estadístico que determina si existe o no diferencia estadística significativa en los resultados de los diferentes grupos experimentales.<sup>50</sup>

##### **3.6.1.2. Prueba Tukey.**

Para discriminar las diferencias entre las medias de los diferentes grupos experimentales.<sup>50</sup>

## CAPITULO III

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

## 3. RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS SECOS.

Una vez obtenido los extractos con cada uno de los solventes se evaluó el % de rendimiento para *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”, ver el Anexo N° 03 donde se detalla el peso de las extracciones.

CUADRO N° 01

RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE *Otholobium pubescens*  
(Poiret) Grimes “culén”

EXTRACTOS	Promedio (g) de 10 extracciones	% de Rendimiento
Extracto Metanólico	0.49	4.89
Extracto de Acetato de Etilo	0.22	2.21
Extracto Hexánico	0.08	0.81

En el cuadro N° 01 se detalla el promedio de los pesos de los diferentes extractos obtenidos de 10 extracciones y el % de rendimiento de cada uno de los extractos, donde se observa que el extracto de mayor rendimiento es el metanólico (4.89 %), esto se debe a la polaridad que tiene el metanol, siendo capaz de formar puentes de hidrógeno.

El extracto de Acetato de etilo tuvo un rendimiento de (2.21 %) y el extracto hexánico (0.81 %), esto se debe a la a que el acetato de etilo tiene una mediana polaridad y el hexáno tiene baja polaridad. Así también lo demuestran Liliana Aya y María Cáceres en el estudio de la Acción



hipoglicemiante del homogenizado acuoso de hojas y raíces de *Taraxacum officinale* “diente de león” en ratas con diabetes experimental.

#### 4. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

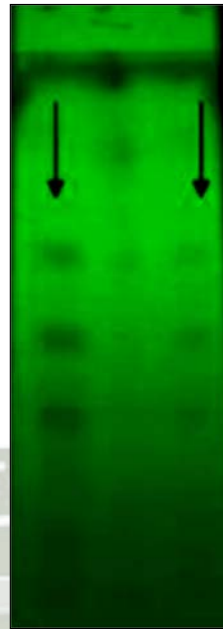
##### 4.1. Identificación de los metabolitos por cromatografía en capa fina.

Para la identificación de los metabolitos se realizó 3 extractos de la planta, utilizándose metanol, hexano y acetato de etilo; pudiendo observarse que con metanol tuvo un mayor rendimiento seguido por acetato de etilo y por último hexano y esto lo podemos observar en la placa cromatográfica.

Se utilizó como fase estacionaria sílica gel la cual se cortó cuidadosamente, ya que un mal corte de está podría interferir con el ascenso de los solvente de la fase móvil y ocasionar una mala corrida cromatográfica de las muestras; las medidas de cada placa fue de 10 cm por 5 cm, las cuales fueron marcadas muy suavemente con un lápiz la parte superior e inferior con una línea transversal dejando 1 cm de distancia con respecto a los extremos y dejando entre muestras una suficiente separación a fin de evitar que estos se mezclen entre sí.

Luego se procedió a hacer el sembrado usando capilares finos, con las aplicaciones respectivas de cada extracto.

Para la fase móvil se probó con diversos sistemas de solventes en diferentes proporciones se utilizó solventes con mayor polaridad y que pudieran separar bien las manchas, en la figura N° 15 podemos observar que la placa tiene una buena separación de manchas.



**Figura N° 15: Placa de cromatografía de culén en luz UV**

Placa cromatográfica correspondiente a culén, se observa una buena separación de manchas se uso como fase móvil (metanol y agua en proporción 70:30)

Cabe mencionar que la placa fue secada a temperatura ambiente, posteriormente se procedió a observar las manchas usando luz UV (254 nm).

A continuación se detalla los resultados obtenidos por cromatografía de capa fina para *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”. En el cuadro N° 02 correspondiente a los extractos metanólico, extracto con acetato de etilo y el extracto hexánico se obtuvo los siguientes resultados.

Para identificar la presencia de flavonoides, se utilizó como fase móvil acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético y agua en una proporción de (100;11;11;27) y se utilizó como revelador el reactivo de ácido sulfúrico concentrado se evidenciaron manchas amarillas<sup>24</sup> al contacto con el revelador que se evidenció por un momento luego desaparecieron las coloraciones esto podría ser debido a que los flavonoides son volátiles. Luego se calculó los Rf, en el extracto metanólico su Rf fue de 0.85, en el extracto hexánico su Rf fue de 0.78 y en el extracto con acetato de etilo se obtuvo un Rf de 0.85 ( Ver Anexo 01-Fig. 1).

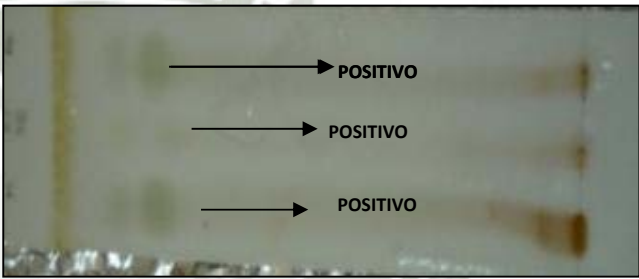
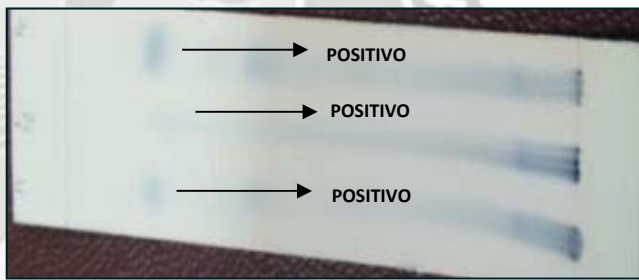
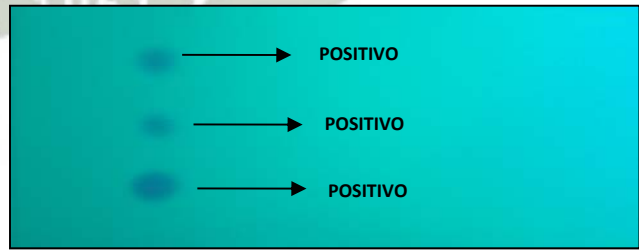
Para identificar la presencia de taninos, se utilizó como fase móvil el metanol y agua en una proporción de (70:30) y se utilizó como revelador el reactivo de Cloruro Férrico al 1 % evidenciando unas manchas de coloración azules.<sup>24</sup> Luego se calculó los Rf, en el extracto metanólico su Rf fue de 0.80, en el extracto hexánico se obtuvo un Rf de 0.65 y en el extracto con acetato de etilo se pudo observar también la presencia de taninos y se obtuvo un Rf de 0.80 (Ver Anexo 01-Fig. 2).

Para la identificación de glicósidos antraquinónicos se utilizó el sistema de solvente de acetato de etilo, metanol y agua en una proporción de (100:17:13) utilizándose como revelador el UV el cual permitió observar manchas con fluorescencia amarillo.<sup>24</sup> Luego se calculó los Rf, en el extracto metanólico se evidenció una gran cantidad de glicósidos antraquinónicos y después se procedió a calcular su Rf 0.75, el extracto hexánico se obtuvo un Rf de 0.75 y en el extracto de acetato de etilo se evidenció un Rf de 0.75 (ver Anexo 01-Fig. 3).



CUADRO N° 02

CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA DE *Otholobium pubescens*  
(Poiret) Grimes “culén”.

<i>Otholobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén”.		Coloración		
Compuestos	Factor de Referencia (RF)	Extracto Metanólico (1)	Extracto Hexánico (2)	Extracto Acetato de etilo (3)
Flavonoides	Rf1:0.85 Rf2:0.78 Rf3:0.85			
Taninos	Rf1:0.80 Rf2:0.65 Rf3:0.80			
Glicósidos antraquinónicos	Rf1:0.75 Rf2:0.75 Rf3:0.75			

#### 4.2. Identificación de Saponinas.

Se tomó 1 mL del extracto y se añade 10 mL de agua, se agita vigorosamente por 30 segundos y se deja en reposo por 30 minutos.

Se observa la formación de una espuma persistente dentro de los 30 minutos.<sup>24</sup>



Figura N° 16: Saponinas

### 5. ESTUDIO EXPERIMENTAL

La etapa de ambientación (15 días) y la alimentación con una misma mezcla de alimentos (maíz, trigo, cebada y agua) así como se utilizó ratas Wistar (*Rattus norvegicus*) fue con el objeto de evitar errores experimentales.

Con la finalidad de determinar el extracto para *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” con mayor efecto hipoglicemiante y la dosis adecuada se realizó una prueba piloto, se utilizó 14 ratas machos, con las que se formó 4 grupos; 3 grupos conformados de 4 ratas cada uno, y un grupo de 2 ratas (ver Anexo N° 4), se establecieron dosis equivalentes al uso tradicional de las plantas, como se observa en el cuadro N° 03.

Después de la formación de los grupos se midió la glucosa basal, luego se procedió a la administración de estreptozotocina para la producción de diabetes experimental a una dosis de 50 mg/Kg de peso, no se utilizó dosis mayores a fin de evitar la producción de un coma diabético y ocasionando que estos murieran y no pudieran resistir el tratamiento. La dosis dada fue solo única ya que estudios anteriores realizados por Ángela Mora y Diana Aragón en el estudio de caracterización del estrés oxidativo en ratas Wistar diabéticas por estreptozotocina, así lo reportan.

La estreptozotocina se disolvió con suero fisiológico, obteniéndose una solución, previo a esto se hicieron los cálculos respectivos para la dosis de cada animal. Luego se procedió a la administración de la solución de estreptozotocina por vía intraperitoneal.

Cabe mencionar que no se tuvo problemas al momento de disolver la estreptozotocina con el suero fisiológico, ya que es soluble.

Una vez comprobada la diabetes experimental inducida en las ratas, después de 72 horas de administración de estreptozotocina (día 0) se continuó con la administración de los diferentes extractos de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” por sonda buco-gástrica a dosis de 3.5 mg/Kg y 7.0 mg/Kg a cada grupo correspondiente.

Se midió la glucosa cada 5 días por un periodo de 30 días, observándose que los grupos que recibieron tratamiento a una dosis de 7.0 mg/Kg mostraron una mejor respuesta en comparación a la dosis de 3.5 mg/Kg como se muestra en el cuadro N° 03 y en los gráficos 3.1 y 3.2.

Este método de medir la glucosa cada 5 días también fue utilizado por Clara Mamani y Milagros Palomino en el efecto hipoglicemiante de la asociación de *Smalanthus sonchifolius* “yacón” y *Geranium dielsianum* “pasuchaca” en ratas con diabetes inducida experimentalmente, teniendo buenos resultados en el control de la evolución de los tratamientos.



CUADRO N° 03

EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA (mg/dL) CON LOS DIFERENTES EXTRACTOS DE *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” A DOSIS DE 3.5 mg/Kg Y 7.0 mg/Kg DE PESO EN RATAS CON DIABETES INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE

EXTRACTOS	N° Ratas	Dosis	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
			Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
Metanólico	2	3.5 mg/Kg	79.50	383.00	377.50	364.00	340.50	323.00	293.00	270.00
	2	7.0 mg/Kg	80.00	379.50	374.50	361.00	329.00	289.50	227.50	192.50
Acetato de Etilo	2	3.5 mg/Kg	80.50	387.00	386.00	381.50	368.00	349.50	332.00	317.00
	2	7.0 mg/Kg	83.00	384.50	382.50	373.00	353.50	331.50	307.50	279.50
Hexánico	2	3.5 mg/Kg	85.00	384.50	382.50	380.50	374.50	369.00	366.00	359.50
	2	7.0 mg/Kg	80.00	383.50	382.00	377.00	372.00	364.50	340.00	324.00
Control	2	Agua destilada	77.50	391.00	392.00	396.50	404.50	404.50	407.50	401.50

GRÁFICO N° 3.1

EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA (mg/dL) CON LOS DIFERENTES EXTRACTOS DE *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” A DOSIS DE 3.5 mg/Kg DE PESO EN RATAS CON DIABETES INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE

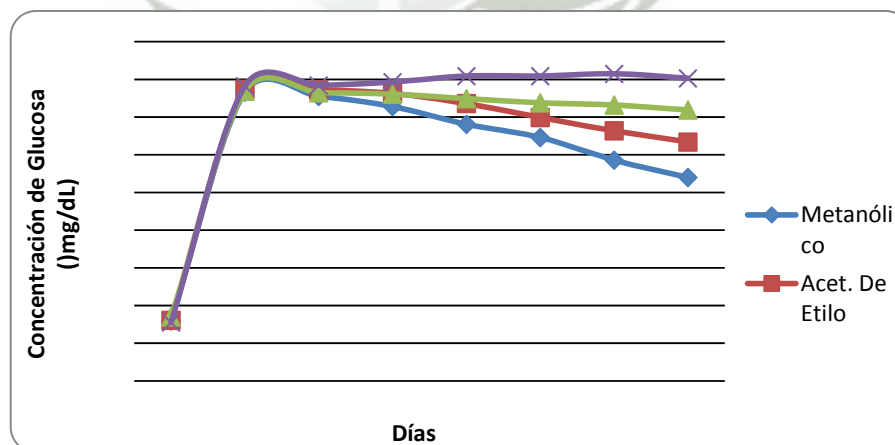
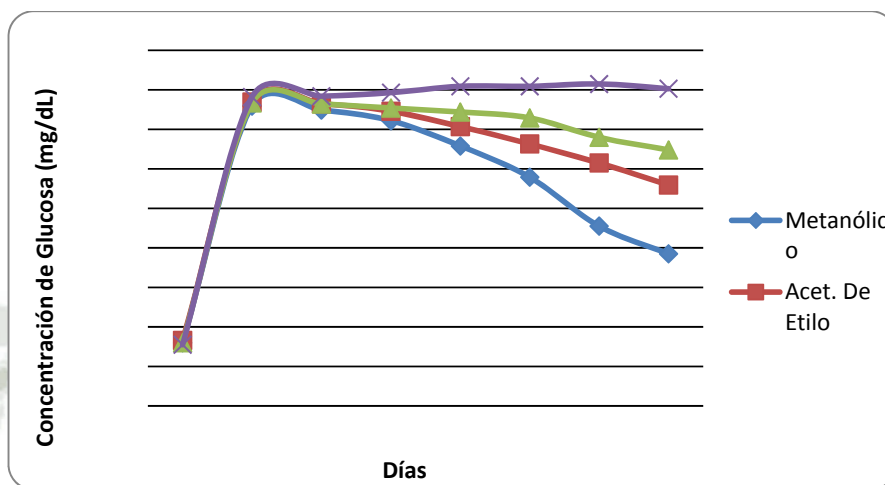


GRÁFICO N° 3.2

**EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA (mg/dL) CON  
LOS DIFERENTES EXTRACTOS DE *Otholobium pubescens*  
(Poiret) Grimes “culén” A DOSIS DE 7.0 mg/Kg DE PESO EN  
RATAS CON DIABETES INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE**



Los tres extractos (metanólico, acetato de etilo y hexánico) mostraron efecto hipoglicemiante, dando mejores resultados el extracto metanólico, seguido de acetato de etilo y por último el hexánico, por lo cual se decidió usar el extracto metanólico siendo el solvente más accesible y menos tóxico. Así también se usa la dosis de 7.0 mg/Kg de peso.

Teniendo la dosis, el extracto adecuado y sabiendo que en el estudio del análisis fitoquímico hay la presencia de flavonoides, taninos, glicósidos antraquinónicos y saponinas, se continuó con la investigación experimental.

Tomando en cuenta lo anterior se procedió con el tratamiento del grupo preventivo administrándole 7.0 mg/Kg de peso del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” durante 30 días. Cabe mencionar que a este grupo se le midió la glucosa basal dos veces (ver Anexo N° 06).

Luego se procedió a la administración de estreptozotocina para producir diabetes experimental a una dosis de 50 mg/Kg de peso por vía intraperitoneal.

Después de 72 horas de administración de estreptozotocina, las ratas presentaron diabetes, teniendo los niveles de glucosa entre 220 a 410 mg/dL, como se observa en los Anexos N° 7, 8, 9, y 10.

Se continuó con la administración de los tratamientos con el extracto metanólico de culén y del fármaco metformina, teniendo en cuenta para cada administración el peso de cada animal a fin de evitar errores.

Durante el proceso experimental se observó que los animales de los grupos tratados presentaron mejorías, se mostraban más activos, en comparación con los del grupo control los cuales presentaban todos los síntomas de la diabetes como podemos ver en el Anexo N° 18.

Terminada la parte experimental se procedió a los análisis estadísticos obteniéndose los resultados que se detallan a continuación.

## **6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES**

Para el estudio estadístico de los resultados se utilizó ANOVA para indicar si existen diferencias significativas en los resultados y se usó la prueba de Tukey para ver las diferencias entre los diferentes grupos experimentales. Obteniéndose como resultado lo siguiente:



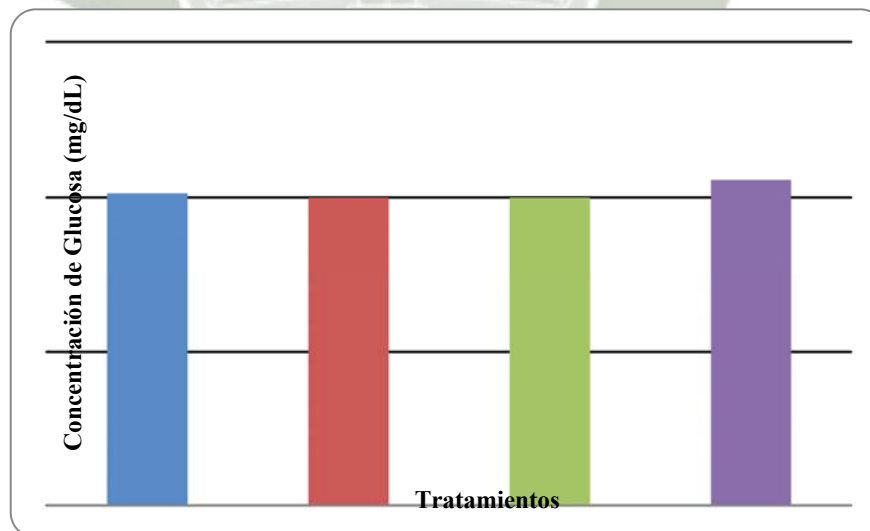
**CUADRO N° 04**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) BASAL ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>N° DE RATAS</b>	<b>PROMEDIO mg/dL</b>	<b>SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA</b>
Preventivo	7	80.14	X
Culén	7	80.00	X
Metformina	7	80.00	X
Control	7	80.57	X

**GRAFICO N° 4.1**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) BASAL ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES**



El cuadro N° 04 y en el gráfico N° 4.1 se observa en cuanto a la comparación de la concentración de glucosa basal se encuentran entre 80.00 mg/dL a 80.574 mg/dL no mostrándose diferencias significativas entre estos valores ( $p > 0.05$ ).

Por lo tanto se verifica que la experimentación se inicia en igualdad de condiciones en todos los grupos experimentales.

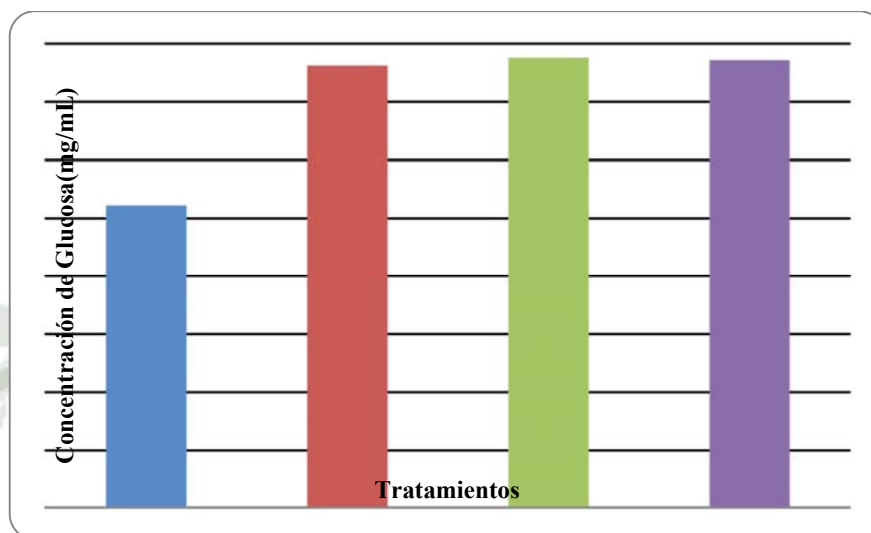
**CUADRO N° 05**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE  
ESTREPTOZOTOCINA A DOSIS DE 50 mg/Kg ENTRE LOS  
GRUPOS EXPERIMENTALES**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>N° DE RATAS</b>	<b>PROMEDIO mg/dL</b>	<b>SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA</b>
Preventivo	7	261.14	X
Culén	7	381.14	X
Metformina	7	388.00	X
Control	7	385.86	X

GRÁFICO N° 5.1

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE  
ESTREPTOZOTOCINA A DOSIS DE 50 mg/Kg ENTRE LOS  
GRUPOS EXPERIMENTALES**



Los resultados obtenidos en el cuadro N° 05 y en el gráfico N° 5.1 demuestran que la administración de estreptozotocina a dosis de 50 mg/Kg de peso provocó un incremento en la concentración de glucosa en el grupo metformina, seguido del grupo control y culén, respectivamente pudiendo observar que no existen diferencias significativas con respecto a la concentración de glucosa ( $p > 0.05$ ).

Mientras que en el grupo preventivo muestra una clara diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) con respecto a los demás grupos, se asume que la diferencia existente en la prueba estadística se debió a que el grupo preventivo recibió un tratamiento de 30 días con *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” antes de producir diabetes experimental, alcanzando un promedio de 261.14 mg/dL, siendo este el más bajo en comparación con los otros grupos.



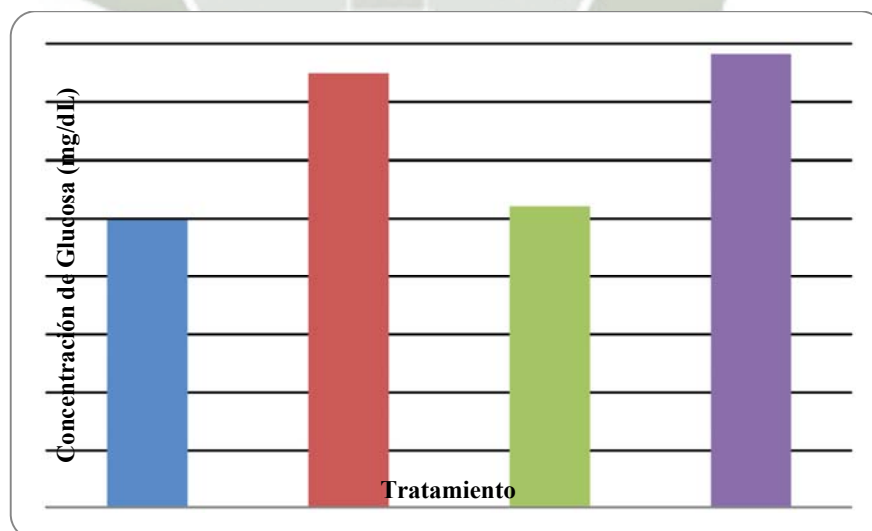
**CUADRO N° 06**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 5to DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRATAMIENTOS	N° DE RATAS	PROMEDIO mg/dL	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Preventivo	7	248.86	X
Culén	7	374.57	X
Metformina	7	260.86	X
Control	7	391.14	X

**GRÁFICO N° 6.1**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 5to DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**



Los resultados obtenidos después del análisis estadístico reportados en el cuadro N° 06 y en el gráfico N° 6.1 muestran que para el 5to día el grupo culén (374.57 mg/dL), metformina (260.86 mg/dL) y preventivo (248.86 mg/dL) inician un descenso en los valores de glucosa, mientras el grupo control (391.14 mg/dL) tuvo un leve aumento en los niveles de glucosa, puesto que este grupo no recibió ningún tratamiento.

Comparando los resultados de cada grupo experimental, según el test tukey el cual nos indica que en todos los grupos tratados se encontró diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

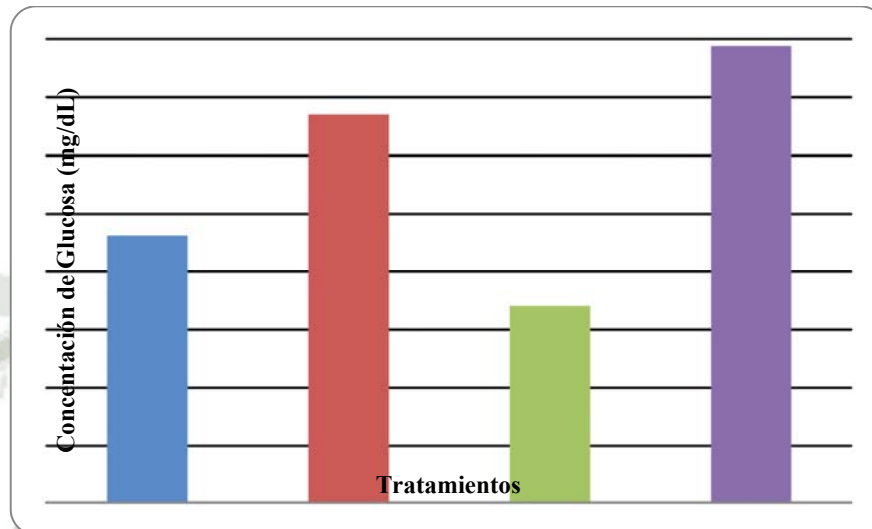
**CUADRO N° 07**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 10mo DÍA ENTRE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRATAMIENTOS	N° DE RATAS	PROMEDIO mg/dL	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Preventivo	7	231.57	X
Culén	7	335.14	X
Metformina	7	170.57	X
Control	7	394.00	X

### GRÁFICO N° 7.1

#### COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/dL) AL 10mo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS



En el cuadro N° 07 y gráfico N° 7.1 se muestran resultados del día 10, así mismo se observa que los promedios de la concentración de la glucosa va disminuyendo en los grupos que reciben tratamiento.

En todos los grupos de tratamiento existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).

Haciendo una comparación de la concentración de glucosa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo control, podemos observar que; el grupo control es el que presentó mayor concentración de glucosa (394.00 mg/dL) en comparación con los grupos que recibieron tratamiento, el grupo culén presentó (335.14 mg/dL), el grupo preventivo (231.57 mg/dL) y el grupo metformina (170.57 mg/dL).



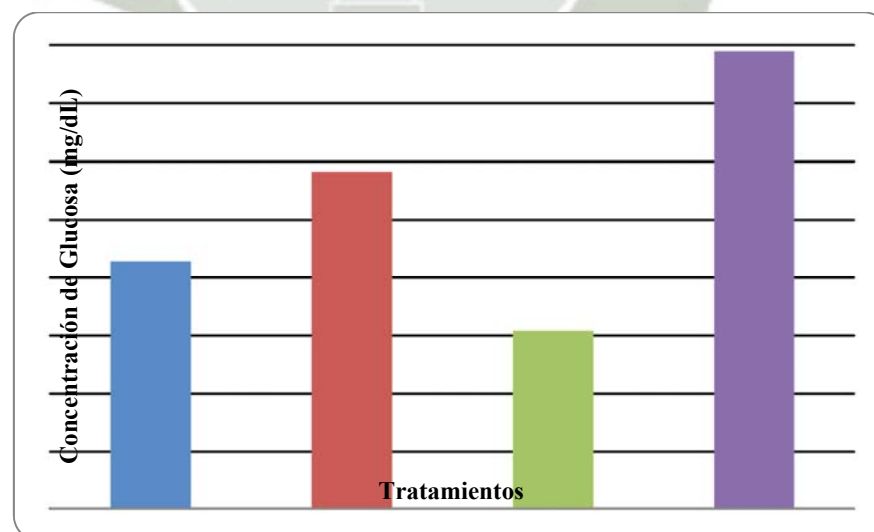
**CUADRO N° 08**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 15vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRATAMIENTOS	N° DE RATAS	PROMEDIO mg/dL	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Preventivo	7	214.43	X
Culén	7	291.43	X
Metformina	7	154.14	X
Control	7	394.71	X

**GRÁFICO N° 8.1**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 15vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**



Los resultados obtenidos en el cuadro N° 08 y gráfico N° 8.1 muestran que en todos los grupos de tratamiento existen diferencias significativas para el 15vo día ( $p < 0.05$ ).

Haciendo una comparación de la concentración de glucosa entre los grupo que recibieron tratamiento y el grupo control, podemos observar que; el grupo control es el que presentó mayor concentración de glucosa (394.71 mg/dL) en comparación con los grupos que recibieron tratamiento, el grupo culén presentó (291.43 mg/dL), el grupo preventivo (214.43 mg/dL) y el grupo metformina (154.14 mg/dL).

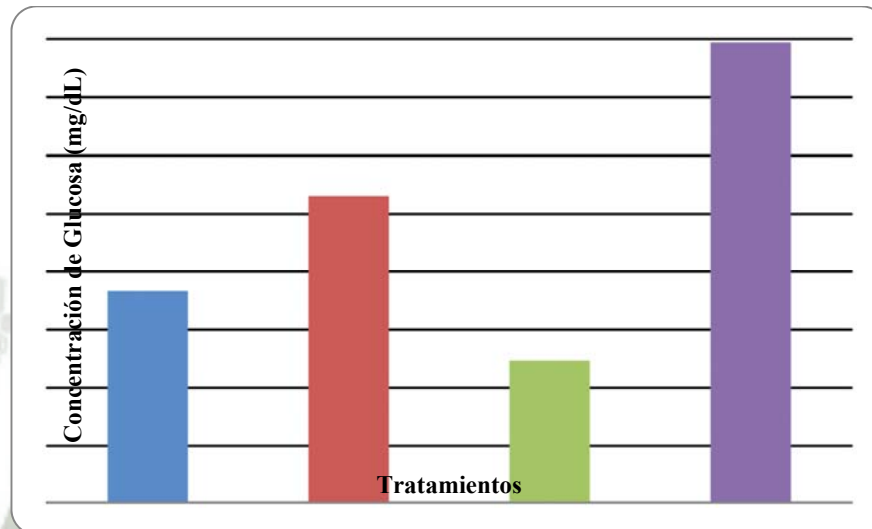
**CUADRO N° 09**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 20vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRATAMIENTOS	N° DE RATAS	PROMEDIO mg/dL	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Preventivo	7	183.29	X
Culén	7	265.43	X
Metformina	7	123.43	X
Control	7	397.14	X

### GRÁFICO N° 9.1

#### COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/dL) AL 20vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS



El cuadro N° 09 y gráfico N° 9.1 encontramos que en todos los grupos existen diferencias significativas para el 20vo día ( $p < 0.05$ ).

En este tiempo el promedio de glucosa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo control, se observa que; el grupo control sigue presentando mayor concentración de glucosa (397.14 mg/dL) en comparación con los grupos que recibieron tratamiento, el grupo culén presentó (265.43 mg/dL), el grupo preventivo (183.29 mg/dL) y el grupo metformina (123.43 mg/dL).



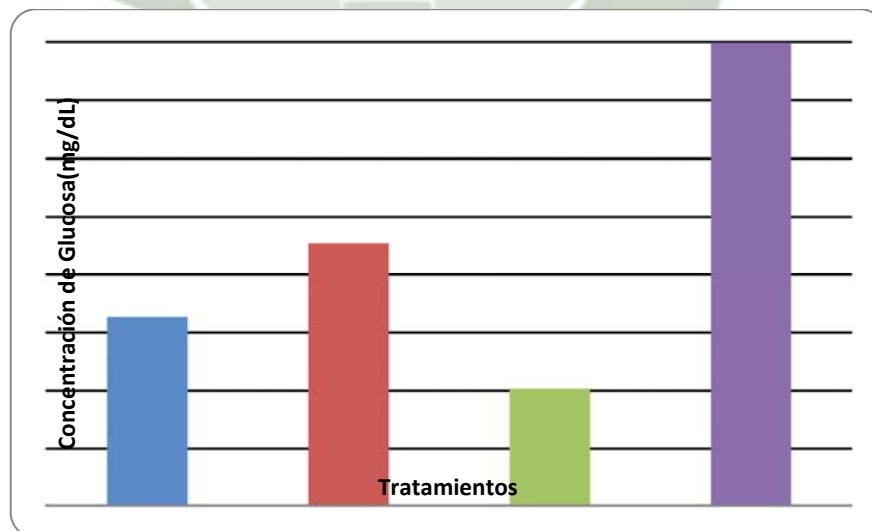
**CUADRO N° 10**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 25vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

TRATAMIENTOS	N° DE RATAS	PROMEDIO mg/dL	SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA
Preventivo	7	163.43	X
Culén	7	227.57	X
Metformina	7	101.86	X
Control	7	399.43	X

**GRÁFICO N° 10.1**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 25vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**



Los resultados obtenidos en el cuadro N° 10 y gráfico N° 10.1 después del análisis estadístico, observamos que para el 25vo día existen diferencias significativas en todos los grupos ( $p < 0.05$ ).

Haciendo una comparación de la concentración de glucosa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo control, se observa que; el grupo control es el que presentó mayor concentración de glucosa (399.43 mg/dL) en comparación con los grupos que recibieron tratamiento, el grupo culén presentó (227.57 mg/dL), el grupo preventivo (163.43 mg/dL) y el grupo metformina (101.86 mg/dL). Y ya se observa que el grupo tratado con metformina empieza a estar en los niveles normales de glucosa.

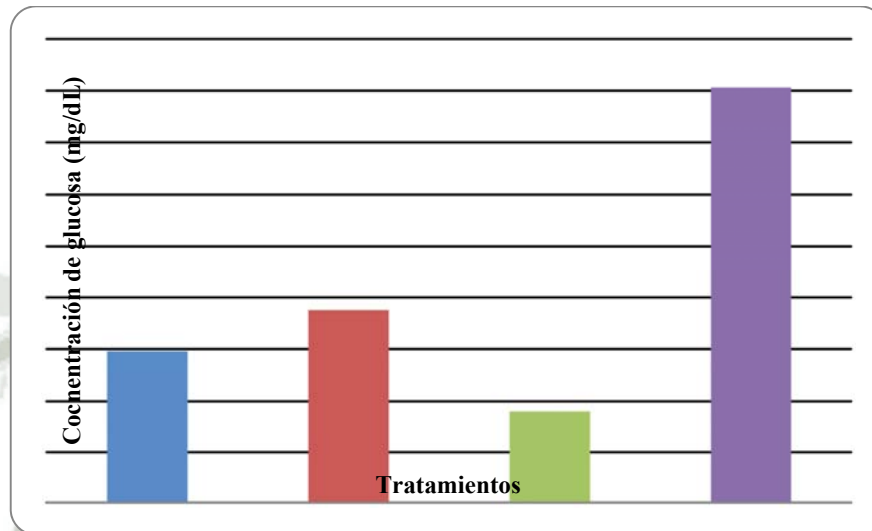
**CUADRO N° 11**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 30vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>TRATAMIENTOS</b>	<b>N° DE RATAS</b>	<b>PROMEDIO mg/dL</b>	<b>SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA</b>
Preventivo	7	147.86	X
Culén	7	187.71	X
Metformina	7	90.29	X
Control	7	403.14	X

**GRÁFICO N° 11.1**

**COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA  
(mg/dL) AL 30vo DÍA ENTRE LOS GRUPOS EXPERIMENTALES  
A DIFERENTES TRATAMIENTOS**



El cuadro N° 11 y gráfico N° 11.1 se muestran resultados en donde los niveles de glucosa han ido disminuyendo en los grupos tratados, observamos que para el 30vo día existen diferencias significativas en todos los grupos ( $p < 0.05$ ).

Haciendo una comparación de la concentración de glucosa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo control, se observa que el grupo control presentó mayor concentración de glucosa (403.14 mg/dL) en comparación con los grupos que recibieron tratamiento, el grupo culén presentó (187.71 mg/dL), el grupo preventivo (147.86 mg/dL) y el grupo metformina (90.29 mg/dL). Observando que el grupo que se trató con el fármaco de metformina, se encuentran dentro de los niveles normales de glucosa, lo cual se corrobora por el hecho de ser un fármaco hipoglicemiante.



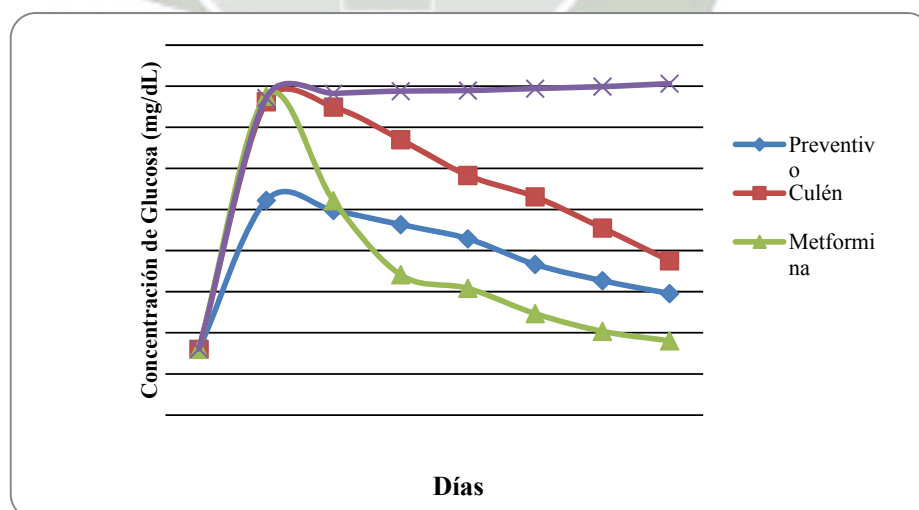
**CUADRO N° 12**

**EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA (mg/dL)  
PROMEDIO DE LOS DIFERENTES GRUPOS  
EXPERIMENTALES DURANTE EL TRATAMIENTO**

GRUPOS	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/dL)							
	BASAL	DÍA 0	DÍA 5	DÍA 10	DÍA 15	DÍA 20	DÍA 25	DÍA 30
<b>Preventivo</b>	80.14	261.14	248.86	231.57	214.43	183.29	163.43	147.86
<b>Culén</b>	80.00	381.14	374.57	335.14	291.43	265.43	227.57	187.71
<b>Metformina</b>	80.00	388.00	260.86	170.57	154.14	123.43	101.86	90.29
<b>Control</b>	80.57	385.86	391.14	394.00	394.71	397.14	399.43	403.14

**GRÁFICO N° 12.1**

**EVOLUCIÓN DE LOS NIVELES DE GLUCOSA (mg/dL) DE LOS  
DIFERENTES GRUPOS EXPERIMENTALES DURANTE EL  
TRATAMIENTO**



Los resultados obtenidos en el cuadro N° 12 y en el gráfico N° 12.1 detallan todo el tratamiento donde se muestra un efecto hipoglicemiante para *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” y del fármaco metformina, favoreciendo en el proceso de la diabetes experimental en ratas.

Cabe mencionar que el mayor efecto fue logrado con el grupo preventivo que aún administrando estreptozotocina, aumento la glucosa de 80.14 mg/dL a 261.14 mg/dL, podría deberse a que dicho grupo estuvo protegido con el extracto de culén y siguiendo con el tratamiento por 30 días más llegó a reducir la concentración glucosa a 147.86 mg/dL. Lo cual se concluye con el hecho que Laura Quispe y Rosa Salazar en un estudio similar con el efecto del *Allium sativum* “ajo” liofilizado en diabetes experimental inducida por estreptozotocina en ratas, encontraron una respuesta similar lo que justifica la afirmación.

Con respecto al grupo culén, se observa que también tuvo una disminución de la concentración de glucosa respecto a los días del tratamiento, de 381.14 mg/dL disminuyó hasta 187.71 mg/dL. Por lo cual se puede concluir que se deba a la presencia de los flavonoides, los cuales secuestran al radical superóxido ( $O_2^-$ ) y al radical hidroxilo ( $OH\cdot$ ). Los flavonoides pueden unirse a los polímeros biológicos, como: enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos transitorios, como:  $Fe^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ , catalizar el transporte de electrones y depurar radicales libres. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como la diabetes.<sup>6</sup>

Y el grupo metformina disminuyó sus niveles de glucosa de 388.00 mg/dL a 90,29 mg/dL, alcanzando los niveles normales de glucosa, siendo normal ya que es un fármaco de efecto hipoglicemiante largamente demostrado.

Mientras que en el grupo control se observa niveles de glucosa de 385.86 mg/dL hasta 403.14 mg/dL, debido a que este grupo no recibió tratamiento alguno.

Los grupos que recibieron tratamiento con *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” y metformina, mostraron una recuperación favorable a través de los días, disminuyendo los niveles de glucosa, a comparación del grupo control que mostraron todos los síntomas de la enfermedad debido a que no recibieron ningún tratamiento (ver Anexo N° 18).

La prevención de la diabetes, puede estar relacionada con la capacidad de los flavonoides de mostrar actividad captadora de radicales libres, los mediadores de la actividad antidiabética podría ser los supuestos captadores de radicales, es por tal motivo que el grupo preventivo tuvo valores bajos de glucemia luego de administrar la estreptozotocina con respecto a los otros grupos experimentales, estos flavonoides estarían captando los radicales libres que produce la estreptozotocina, por ende al producir la diabetes experimental el grupo preventivo tuvo mayor cantidad de atrapadores de radicales libres, por lo tanto estuvo protegido.



## CONCLUSIONES

1. En el análisis fitoquímico preliminar se evidenció la presencia de flavonoides, taninos, glicósidos antraquinónicos y saponinas.
2. Se comprobó que los tres extractos (metanol, acetato de etilo y hexano) presentaron efecto hipoglicémico, dando mejores resultados el extracto de metanol.
3. La administración del extracto metanólico de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” tiene efecto hipoglicémico y comparando frente al tratamiento con metformina, este último presentó mejores resultados llegando a los niveles normales de glucosa, lo que era de esperar debido a que es un fármaco de efecto hipoglicémico largamente demostrado.
4. Comparando el efecto hipoglicémico entre los grupos preventivo y culén se concluye que, el mejor tratamiento es el preventivo.

## RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios dirigidos a evaluar la actividad tóxica de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.
2. Realizar investigaciones dirigidas a desarrollar una fórmula farmacéutica para el tratamiento específico para diabetes mellitus del extracto de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”.
3. Se sugiere realizar mayores estudios de los componentes químicos de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” para determinar el mecanismo de acción por el cual disminuyen los niveles de glucosa en sangre.
4. Desarrollar un diseño experimental de asociación de *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” con otra planta que muestre efecto hipoglicemiante.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Agapito F, Teodoro, Sung Isabel. “Fitomedicina 1100 plantas medicinales”. Editorial Isabel. Tomo I. 2003.
2. Amado C, Ingrid Y, Portugal R, Rosa M. “Estudio del efecto Antioxidante e Hipoglicemiante del *Minthostachys molly griseb* “muña” en animales de experimentación”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2010.
3. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes 2007. Diabetes Care 30; s4-s41; 2007.
4. Aya G, Liliana E, Cáceres B, María. “Acción Hipoglucemiante del homogenizado acuoso de hojas y raíces de *Teraxacum officinale* “diente de león” en ratas con diabetes experimental”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2001.
5. Beers, Mark H, Berkow, Robert. “El Manual de Merck de Diagnóstico y Tratamiento”. 10ma Edición. Editorial Ediciones Harcourt. España-Madrid. 1999.
6. Benites R, Hemmer M, Romero L, Alexander. “Efecto del Decocto de *Notholaena nivea* “cutoicuti” sobre la glicemia en *Rattus rattus* variedad Albinus con Diabetes Inducida”. Tesis para optar el Título de Licenciado en Nutrición. Trujillo. 2011.
7. Berdonces S, José L. “Enciclopedia de Plantas Medicinales”. Editorial Acribia. 1991.
8. Bolaños A, José L. “Eficacia de Metformina y Glibenclamida en el tratamiento de diabetes mellitus tipo 2”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2004.



9. Brack, Egg Antonio. "Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú". Cusco. 1999.
10. Diabetes Association: Clinical Practice. Diabetes Car. Volume 23. Supplement 1, January 2000 American. Recommendations 2000.
11. Escobedo J, Rico B. "Incidencia y letalidad de las complicaciones agudas y crónicas de la Diabetes Mellitus en México". Revista de Salud Pública 1996; 38:236-242.
12. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of diabetes Mellitus: Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification o diabetes Mellitus. Diabetes Care 26: 3160-3167, 2003.
13. Fitzgerald, Paul A. "Endocrinología Clínica". Editorial EL Manual Moderno. Mexico. 1999.
14. Galindo P, Kriss C, Paredes V, Yaneth M. "Efecto del zumo de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) sobre los niveles de glucosa en ratas con diabetes mellitus experimental". Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2001.
15. Ganong, William F. "Manual de Fisiología Médica". 20ava Edición. Editorial Manual Moderno. México. 2006.
16. Garcia, Manuel. "Molecular understanding of hiperglycemia adverse effects for Diabetic complication". Vol. 288 (20): 2579-88. 2002.
17. Goodman And Gilmmann." Las Bases Farmacológicas de la terapéutica". Décima Edición Vol. II. Editorial Interamericana Mc. Graw Hill. Mexico. 2002.
18. Guyton, Arturo. "Tratado de Fisiología Médica". 11ava Edición. Editorial Mc Graw Hill. Mexico. 2006.
19. Hoffmann, A., Farga, C., Lastra, J.& Veghazi, E. "Plantas medicinales de uso común en Chile". Fundación Ediciones Claudio Gay. Chile.1992.

20. Islas A, Sergio, Lifshitz G, Alberto. “Diabetes Mellitus”. 1ra. Edición. Editorial Interamericana Mc Graw Hill. Mexico. 1993.
21. Jean Bruneton. “Fitoquímica Plantas Medicinales”. 2da Edición. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.
22. Katzung, Betram G. “Farmacología básica y clínica”. 9na Edición. Editorial El Manual Moderno. Mexico. 2005.
23. Kuklinski C. Farmacognosia. “Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural”. 1ra Edición. Editorial Ediciones omega SA. Barcelona-España. 2003.
24. Lock de U. Olga. “Investigación Fitoquímica. Métodos de estudio de productos naturales”. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1998.
25. Lock Sing de Ugaz, Olga “Colorantes Naturales”. Lima, 1997. Fondo Editorial de la Pontificia de la Universidad Católica del Perú. Lima. 1997.
26. Lippincott Williams, Wilkins. “Manual Washington De Terapéutica Médica”. 32ava Edición. Editorial Wolters Kluwer Hekth España S.A. 2007.
27. Mamani B, Clara V, Palomino Q, Milagros E. “Efecto Hipoglicemiante de la Asociación *Smallantus sonchifolius* “yacón” y *Geranium dielsianum* “pasuchaca” en ratas con diabetes inducida experimentalmente”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2009.
28. Meyer, P. “Fisiología Humana”. 3ra edición. Editorial Salvat Barcelona. 1993.
29. Mollenedo Ch, Ana M, Sequeiros C, Giovana. “Efecto sobre la hiperglicemia de la Asociación de los extractos etanólicos de *Gentianella nítida* “hercanpuri” y *Baccharis genistelloides* “carqueja”. Tesis para

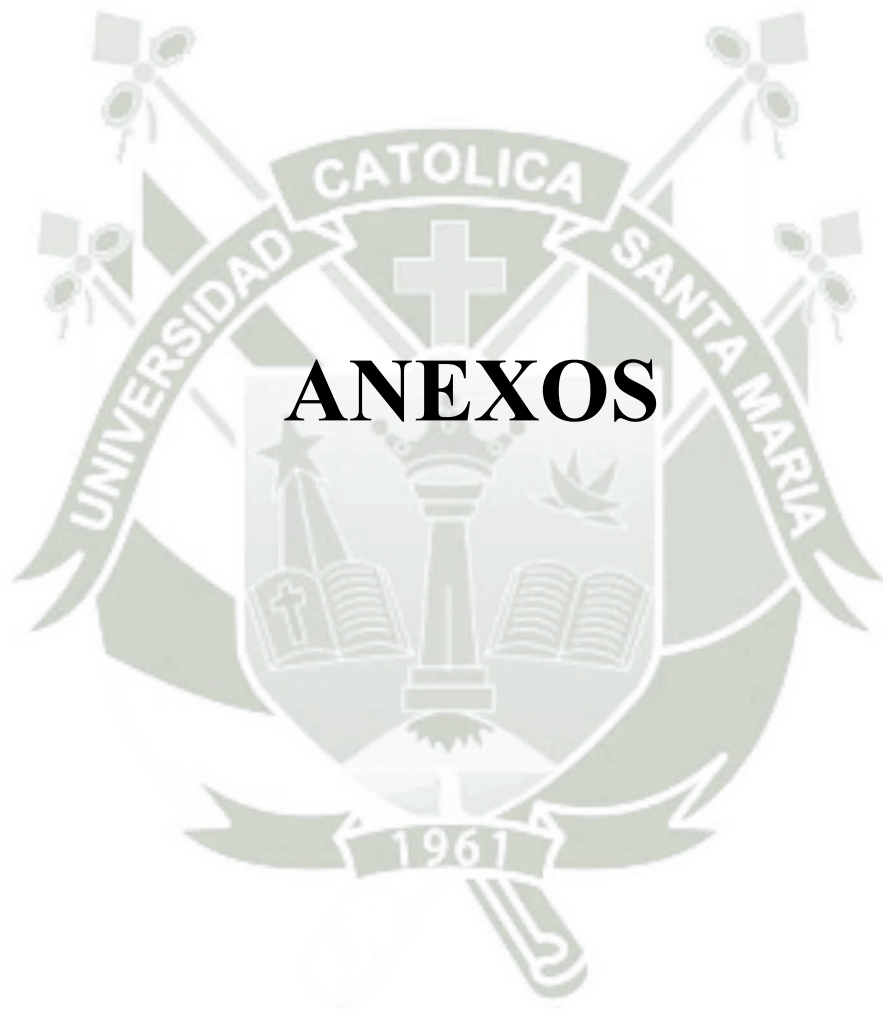
- optar el grado académico de Doctor en ciencias de la salud pública. Arequipa. 2008.
30. Monteverde L, Pulella E, Centurión A, Outomuro D. “Conceptos clínicos básicos sobre diabetes mellitus”. Revista de la Sociedad de Medicina Interna de Buenos Aires.
  31. Mora H, Ángela C, Aragón N, Diana M. “Caracterización del estrés oxidativo en ratas Wistar diabéticas por Estreptozotocina”. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Colombia. 2009.
  32. Noriega P, Percy. “Principios de Métodos de Análisis usados en Bioquímica”. Arequipa. 1999.
  33. Nuñez B, Cesar A. “Efectos del *Capsicum pubescens* “rocoto” en la glicemia e insulina de ratas con diabetes experimental”. Tesis para optar el grado académico de Doctor en ciencias de la salud pública. Arequipa. 2007.
  34. Palacios V, Julio W. “Plantas Medicinales Nativas del Perú”. 2da Edición. Editorial Concytec. Lima. 1997.
  35. Pineda LI, Karla G, Torres P, Verónica M. “Efecto de la *Urtica ballotaefolia* “ortiga” en diabetes inducida en animales de experimentación”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2005.
  36. Pino F. Alejandro; Villanueva S. José. “Guía de prácticas de Farmacognosia I”. UCSM. Arequipa. 1999.
  37. Quispe R, Laura M, Salazar M, Rosa E. “Efecto del *Allium sativum* “ajo” liofilizado en diabetes experimental inducida por estreptozotocina en ratas”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2003.
  38. Robbins, Sanley. “Patología Estructural y Funcional”. 5ta Edición. Nueva Editorial Interamericana. Mexico. 1998.



39. Robert M, Berne. “Fisiología”. 2da. Edición. Editorial Harcourt Brace. Madrid España. 1998.
40. Rodriguez P, Consuelo, Rodriguez P, Arturo. “Farmacología clínica”. 1era.Edicion. Editorial. Mc. Graw-Hill. 2005.
41. Rojas E. “Biguanidas, antidiabéticos y acidosis láctica”. Revista Clínica Española.1997;8:568-573.
42. Rosales H, Alma L. “Determinación de hemoglobina glicada en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina”. Tesis para optar el titulo de Licenciatura en Biología experimental. Mexico. D.F. 1999.
43. Rubbin, Emanuel.“Patología”. Editorial Médica Panamericana. 1990.
44. Stanley L, Robbins. “Patología Estructural y Funcional”. 5ta Edición. Editorial Interamericana. 1996.
45. Vanalacocho, Bernat y Cañagual, Salvador. “Fitoterapia”. Edición Vademecum de prescripción. Editorial Masson. España. 2003.
46. Velázquez. “Farmacología básica y clínica”. 17ava Edición. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid. España. 2004.
47. Vila Jato JL. “Tecnología Farmacéutica: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacéuticos y Operaciones Básicas”. 1era Edición. Editorial Síntesis SA. Madrid-España. 2001.
48. Villalba M, Alvaro. “Efecto del extracto alcohólico de las hojas de *Stevia rabaudiana* “yerba dulce” sobre la glicemia en pacientes con diabetes mellitus tipos 2”. Tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico. Arequipa. 2005.
49. Walker R, Rodger J. “Manual práctico para el cuidado de la salud”. Editorial QW Editores S.A.C. 2006.
50. Wayne, Daniel. “Bioestadística para las ciencias de la salud”. Editorial Limusa. México. 2004.

51. Tébar M, Francisco J, Escobar J, Fernando. “La Diabetes Mellitus en la práctica clínica”. Editorial Médica Panamericana S.A. Madrid-España. 2009.
52. Tellez V, Leonardo. “Manual de Química Orgánica General – Extracción de Compuestos Orgánicos”. Editorial Reverte. 1989.
53. <http://www.minsa.gob.pe/portada/Especiales/2010/presentación.asp>
54. <http://www.roche.com.pe>





# ANEXOS



ANEXO N° 01

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”

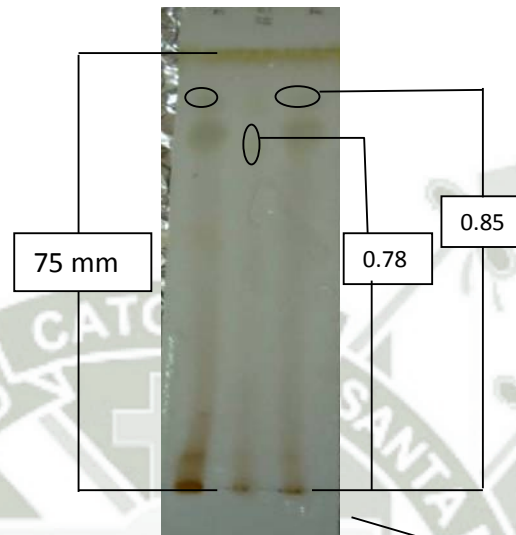


Fig. 1 Se observa la presencia de flavonoides, coloración amarillo.

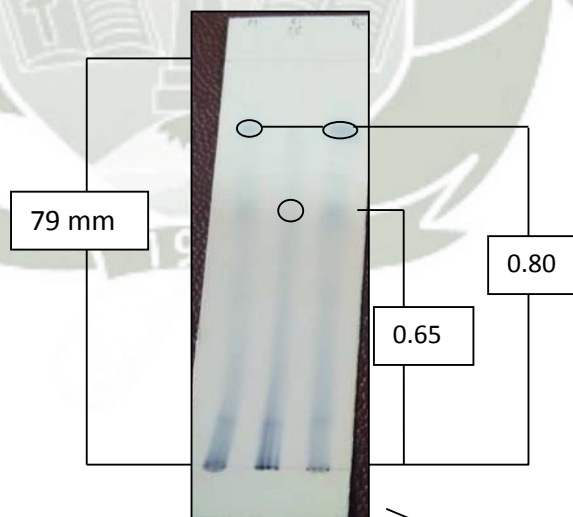


Fig. 2 Se observa la presencia de taninos, coloración azul.

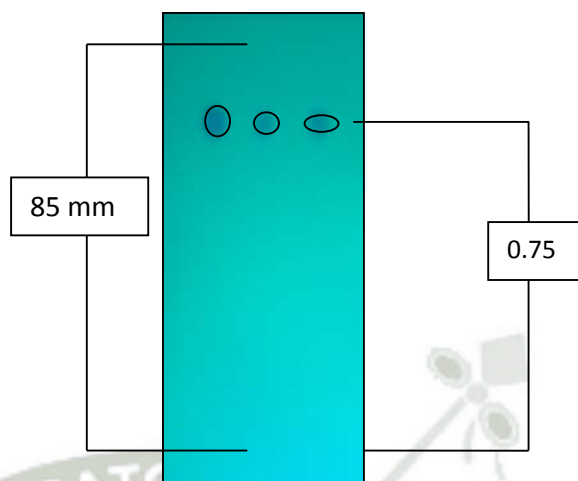


Fig. 3 Se observa la presencia de glicósidos antraquinónicos, coloración rojo marrón.

## ANEXO N° 02

### PROCESO DE TRATAMIENTO



**FIGURA 1**

Etapa de ambientación y alimentación de los animales con maíz, trigo y concentrado y agua.



**FIGURA 2**

Etapa de tratamiento, *Rattus norvegicus* recibiendo su dosis respectiva.



**FIGURA 3**

Obtención de la muestra de sangre por medio de la cola.



**FIGURA 4**

Medición de la glucosa en el glucómetro Accu Chek Active.



ANEXO N° 03

**RENDIMIENTO DE LOS EXTRACTOS DE**  
*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”

Extracciones	Peso del Extracto Metanólico Seco (g)	Peso del Extracto de Acetato de Etilo Seco (g)	Peso del Extracto Hexánico Seco (g)
1	0.51	0.24	0.08
2	0.47	0.20	0.06
3	0.45	0.19	0.07
4	0.52	0.23	0.08
5	0.49	0.24	0.09
6	0.51	0.20	0.06
7	0.46	0.25	0.10
8	0.51	0.22	0.09
9	0.50	0.21	0.08
10	0.47	0.23	0.10
<b>Promedio</b>	0.49	0.22	0.08

ANEXO N° 04

GRUPOS FORMADOS PARA LA PRUEBA PILOTO

*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén”

GRUPOS	N° de ratas	Extracto administrado	Dosis diaria (mg de extracto seco de culén / Kg de peso)
Grupo I	2	Metanólico	3.5
	2		7.0
Grupo II	2	Acetato de Etilo	3.5
	2		7.0
Grupo III	2	Hexánico	3.5
	2		7.0
Grupo IV	2	Agua destilada	-

ANEXO N° 05

CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA (mg/dL) EN RATAS DEL  
GRUPO PILOTO, TRATADAS CON LOS DIFERENTES  
EXTRACTOS DE *Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” A  
DOSIS DE 3.5 mg/Kg y 7.0 mg/Kg DE PESO Y DE SU GRUPO  
CONTROL

DOSIS: 3.5 mg/Kg de peso de los diferentes extractos <i>Otholobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén”										
Extractos	N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)								
		Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30	
Metanólico	1	77	380	375	361	343	327	287	268	
	2	82	386	380	367	338	319	299	272	
	Promedio	79.50	383.00	377.50	364.00	340.50	323.00	293.00	270.00	
Acetato de Etilo	1	83	391	388	382	370	358	335	321	
	2	78	383	384	381	366	341	329	313	
	Promedio	80.50	387.00	386.00	381.50	368.00	349.50	332.00	317.00	
Hexánico	1	86	397	395	390	381	377	372	365	
	2	84	372	370	371	368	361	360	354	
	Promedio	85.00	384.50	382.50	380.50	374.50	369.00	366.00	359.50	

DOSIS: 7.0 mg/Kg de peso de los diferentes extractos <i>Otholobium pubescens</i> (Poiret) Grimes “culén”										
Extractos	N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)								
		Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30	
Metanólico	1	79	385	378	363	327	288	234	196	
	2	81	374	371	359	331	291	221	189	
	Promedio	80.00	379.50	374.50	361.00	329.00	289.50	227.50	192.50	
Acetato de Etilo	1	86	388	386	371	358	336	306	278	
	2	80	381	379	375	349	327	309	281	
	Promedio	83.00	384.50	382.50	373.00	353.50	331.50	307.50	279.50	
Hexánico	1	77	380	378	371	368	361	342	331	
	2	83	387	386	383	376	368	338	317	
	Promedio	80.00	383.50	382.00	377.00	372.00	364.50	340.00	324.00	



GRUPO CONTROL DE LA PRUEBA PILOTO								
N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
	Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
<b>1</b>	80	389	388	394	401	399	403	398
<b>2</b>	75	393	396	399	408	410	412	405
<b>Promedio</b>	<b>77.50</b>	<b>391.00</b>	<b>392.00</b>	<b>396.50</b>	<b>404.50</b>	<b>404.50</b>	<b>407.50</b>	<b>401.50</b>



ANEXO N° 06

**CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA mg/dL EN RATAS DEL GRUPO  
PREVENTIVO, TRATADAS CON EL EXTRACTO METANÓLICO DE  
*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” (7.0 mg/Kg) 30 DÍAS  
ANTES DE LA ADMINISTRACIÓN DE ESTREPTOZOTOCINA  
(50 mg/Kg)**

Rata	Marcas	Basal	Basal después de 30 días
1	Cabeza	80	79
2	Dorso	78	75
3	Cola	83	80
4	Pata Anterior Derecha	81	78
5	Pata Posterior Derecha	93	83
6	Pata Anterior Izquierda	95	85
7	Pata Posterior Izquierda	84	81
<b>Promedio</b>		<b>84.86</b>	<b>80.14</b>

ANEXO N° 07

**EFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE  
*Otholobium pubescens* (Poirlet) Grimes “culén” (7.0 mg/Kg) EN EL GRUPO  
PREVENTIVO**

GRUPO PREVENTIVO								
N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
	Basal	STZ	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
1	79	259	244	221	207	183	167	151
2	75	267	252	234	216	170	160	149
3	80	281	269	248	224	195	173	158
4	78	263	250	242	218	183	150	137
5	83	229	225	211	201	176	158	143
6	85	253	247	228	209	178	165	141
7	81	276	255	237	226	198	171	156
<b>Promedio</b>	80.14	261.14	248.86	231.57	214.43	183.29	163.43	147.86



ANEXO N° 08

**EFFECTO HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE  
*Otholobium pubescens* (Poiret) Grimes “culén” (7.0 mg/Kg) EN EL GRUPO  
CULÉN**

GRUPO CULÉN								
N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
	Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
1	76	372	365	329	292	273	234	198
2	77	394	388	353	301	267	220	187
3	81	383	379	321	287	261	229	179
4	73	391	386	356	298	259	233	201
5	85	376	368	339	289	264	225	181
6	80	373	366	327	290	278	230	191
7	88	379	370	321	283	256	222	177
<b>Promedio</b>	<b>80.00</b>	<b>381.14</b>	<b>374.57</b>	<b>335.14</b>	<b>291.43</b>	<b>265.43</b>	<b>227.57</b>	<b>187.71</b>

ANEXO N° 09

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE EN EL GRUPO METFORMINA

(850mg)

GRUPO METFORMINA								
N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
	Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
1	80	393	269	171	154	120	101	99
2	75	398	254	168	150	128	100	85
3	87	387	251	170	161	119	99	81
4	78	379	263	179	149	117	105	101
5	79	388	270	173	155	125	109	96
6	77	391	257	162	151	132	97	79
7	84	380	262	171	159	123	102	91
<b>Promedio</b>	<b>80.00</b>	<b>388.00</b>	<b>260.86</b>	<b>170.57</b>	<b>154.14</b>	<b>123.43</b>	<b>101.86</b>	<b>90.29</b>

ANEXO N° 10

EFFECTO HIPOGLICEMIANTE EN EL GRUPO CONTROL

(AGUA DESTILADA)

GRUPO CONTROL								
N° de Ratas	Concentración de Glucosa (mg/dL)							
	Basal	día 0	día 5	día 10	día 15	día 20	día 25	día 30
1	72	387	392	399	404	402	404	401
2	85	399	401	394	395	398	401	410
3	91	374	379	385	388	392	391	406
4	74	391	392	395	393	397	402	398
5	70	396	399	403	400	405	410	407
6	94	383	388	392	394	391	395	401
7	78	371	387	390	389	395	393	399
<b>Promedio</b>	<b>80.57</b>	<b>385.86</b>	<b>391.14</b>	<b>394.00</b>	<b>394.71</b>	<b>397.14</b>	<b>399.43</b>	<b>403.14</b>



ANEXO N° 11

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN DE  
ESTREPTOZOTOCINA A DOSIS DE 50 mg/Kg DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES**

Contraste	Significativo	Diferencia	+/- Límites
Control – Culén		4.714	12.8
Control – Metformina		-2.143	12.8
Control – Preventivo	*	124.721	12.8
Culén – Metformina		-6.857	12.8
Culén – Preventivo	*	120.1	12.8
Metformina – Preventivo	*	126.863	12.8

\* Indica una diferencia significativa.

## ANEXO N° 12

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 5to DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>Contraste</b>	<b>Significativo</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Control – Culén	*	16.57	11.19
Control – Metformina	*	130.3	11.19
Control – Preventivo	*	142.28	11.19
Culén – Metformina	*	113.7	11.19
Culén – Preventivo	*	125.7	11.19
Metformina – Preventivo	*	12.1	11.19

\* Indica una diferencia significativa.

ANEXO N° 13

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 10mo DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>Contraste</b>	<b>Significativo</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Control – Culén	*	58.86	13.05
Control – Metformina	*	223.4	13.05
Control – Preventivo	*	162.43	13.05
Culén – Metformina	*	164.6	13.05
Culén – Preventivo	*	103.6	13.05
Metformina – Preventivo	*	-1.571	13.05

\* Indica una diferencia significativa.



ANEXO N° 14

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 15vo DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>Contraste</b>	<b>Significativo</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Control – Culén	*	103.3	8.527
Control – Metformina	*	240.6	8.527
Control – Preventivo	*	180.3	8.527
Culén – Metformina	*	137.3	8.527
Culén – Preventivo	*	77.1	8.527
Metformina – Preventivo	*	-60.3	8.527

\* Indica una diferencia significativa.

ANEXO N° 15

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 20vo DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

Contraste	Significativo	Diferencia	+/- Límites
Control – Culén	*	131.7	10.04
Control – Metformina	*	273.7	10.04
Control – Preventivo	*	213.9	10.04
Culén – Metformina	*	142.0	10.04
Culén – Preventivo	*	82.1	10.04
Metformina – Preventivo	*	-59.86	10.04

\* Indica una diferencia significativa.

ANEXO N° 16

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 25vo DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>Contraste</b>	<b>Significativo</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Control – Culén	*	171.9	9.321
Control – Metformina	*	297.6	9.321
Control – Preventivo	*	236.3	9.321
Culén – Metformina	*	125.7	9.321
Culén – Preventivo	*	64.14	9.321
Metformina – Preventivo	*	-61.47	9.321

\* Indica una diferencia significativa.



ANEXO N° 17

**COMPARACIÓN ENTRE GRUPOS DE LA CONCENTRACIÓN  
DE GLUCOSA (mg/dL) AL 30vo DÍA DE LOS GRUPOS  
EXPERIMENTALES A DIFERENTES TRATAMIENTOS**

<b>Contraste</b>	<b>Significativo</b>	<b>Diferencia</b>	<b>+/- Límites</b>
Control – Culén	*	215.4	11.43
Control – Metformina	*	312.9	11.43
Control – Preventivo	*	255.3	11.43
Culén – Metformina	*	97.43	11.43
Culén – Preventivo	*	39.6	11.43
Metformina – Preventivo	*	-57.57	11.43

\* Indica una diferencia significativa.

ANEXO N° 18

SÍNTOMAS DE LA DIABETES EXPERIMENTAL EN RATAS



**FIGURA 1.**

Poliuria (aumento de la frecuencia urinaria)



**FIGURA 2.**

Polidipsia (sed exagerada).



**FIGURA 3.**

Polifagia (aumento del apetito)



**FIGURA 4.**

Aumento de peso.

## ANEXO N° 19

### GLUCOMETRO Accu-Chek® Active

Accu-Chek® Active está diseñado para ayudar a controlar la diabetes de una manera rápida, precisa y sencilla.



Glucometro Accu-Chek® Active

➤ **Características del Glucómetro.**

Resultados precisos y rápidos del modo más sencillo

- **Codificación automática:** Insertar un chip hace que las mediciones sean sencillas desde el primer momento.



- **Manejo muy fácil:** Pantalla de gran tamaño, manejo sencillo con sólo dos botones y la posibilidad de aplicar las muestras fuera del medidor.
- **Resultados precisos y rápidos:** El medidor no necesita más de 5 segundos para realizar la medición y proporcionar resultados que se ajustan estupendamente a las mediciones de laboratorio.
- **Detección de muestra demasiado pequeña:** El medidor le avisa si ha aplicado una cantidad demasiado pequeña de sangre en la tira reactiva.
- **Advertencia de caducidad de la tira:** Si está realizando la medición con una tira vencida, el medidor Accu-Chek Active le avisa.

➤ **Especificaciones.**

- **Principio de medición:** Determinación fotométrica de la glucosa mediante tinción de glucosa con oxidorreductasas. (sinónimo: reacción mediante glucosa deshidrogenasa pirrolquinolinaquinona o PQQ)
- **Tiempo de medición:** Aproximadamente 5 segundos (aplicación de sangre con tira reactiva dentro del medidor)  
Aproximadamente 10 segundos (aplicación de sangre con tira reactiva fuera del medidor)
- **Condiciones de medición:** Temperatura: +10°C a +40°C (+50°F a +104°F)
- **Humedad:** hasta 85 % de humedad relativa

- **Condiciones de almacenamiento:**

Sin pila:  $-25^{\circ}\text{C}$  a  $+70^{\circ}\text{C}$  ( $-13^{\circ}\text{F}$  a  $+158^{\circ}\text{F}$ )

Con pila:  $-10^{\circ}\text{C}$  a  $+50^{\circ}\text{C}$  ( $+14^{\circ}\text{F}$  a  $+122^{\circ}\text{F}$ )

- **Detección de muestra demasiado pequeña: Sí**

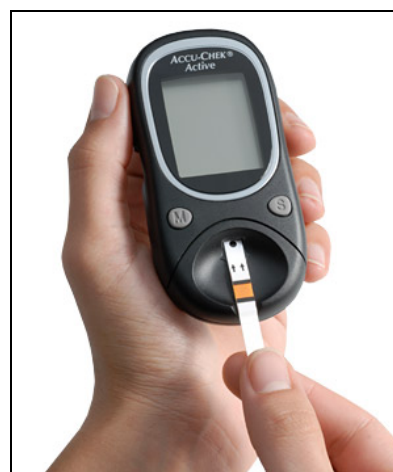
- **Volumen de sangre: 1 - 2  $\mu\text{L}$**

- **Ámbito de medición:**

10 mg/dL – 600 mg/dL o 0,6 mmol/L – 33,3 mmol/L

➤ **Utilización.**

- **Medición:** Saque una tira reactiva del recipiente y ciérrelo inmediatamente. El medidor se enciende automáticamente al insertar la tira reactiva en la ranura de las tiras reactivas siguiendo la dirección marcada por las flechas.



Después de confirmar en la pantalla que el código coincide con el código del recipiente, parpadearán los símbolos de la tira reactiva y la gota de sangre. Aplique una gota de sangre en el centro de la zona naranja y aparte el dedo. Obtendrá sus resultados a los 5 segundos.

El medidor se apaga automáticamente al retirar la tira reactiva.

- **Dosis fuera del medidor:** Cuando aparecen los símbolos parpadeantes de la tira reactiva y la gota de sangre, saque la tira reactiva del medidor. Aplique una gota de sangre sobre ésta y vuelva a introducirla en el medidor en los 20 segundos siguientes.

- **Comprobación visual de fiabilidad de los resultados:** Compruebe el color de la ventana de control circular de la parte trasera de la tira reactiva.

Compare el color de esta ventana con los puntos de color de la etiqueta del envase de las tiras reactivas para comprobar la fiabilidad de los resultados. No obstante, tenga en cuenta que sólo deberían utilizarse los resultados obtenidos por el medidor para tomar decisiones terapéuticas.



## EXACTITUD Y PRECISIÓN DEL SISTEMA

### Accu-Chek® Active

#### I. EXACTITUD

La exactitud del sistema fue evaluada según la norma ISO 15197.

##### Introducción

El objetivo de este estudio fue determinar la exactitud del sistema de medición de la glucemia Accu-Chek Active utilizando un lote de tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active.

##### Método

Se obtuvieron muestras de sangre capilar de pacientes con diagnóstico de diabetes en una clínica externa para pacientes diabéticos. Los resultados se compararon con valores de referencia obtenidos mediante el método de referencia con hexoquinasa.

Las pruebas se realizaron con tiras reactivas Accu-Chek Active para la medición de glucemia. Se asignaron dos medidores de glucemia Accu-Chek Active para las pruebas con un lote de tiras reactivas para medición de glucemia.

En conformidad con la norma ISO, los resultados del medidor de glucemia deben encontrarse dentro de los intervalos que se indican en la siguiente tabla para cada medidor analizado:

% de muestras	Concentración de glucosa (mmol/L)	Concentración de glucosa (mg/dL)
5	< 2,8	< 50
15	≥ 2,8 – 4,3	≥ 50 – 80
20	> 4,3 – 6,7	> 80 – 120
30	> 6,7 – 11,1	>120 – 200
15	> 11,1 – 16,6	> 200 – 300
10	> 16,6 – 22,2	> 300 – 400
5	> 22,2	> 400

Para el análisis de cada medidor de glucemia se utilizaron 100 valores (100 muestras), empleándose 2 medidores.

La concentración de glucosa se alteró artificialmente en el caso de las muestras con menos de 2,8 mmol/L (50 mg/dL) y más de 22,2 mmol/L (400 mg/dL).

### Resultados

El lote de tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active se sometió a un análisis por regresión de Bablok/Passing. En la siguiente tabla se resumen los resultados del análisis para el lote número 228835.

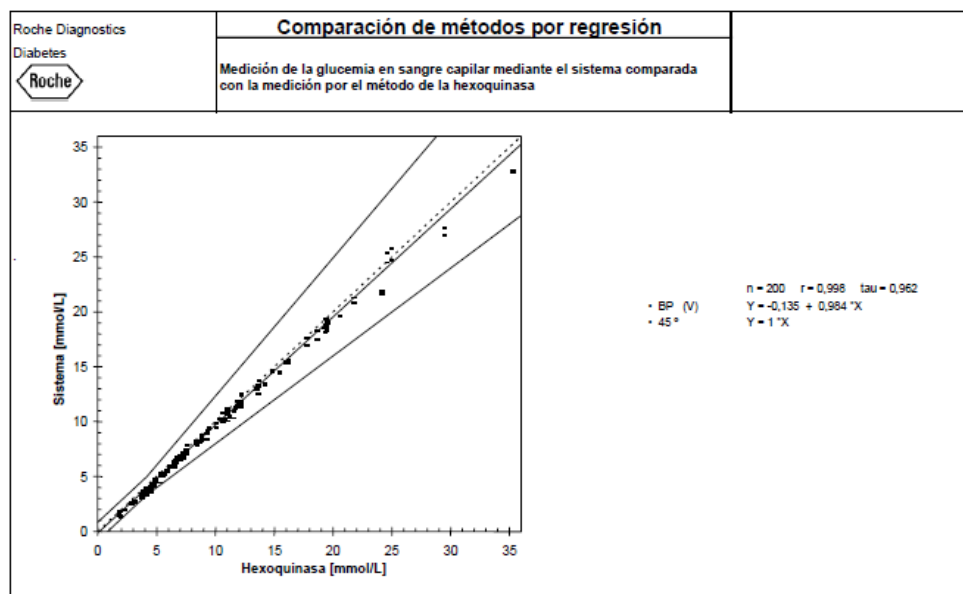
N	Pen- diente	Intersec- ción con el eje y	Correlación	IC de la pendiente	IC. int.
		(mmol/L)			(mmol/L)
200	0,984	-0,135	0,998	(0,974; 0,993)	(-0,202; -0,071)
		(mg/dL)			(mg/dL)
200	0,984	-2,4	0,998	(0,974; 0,993)	(-3,64; -1,28)

Los resultados presentan una correlación excelente, con todos los valores próximos al valor óptimo de 1,000.

La siguiente figura ilustra el gráfico de regresión de Bablok/Passing (BP).

Los datos de sangre capilar del lote de tiras reactivas Accu-Chek Active n° 228835 se sometieron a análisis por regresión de Bablok/Passing. Los resultados se resumen de la siguiente forma: En el sistema para el control de la glucemia Accu-Chek Active, la regresión mostró una pendiente de 0,984 con un intervalo de confianza (IC) del 95 % de (0,974; 0,993). La intersección con el eje de ordenadas está en -0,135 mmol/L (-2,4 mg/dL). Los datos presentados demuestran una correlación excelente con un valor de 0,998, siendo 1,000 el valor óptimo.

No se excluyó ningún dato.



En las siguientes tablas se ilustra la desviación del sistema Accu-Chek Active con el lote de tiras reactivas número 228835.

**Resultados inferiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)**

<b>En el intervalo ± 0,28 mmol/L</b> (en el intervalo ± 5 mg/dL)	<b>En el intervalo ± 0,56 mmol/L</b> (en el intervalo ± 10 mg/dL)	<b>En el intervalo ± 0,83 mmol/L</b> (en el intervalo ± 15 mg/dL)
<b>23 / 34 (68 %)</b>	<b>32 / 34 (94 %)</b>	<b>34 / 34 (100 %)</b>

**Resultados iguales o superiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)**

<b>En el intervalo ± 5 %</b>	<b>En el intervalo ± 10 %</b>	<b>En el intervalo ± 15 %</b>	<b>En el intervalo ± 20 %</b>
<b>116 / 166 (70 %)</b>	<b>160 / 166 (96 %)</b>	<b>164 / 166 (99 %)</b>	<b>166 / 166 (100 %)</b>

La exactitud mínima aceptable para los resultados producidos por un sistema para el control de glucemia debe ser la siguiente:

- El noventa y cinco por ciento (95 %) de los resultados individuales de glucosa deben encontrarse en un intervalo de ± 0,83 mmol/L (15 mg/dL) con respecto a los resultados obtenidos con el procedimiento de medición del fabricante para



concentraciones de glucosa inferiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL) y en un intervalo de  $\pm 20$  % para concentraciones de glucosa iguales o superiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL).

El sistema para el control de la glucemia Accu-Chek Active cumple con los requisitos de exactitud de la norma ISO 15197. La totalidad de las 200 muestras (100 %) se encontró dentro de los criterios mínimos de rendimiento aceptable.

## II. PRECISIÓN INTERMEDIA

### Introducción

El objetivo de este estudio fue determinar la precisión intermedia del sistema de medición de glucemia en sangre Accu-Chek Active mediante un lote de tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active y tres niveles de solución de control Accu-Chek Active.

La precisión intermedia se define como la precisión en condiciones en las que los resultados de la prueba se obtienen con el mismo método, en muestras idénticas y en la misma ubicación, pero en las que difieren otras variables como los operadores, los equipos, la calibración, las condiciones ambientales o los intervalos de tiempo.

### Método

Se asignaron diez medidores de glucemia Accu-Chek Active a este estudio.

Se extrajo de cada tubo una tira reactiva para medición de glucemia y se las colocó en el medidor designado. Se aplicó la dosis adecuada de solución de control sobre las tiras reactivas y se repitió el proceso para cada medidor durante diez días para cada nivel de solución de control asignado.

### Resultados

Para cada solución de control se realizaron a lo largo de diez días diez determinaciones diferentes diarias en diez medidores de glucemia Accu-Chek Active.

Se calculó el valor medio de las 100 determinaciones resultantes, que se muestra a continuación. Se utilizaron métodos no paramétricos para calcular un intervalo de confianza para la desviación estándar (DE) de la media.

En la siguiente tabla se consignan los resultados de precisión intermedia con soluciones de control Accu-Chek Active y tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active:

#### Resultados inferiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)

Nivel de solución de control	Media	DE de la media	Intervalo de confianza del 95 % (DE)
	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)
1	2,8	0,18	(0,16; 0,22)
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
1	51	3,3	(2,9; 3,9)

#### Resultados superiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)

Nivel de solución de control	Media	DE de la media	Intervalo de confianza del 95 % (DE)	CV de la media
	(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	(%)
2	8,6	0,19	(0,17; 0,23)	2,3
3	17,0	0,32	(0,28; 0,37)	1,9
	(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(%)
2	155	3,5	(3,1; 4,1)	2,3
3	306	5,8	(5,1; 6,7)	1,9

### III. REPETIBILIDAD

#### Introducción

El objetivo de este estudio fue determinar la repetibilidad del sistema de medición de la glucemia Accu-Chek Active utilizando un lote de tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active.

La repetibilidad se define como la precisión en condiciones en las que se obtienen resultados de prueba independientes, con el mismo método, en muestras idénticas y en la misma ubicación, con el mismo operador y con los mismos equipos, en un intervalo corto de tiempo.

#### Método

Se asignaron diez medidores de glucemia Accu-Chek Active a este estudio. Se ensayó un lote de tiras reactivas para medición de glucemia Accu-Chek Active.

Se permitió la degradación de la glucosa en una muestra de sangre venosa y se agregó solución de glucosa concentrada a esta muestra de sangre para obtener diferentes concentraciones de glucosa en sangre. Una vez estabilizada la muestra de sangre manipulada, se realizaron pruebas en cada uno de los diez medidores de glucemia y se registraron los resultados. Todas las pruebas de sangre se realizaron en un mismo día.

Se aplicó la dosis adecuada de sangre sobre las tiras reactivas y se repitió el proceso diez veces para cada medidor y para cada nivel asignado de sangre venosa con adición de solución de glucosa ( $n = 100$ ).

#### Resultados

En la siguiente tabla se indican los resultados de repetibilidad con sangre venosa manipulada:



**Resultados inferiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)**

Media	DE de la media	Intervalo de confianza del 95 % (DE)
(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)
2,2	0,14	(0,12; 0,16)
(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)
39	2,5	(2,2; 2,9)

**Resultados superiores a 4,2 mmol/L (75 mg/dL)**

Media	DE de la media	Intervalo de confianza del 95 % (DE)	CV de la media
(mmol/L)	(mmol/L)	(mmol/L)	(%)
4,6	0,17	(0,14; 0,19)	3,6
7,9	0,18	(0,15; 0,21)	2,3
9,7	0,19	(0,17; 0,22)	1,9
17,9	0,28	(0,24; 0,33)	1,6
(mg/dL)	(mg/dL)	(mg/dL)	(%)
82	3,0	(2,6; 3,5)	3,6
142	3,2	(2,8; 3,8)	2,3
175	3,4	(3,0; 3,9)	1,9
323	5,0	(4,4 ; 5,9)	1,6

**IV. CONCLUSIÓN**

- El sistema Accu-Chek Active cumple con el requisito de exactitud de la norma ISO 15197.

ACCU-CHEK y ACCU-CHEK ACTIVE son marcas de fábrica de Roche.