



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO
ACUOSO DE SEMILLAS DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES
(*Mus musculus*) CON HIPERGLICEMIA INDUCIDA”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

SILVIA ALEXANDRA REINOSO ORTIZ

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A mi Dios a quien le debo todo lo que soy.

A mi madre Janeth, por su dedicación, fortaleza y amor incondicional, porque siempre me ha brindado su confianza.

A mi padre Holguer, quien sin darme la vida supo ser el mejor de los padres, brindándome todo su apoyo, amor, y cariño desinteresado.

A mi gran amor Alexander Salas quien me ha acompañado durante todo mi carrera, con su gran apoyo y amor incondicional, gracias por ser esa luz especial que llegó a iluminar mi vida.

A Pily, Jessy y Gaia quienes son mi motivación y razón para seguir adelante.

Para ustedes la presente tesis con todo mi amor.

AGRADECIMIENTO

A Dios, quien me dio la dicha de estar en este mundo y poner en mi vida personas valiosas que han sido mi inspiración y motivadores para poder cumplir mis sueños.

Especialmente agradezco a mi madre, a mi Abuelita Mariana Ortiz por el gran apoyo durante toda mi vida. Y a Ti Pilita adorada por que sin tu ayuda nada de esto hubiese sido posible.

Mi sincero agradecimiento a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, por su acogida y conocimientos brindados.

Al BQF. Fausto Contero por su gran ayuda y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis.

Al Dr. Francisco Portero Miembro del Tribunal de Tesis por el aporte brindado en la elaboración del presente trabajo.

A mi gran amiga Mary Quito por su gran ayuda y amistad sincera.

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación. Gracias de todo corazón.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE SEMILLAS DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES (*Mus musculus*) CON HIPERGLICEMIA INDUCIDA**”, de responsabilidad de la señorita egresada Silvia Alexandra Reinoso Ortiz ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dr. Silvio Álvarez DECANO FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dr. Iván Ramos DIRECTOR DE ESCUELA	_____	_____
BQF. Fausto Contero DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Francisco Portero MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Tc. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Silvia Alexandra Reinoso Ortiz, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

SILVIA ALEXANDRA REINOSO ORTIZ

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ADA	Asociación Americana de Diabetes
ALAD	Asociación Latinoamericana de Diabetes
B	Blanco
C1	Control negativo
C2	Control positivo
DM	Diabetes Mellitus
DM1	Diabetes Mellitus Tipo 1
DM2	Diabetes Mellitus Tipo 2
FED	Fundación Ecuatoriana de Diabetes
G	Gauge
GB	Glucosa basal
°C	Grados Celsius
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
IMC	Índice de masa corporal
HDL	Lipoproteína de alta densidad
mg/dL	Miligramo/ decilitro
Min.	Minuto
mmHg	Milímetro de mercurio
PP	Polipéptido pancreático
%	Porcentaje
%Ci	Porcentaje de cenizas insolubles en HCl
% Ca	Porcentaje de cenizas solubles en agua
% C	Porcentaje de cenizas totales
%H	Porcentaje de humedad
PTGO	Prueba de tolerancia oral a la glucosa
SEE	Sociedad Ecuatoriana de Endocrinología
T1	Tratamiento 1
T2	Tratamiento 2
T3	Tratamiento 3
Uv	Ultra violeta

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Diabetes Mellitus.....	1
1.1.1 Clasificación de la diabetes.....	1
1.1.2 Síntomas de diabetes mellitus.....	6
1.1.3 Diagnóstico.....	7
1.1.4 Tratamiento de la diabetes mellitus.....	10
1.2 Regulación de la glucemia.....	14
1.2.1 Glucemia.....	15
1.2.2 Glucosa.....	16
1.2.3 Órganos Involucrados en la regularizacion de glucosa.....	16
1.2.4 Insulina.....	17
1.2.5 Glucagón.....	18
1.2.6 Transtornos de glucemia.....	18
1.3 Medicina Natural.....	19
1.3.1 Ventajas y desventajas.....	21
1.3.2 Fitoterapia.....	22
1.3.3 Fitofarmacología.....	22
1.3.4 Extractos Vegetales.....	23
1.3.5 Drogas Vegetales.....	23
1.3.6 Riesgo de su uso.....	24
1.4 Alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>).....	24
1.4.1 Clasificación Científica.....	25
1.4.2 Descripción Botánica.....	26
1.4.3 Composición Química.....	26
1.4.4 Usos.....	27
1.4.5 Usos Medicinales.....	27
1.4.6 Modo de Administración.....	28
1.4.7 Actividades Terapéuticas.....	28
1.4.8 Efectos Adversos Y Toxicidad.....	28
1.4.9 Alpiste Para El Consumo Humano.....	29
1.5 Ratón De Laboratorio.....	29
1.5.1 Taxonomía.....	30
1.5.2 Ceba.....	30

1.5.3 Ventajas y desventajas de su uso como animal de laboratorio	31
1.5.4 Características generales del ratón	31
1.5.5 Comportamiento del ratón	32
1.5.6 Macro y micro ambiente	33
1.5.7 Vías De Administración	38
1.5.8 Vías De Extracción De Sangre En Animales De Experimentación	39
2. PARTE EXPERIMENTAL	42
2.1 Lugar de investigación.....	42
2.2 Factores de estudio	42
2.3 Materiales, equipos, reactivos	42
2.3.1 Material Biológico.....	42
2.3.2 Material Vegetal.....	43
2.3.3 Materiales de laboratorio	43
2.3.4 Equipos	44
2.3.5 Reactivos.....	44
2.4 Técnicas	45
2.4.1 Control de calidad materia prima	45
2.4.2 Obtención del extracto acuoso de Alpiste (<i>Phalaris Canariensis</i>).	48
2.4.3 Determinación de propiedades organolépticas del extracto.....	48
2.4.4 Determinación de propiedades físico-químicas del extracto.	49
2.4.5 Tamizaje Fitoquímico.....	52
2.5 Metodología	56
2.5.1 Fase De Campo	56
2.5.2 Fase Experimental	56
2.5.3 Determinación de la actividad hipoglucemiante	56
2.5.4 Determinación de la actividad toxicológica.....	58
2.5.5 Diseño Experimental	58
2.5.6 Análisis Estadístico	59
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	60
3.1 Control de calidad de la droga cruda Alpiste (<i>Phalaris Canariensis</i>).....	60
3.1.1 Determinación de humedad y cenizas	60
3.2 Control de calidad del extracto acuoso.....	61
3.2.1 Descripción organoléptica	61
3.2.2 Determinación de parámetros físicos	62
3.2.3 Análisis Microbiológico	62
3.3 Tamizaje Fitoquímico.....	63
3.4 Actividad hipoglucemina del extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>).64	
3.4.1 Análisis estadístico de glucosa con respecto a los diferentes Tratamientos aplicados extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris Canariensis</i>)......	68
3.4.2 Determinación de peso inicial y final de todos los grupos de estudio.....	71
4. CONCLUSIONES	74
5. RECOMENDACIONES	76
6. RESUMEN	77
7. BIBLIOGRAFÍA	79

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1.	Tratamientos y parámetros considerados en el estudio de evaluación de actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo del 2012.....	57
CUADRO N° 2.	Humedad y cenizas de la semilla de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) utilizada como materia prima. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero del 2012.....	60
CUADRO N° 3.	Descripción organoléptica del extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero del 2012.....	61
CUADRO N° 4.	Determinación de los parámetros físicos del extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero del 2012.....	62
CUADRO N° 5.	Determinación del número de microorganismos aerobios mesófilos y coliformes totales existentes en el extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Laboratorio de Microbiología. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	62
CUADRO N° 6	Determinación de <i>Aspergillus</i> existentes en la semilla de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Laboratorio de Microbiología. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	63
CUADRO N° 7	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero 2012.....	63
CUADRO N° 8	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al grupo blanco para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	65
CUADRO N° 9	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al control negativo para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo del 2012.....	65
CUADRO N° 10	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al grupo C2 (medicamento comercial EUGLUCON) para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo del 2012.....	66

CUADRO N°11	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al grupo T1 (extracto de alpiste al 100%) para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencia. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	66
CUADRO N°12	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al grupo T2 (extracto de alpiste al 70%) para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencia. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	67
CUADRO N° 13	Resultados de glicemias en mg/dl tomados al grupo T3 (extracto de al 30%) para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>) en ratones. Bioterio. Facultad de Ciencia. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	67
CUADRO N° 14	Resultados de Anova.....	69
CUADRO N° 15	Comparaciones múltiples entre grupos homogéneos.....	70
CUADRO N° 16	Diferencia de peso durante 15 días de los grupos de estudio. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo-Abril 2012.....	71
CUADRO N° 17	Protocolo farmacológico del estudio de toxicidad aguda del extracto de alpiste al 100, 70 y 30 % (<i>Phalaris canariensis</i>). Bioterio. Facultad de Ciencias. Espoch. Riobamba. Abril 2012.....	72
CUADRO N°18	Resultados Histopatológicos de la toxicidad aguda del Extracto de Alpiste al 100, 70 Y 30 % (<i>Phalaris canariensis</i>). Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	72
CUADRO N°19	Resultados de glicemias de todos los grupos para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril del 2012.....	99
CUADRO N°20	Pesos de ratones durante 15 días de tratamiento. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Marzo–Abril 2012.....	103

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1.	Clasificación Diabetes Mellitus.....	2
TABLA N° 2.	Ventajas y desventajas de la medicina natural.....	21
TABLA N° 3	Valores típicos de diversos parámetros biológicos del ratón.....	32
TABLA N° 4	Valores promedio de glucemias de los grupos de estudio.....	68

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1.	Esquema del diseño experimental.....	59
GRÁFICO N° 2.	Valores de glicemia de todos los grupos de estudio.....	68
GRÁFICO N° 3.	Diferencia de peso durante 15 días de los grupos de estudio.....	71
GRÁFICO N° 4.	Niveles de glucosa después de la administración de sobrecarga de glucosa. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	99
GRÁFICO N° 5.	Dispersión de datos de los grupos de estudio.....	101
GRÁFICO N° 6.	Medias en función de datos de los grupos de estudio.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1.	Criterios de diagnóstico de diabetes mellitus.....	10
FIGURA N° 2.	Estructura química glibenclamida.....	12
FIGURA N° 3.	Regulación de la glucemia por diferentes mecanismos.....	15
FIGURA N° 4.	Páncreas: islote de langerhans.....	16
FIGURA N° 5.	Planta de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>).....	25

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1.	Ratón de laboratorio.....	30
FOTOGRAFÍA N° 2.	Microambiente: lecho del ratón.....	35
FOTOGRAFÍA N° 3.	Vena safena del ratón.....	41
FOTOGRAFÍA N° 4.	Semilla y extracto de alpiste.	89
FOTOGRAFÍA N° 5.	Determinación del contenido de humedad de la semilla de alpiste	90
FOTOGRAFÍA N° 6	Determinación de cenizas totales e insolubles de la semilla de alpiste.....	90
FOTOGRAFÍA N° 7	Ensayos de identificación metabolitos secundarios del extracto acuoso de alpiste.....	90
FOTOGRAFÍA N° 8	<i>Rizophus</i>	91
FOTOGRAFÍA N° 9	Hábitat de los animales de experimentación.....	91
FOTOGRAFÍA N° 10	Manipulación y toma de peso de los animales de experimentación.	91
FOTOGRAFÍA N°11	Materiales y administración de extracto al 100%.....	92
FOTOGRAFÍA N°12	Toma de muestra y lectura de glicemia.	92
FOTOGRAFÍA N° 13	Anatomía interna del ratón.....	93
FOTOGRAFÍA N° 14	Órganos para el estudio histopatológico. (Hígado, riñones).....	93
FOTOGRAFÍA N° 15	Cortes histológicos de hígado y riñones.....	94
FOTOGRAFÍA N° 16	Placas de hígado y riñones para el estudio histopatológico.	94

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1.	Materia prima utilizada en la preparación del extracto acuoso de alpiste. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero 2012.....	89
ANEXO N° 2.	Determinación del contenido de humedad y cenizas de alpiste. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero 2012.....	89
ANEXO N° 3.	Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso de alpiste. Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Febrero 2012.....	90
ANEXO N° 4.	Estudio microbiológico de la semilla de alpiste. Laboratorio de Microbiología. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	91
ANEXO N° 5.	Ambientación del material biológico para el estudio de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de alpiste. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	91
ANEXO N° 6	Administración de sustancias para la evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de alpiste. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	92
ANEXO N° 7	Toma y lectura de muestras de sangre para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de alpiste. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo-Abril 2012.....	92
ANEXO N° 8	Estudio toxicológico del extracto acuoso de alpiste. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Abril 2012.....	93
ANEXO N° 9	Resultados del estudio histopatológico. Abril 2012.....	95
ANEXO N°10	Resultados del estudio microbiológico de la semilla de alpiste. Abril 2012.....	96
ANEXO N°11	Determinación de tiempos para toma de muestras. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo 2012.....	98
ANEXO N°12	Resultados de glicemias de todos los grupos para la evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto de alpiste (<i>Phalaris canariensis</i>). Bioterio. Facultad de Ciencia. ESPOCH. Riobamba. Marzo del 2012.....	99
ANEXO N°13	Resultado Estadístico: Anova un factor homocedasticidad.....	100
ANEXO N°14	Resultado estadístico: Anova dos factores.....	100
ANEXO N°15	Resultado estadístico: Anova dos factores. Media e I.C.....	102
ANEXO N°16	Pesos de ratones durante 15 días de tratamiento. Bioterio. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Riobamba. Marzo–Abril 2012.....	103

INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica que aparece cuando el páncreas no produce suficiente cantidad de la hormona que regula el azúcar en la sangre llamada insulina o cuando el organismo no utiliza eficazmente la insulina que produce. El efecto de la diabetes no controlada es la hiperglucemia, que con el tiempo daña gravemente muchos órganos y sistemas, especialmente los nervios y los vasos sanguíneos. (3)(35)

Al año 2000, se estimó que más de 35 millones de personas sufren de diabetes mellitus en nuestro continente. El 54% corresponde a América Latina y el Caribe, con una proyección de 64 millones al 2025. (Barceló A y Rajpathak S 2001). Dicha enfermedad constituye la segunda causa de morbi-mortalidad en el mundo, y en el Ecuador ocupa el sexto lugar. Datos proporcionados por la Fundación Ecuatoriana de Diabetes (FED) estima que en el país únicamente el 20% de pacientes está diagnosticado y el 90% de ellos recibe tratamiento. (2)

Las medidas preventivas y el uso de fármacos dirigidos a reducir la glucemia, es de suma importancia, éstos deben presentar pocos efectos adversos. En este sentido, el empleo de fitoterapia en el tratamiento de la diabetes puede ser de utilidad en combinación con la terapéutica convencional, pues hay plantas medicinales con actividad hipoglicémica, comprobada, eficaces y con una baja incidencia de efectos adversos en tratamientos. (2)(35)

La semilla del alpiste (*Phalaris canariensis*) es originaria en España y Marruecos, Canadá y Australia, pero que ha sido introducida en países latinoamericanos. Su uso común es como alimentos para pájaros, pero popularmente se le atribuye distintas propiedades medicinales, esta pequeña planta que apenas sobrepasa el metro de altura, y de las que se utilizan sus semillas, frutos o granos, es alabada por ayudar a combatir la diabetes, ya que sirve para un mejor flujo sanguíneo en sus pacientes, esto es debido a los ácidos grasos de tipo Omega 3 que contiene. En cuanto a obesidad se refiere, a esta planta se le atribuyen funciones de metabolismo importantes, aparte de contrarrestar el

sobrepeso (directamente asociado a la diabetes). Además el alpiste también sirve para otras condiciones como cirrosis, cistitis, reductor de lípidos grasos en la sangre. (29)(40)(46)

Estas propiedades están atribuidas por su composición, que está conformada de proteínas, que trabajarían sobre diferentes áreas del sistema digestivo. Además, la semilla del alpiste contiene fibra, que facilitan los procesos digestivos. Por otra parte, el alpiste posee entre sus componentes, ácidos salicílico y oxálico. (46) (47)

La presente Tesis tiene como objetivo comprobar y documentar la actividad hipoglicemiante de la semilla de alpiste y dar a conocer los metabolitos secundarios que se encuentran en el extracto acuoso para su potencial aplicación en el tratamiento de la diabetes.

Esta Tesis fue ejecutada en el Laboratorio de Productos Naturales de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, se utilizó un extracto acuoso de la semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*), y se realizaron ensayos in vivo para *Mus musculus*, con tres dosis diferentes y evaluando la actividad hipoglicemiante utilizando sobrecarga de sacarosa.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) es un conjunto de trastornos metabólicos, que afecta a diferentes órganos y tejidos, dura toda la vida y se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en la sangre. La causan varios trastornos, siendo el principal la baja producción de la hormona insulina, secretada por las células β de los Islotes de Langerhans del páncreas endócrino, o por su inadecuado uso por parte del cuerpo, que repercutirá en el metabolismo de los carbohidratos, lípidos y proteínas. El origen del nombre es griego y etimológicamente significa dulzura o miel (mellitus) que pasa a través (diabetes). (1)(2)(3)

La Diabetes Mellitus (DM) es una de las enfermedades no transmisibles más comunes a escala mundial se considera como una epidemia en muchos países desarrollados y recientemente industrializados, especialmente la diabetes tipo II (DM2), que se ha constituido en un problema de salud pública y de alto costo, se ha incrementado considerablemente en los últimos años, ocupando uno de los diez primeros lugares como causa de consulta médica y hospitalización a nivel mundial. Para el año 2000, se estimó que alrededor de 171 millones de personas eran diabéticos en el mundo y que llegarán a 370 millones en 2030. (1)(3)

1.1.1 CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES

La clasificación propuesta por el Comité de Expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA), por el Comité Asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y acogida por la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD) y por la Sociedad

Ecuatoriana de Endocrinología (SEE), se basa en su etiología y características fisiopatológicas. (Tabla N°1) (3)

TABLA N° 1. CLASIFICACIÓN DIABETES MELLITUS.

CLASIFICACIÓN DE LA DIABETES MELLITUS

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none">1. Diabetes mellitus tipo 1<ul style="list-style-type: none">A. AutoinmuneB. Idiopática2. Diabetes mellitus tipo 2<ul style="list-style-type: none">1. Predomina la resistencia a la insulina sobre los defectos relativos en la secreción de la hormona2. Predominan los defectos en la secreción de insulina frente a la presencia de resistencia a la insulina3. Otros tipos específicos de diabetes mellitus<ul style="list-style-type: none">A. Defectos genéticos de la función de la célula β<ul style="list-style-type: none">1. Cromosoma 12, HNF-1α (MODY 3)2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 2)3. Cromosoma 20, HNF-4α (MODY 1)4. ADN mitocondrial5. OtrosB. Defectos genéticos en la acción de la insulina<ul style="list-style-type: none">1. Resistencia a la insulina tipo A2. Leprechaunismo3. Síndrome de Rabson-Mendenhall4. Diabetes lipotrófica5. OtrosC. Enfermedades del páncreas exocrino<ul style="list-style-type: none">1. Pancreatitis2. Pancreatectomía/traumatismo3. Neoplasia4. Fibrosis quística5. Hemocromatosis6. Pancreatopatía fibrocalcúlosa7. OtrasD. Endocrinopatías<ul style="list-style-type: none">1. Acromegalia2. Síndrome de Cushing3. Glucagonoma4. Feocromocitoma5. Hipertiroidismo6. Somatostatinaoma7. Aldosteronoma8. Otras | <ul style="list-style-type: none">E. Inducidas por fármacos o sustancias químicas<ul style="list-style-type: none">1. Vacor2. Pentamidina3. Ácido nicotínico4. Glucocorticoides5. Hormonas tiroideas6. Diazóxido7. Agonistas β adrenérgicos8. Tiazidas9. Dilantin10. Interferón α11. OtrosF. Infecciones<ul style="list-style-type: none">1. Rubéola congénita2. Citomegalovirus3. OtrasG. Formas infrecuentes de diabetes autoinmunes<ul style="list-style-type: none">1. Síndrome del hombre rígido (Stiff-man syndr)2. Anticuerpos contra el receptor de la insulina3. OtrasH. Otros síndromes en ocasiones asociados a diab<ul style="list-style-type: none">1. Síndrome de Down2. Síndrome de Klinefelter3. Síndrome de Turner4. Síndrome de Wolfram5. Ataxia de Friedreich6. Corea de Huntington7. Síndrome de Lawrence-Moon-Biedel8. Distrofia miotónica9. Porfiria10. Síndrome de Prader-Willi11. Otros <p>4. Diabetes mellitus gestacional</p> |
|---|---|

FUENTE: AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 1997

1.1.1.1 Diabetes Tipo 1

Es una enfermedad autoinmune, que requiere para su control de la administración diaria de insulina. Se presenta generalmente en forma brusca, y con mayor frecuencia en niños y adultos jóvenes. Se produce porque las células del páncreas encargadas de fabricar insulina, llamadas células B (células beta β), detienen su trabajo o producen

cantidades insuficientes de esta hormona. Esto lleva a que la glucosa en la sangre o glucemia, aumente a valores anormales, llegando a hiperglucemia. En la clasificación actual la DM1 se subdivide en dos subtipos, a saber, la DM1 A o autoinmune y DM1 B o idiopática. (36)(35)

Diabetes Mellitus tipo 1^a

Aproximadamente uno de cada 10 pacientes con diabetes presenta este tipo de DM. El pico de nuevos casos se produce entre los 10-12 años, aunque la mitad de los mismos se diagnostican en pacientes mayores de 15 años. (51)

Es una enfermedad inmunoinflamatoria crónica en la que existe una destrucción selectiva de las células β del páncreas mediada por linfocitos T activado. En ella, y tras un período pre clínico de duración variable, en el que el paciente permanece asintomático, cuando la masa de células productoras de insulina llega a un valor crítico el paciente presenta la sintomatología clásica generada por la insulinopenia y la hiperglucemia y una irrefenable tendencia a la cetosis si no se instaura tratamiento con insulina exógena. Como en la mayoría de enfermedades autoinmunes, el proceso resulta de la interacción de factores ambientales y genéticos. (36)

Diabetes Mellitus tipo 1B o Idiopática

Se conoce poco de su etiología, evolución y pronóstico. Como contraposición a la DM1 A, describe a aquellos pacientes con insulinopenia inicial, tendencia a la cetosis o cetoacidosis, en los que no se encuentran datos de autoinmunidad. (36)

Cabe señalar que la insulinopenia puede ser fluctuante a lo largo de la enfermedad, pero que en algunas poblaciones (japonesa) puede tener un carácter fulminante. (36)

1.1.1.2 Diabetes Tipo 2

Conocida anteriormente como diabetes no-insulino dependiente es una enfermedad metabólica caracterizada por altos niveles de glucosa en la sangre, debido a una resistencia celular a las acciones de la insulina, combinada con una deficiente secreción de insulina por el páncreas. Se presenta habitualmente en adultos mayores de 40 años con sobrepeso, es la forma más común, ya que el 90% de los diabéticos son no insulino dependiente. (35) (36)

Un paciente puede tener más resistencia a la insulina, mientras que otro puede tener un mayor defecto en la secreción de la hormona y los cuadros clínicos pueden ser severos o bien leves. (36)

En situaciones en las que predomina la resistencia a la insulina, la masa de células β sufre una transformación capaz de aumentar su oferta de insulina y compensar la excesiva y anómala demanda. Sea cual sea el defecto inicial en la patogenia de la DM2, el fracaso de la célula beta pancreática es una condición indispensable en el desarrollo final de la enfermedad y en su presentación clínica. (2) (36)

La deficiente disponibilidad de las funciones de la insulina conlleva a un deficiente metabolismo celular, resultando en un aumento en los ácidos grasos, en los niveles circulantes de triglicéridos y un descenso en la concentración de la lipoproteína de alta densidad (HDL). La hiperglucemia larga causa daños en los nervios, ojos, riñones, corazón y vasos sanguíneos. La cetoacidosis puede ocurrir en estos pacientes como resultado de estrés, como una infección, la administración de ciertos medicamentos como los corticosteroides, deshidratación o deficiente control de la enfermedad. La resistencia a la insulina es un importante contribuyente a la progresión de la enfermedad y las complicaciones de la diabetes. (14) (36)

La diabetes tipo 2 es una enfermedad frecuente y subdiagnosticada que plantea desafíos para su tratamiento. La introducción de nuevos fármacos orales en los últimos tres años ha ampliado la gama de opciones disponibles para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

A pesar de la mayor selección de agentes farmacológicos, es necesario destacar que el tratamiento de primera elección son los enfoques no farmacológicos incluyendo la modificación de la dieta, control de peso y ejercicio regular. Una dieta combinada con ejercicio con el objeto de perder peso logra mejorar significativamente la sensibilidad celular a la insulina incluso antes de llegar al peso ideal. Se ha demostrado que el hacer ejercicio y perder peso en pacientes diabéticos y pre diabéticos reduce su mortalidad y mejora su condición de vida. (1)

1.1.1.3 Diabetes Gestacional

En la segunda mitad de la gestación se requiere un estado fisiológico de resistencia a la insulina para dirigir los nutrientes almacenados en la madre hacia la unidad fetoplacentaria y dar un crecimiento adecuado al feto; sin embargo, cuando las mujeres desarrollan diabetes mellitus gestacional, la resistencia a la insulina es más acentuada, lo cual modifica el medio intrauterino y causa crecimiento acelerado del feto, con riesgo elevado de macrosomía. Aunque existen varios factores que se consideran de riesgo para este trastorno los más importantes son: mayor edad en la madre, familiares de primer grado con diabetes y mayor índice de masa corporal pregestacional. (7)

1.1.1.4 Otros tipos específicos de diabetes mellitus.

Engloba una serie de entidades de fisiopatología muy polimorfa, la manera de presentación de estos tipos de DM variará enormemente dependiendo de la causa subyacente. En la mayoría de ellas, la historia familiar, los antecedentes patológicos acompañantes y de la medicación recibida nos ayudará a su identificación. En su conjunto, corresponden menos del 10% de casos DM. Individualmente, algunas formas son en extremo raras. (36)(35).

1.1.2 SÍNTOMAS DE DIABETES MELLITUS

No todas las personas con diabetes tienen los mismos síntomas de hiperglucemia. En algunas personas los síntomas pueden no ser tan evidentes o el individuo puede no asociarlos con niveles altos de glucemia. Entre los síntomas más comunes tenemos: y la noche. La elevada diuresis nocturna recibe el nombre de nicturia. (22)(51)

1.1.2.1 Poliuria

El aumento exagerado de la diuresis es, quizá, la manifestación clínica más frecuente y precoz. Cuando la hiperglucemia supera el dintel renal para la glucosa (≈ 180 mg/dL), aparece la glucosuria que puede ocasionar pérdidas elevadas de glucosa a través de la orina. Se produce una importante diuresis osmótica (3-4 l/día), con eliminación excesiva de orina de elevada densidad durante el día. (22)

1.1.2.2 Polidipsia

El incremento de sed es un mecanismo para contrarrestar la poliuria y evitar la deshidratación. Puede ser que la intensidad de la poliuria y la polidipsia varíe en relación con el nivel de glucemia, como consecuencia de variaciones en el dintel renal para la glucosa, que suele incrementarse con la edad. Este hecho, contribuye a que estos síntomas puedan pasar desapercibidos. (22)(51)

1.1.2.3 Polifagia

El exceso de apetito de los diabéticos es el reflejo del "hambre" de glucosa que tienen las células y traduce la insuficiente penetración de esta glucosa en los distintos tejidos. Además, la glucosuria implica una pérdida de "energía calórica" en forma de glucosa a través de la orina, que es necesario compensar. (22)(51)

1.1.2.4 Astenia

El cansancio es consecuencia de la alteración del metabolismo de la glucosa a nivel de las células musculares. Además de este déficit de "energía glucosa" en el tejido muscular, el deficiente aprovechamiento de las proteínas y de las grasas, así como la disminución del glucógeno en hígado y músculo, contribuyen al agotamiento progresivo de la persona diabética. (51)

1.1.2.5 Pérdida de peso

El adelgazamiento es también consecuencia de la pérdida de energía mediada por la glucosuria. Pero además, otras manifestaciones de la falta del efecto anabólico de la insulina en los tejidos como la disminución de la lipogénesis y el aumento de la lipólisis en el tejido adiposo, así como la proteólisis aumentada y la disminución de la síntesis de proteínas, colaboran significativamente en la pérdida de peso del diabético. (22)(51)

1.1.3 DIAGNÓSTICO

1.1.3.1 Pesquisa

La glicemia en ayunas en sangre venosa determinada en el laboratorio es el método de elección para hacer pesquisa y diagnosticar DM2 en adultos. Los métodos en sangre capilar son sólo de control, no diagnósticos. (33)

Indicaciones:

- 1) Todo sujeto mayor de 45 años.
- 2) Si la glicemia es normal, (<100 mg/dL.), repetir cada 3 años.
- 3) Menores de 45 años con sobrepeso ($IMC \geq 25$ IMC) con una o más de las siguientes condiciones:
 - Parientes de primer grado diabéticos (padres, hermanos)
 - Mujer con antecedente de recién nacido macrosómico (≥ 4 Kg) o historia de diabetes gestacional.

- Hipertensos ($\geq 140/90$ mmHg)
- HDL. ≤ 35 mg/dL. y/o triglicéridos ≥ 250 mg/dL.
- Examen previo con intolerancia a la glucosa.
- Estados de insulino resistencia. (Síndrome de ovario poliquístico, acantosis nigricans)
- Historia de enfermedad vascular.(28)(33)

Si el resultado de la glicemia en ayunas es ≥ 100 y < 126 mg/dL, efectuar como segundo paso, una nueva glicemia en ayunas. Si este segundo examen continúa dentro de los rangos descritos, se diagnosticará una glicemia alterada en ayunas o pre-diabetes; si es ≥ 126 mg/dL, corresponde realizar una prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO), como se muestra en la Figura N°1.

No existe evidencia que apoye la utilización de hemoglobina glicosilada (HbA1c) ni de insulinemia con fines diagnósticos. (28)(33)

1.1.3.2 Criterios de diagnóstico

El diagnóstico de DM puede establecerse ante las siguientes situaciones:

- 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.
- 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).
- Glicemia mayor o igual a 200 mg/dL. dos horas después de una carga de 75 g de glucosa durante una PTGO. (2)(3)(33)

El diagnóstico de DM debe confirmarse con un segundo examen alterado en un día diferente. (2)(3)

Estados de intolerancia a la glucosa o pre-diabetes

Glicemia en ayunas alterada:

Glicemia en ayunas ≥ 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 ≥ 140 mg/dL y < 200 mg/dL, en 2 días diferentes. (33)

Prueba de tolerancia a la glucosa oral (PTGO):

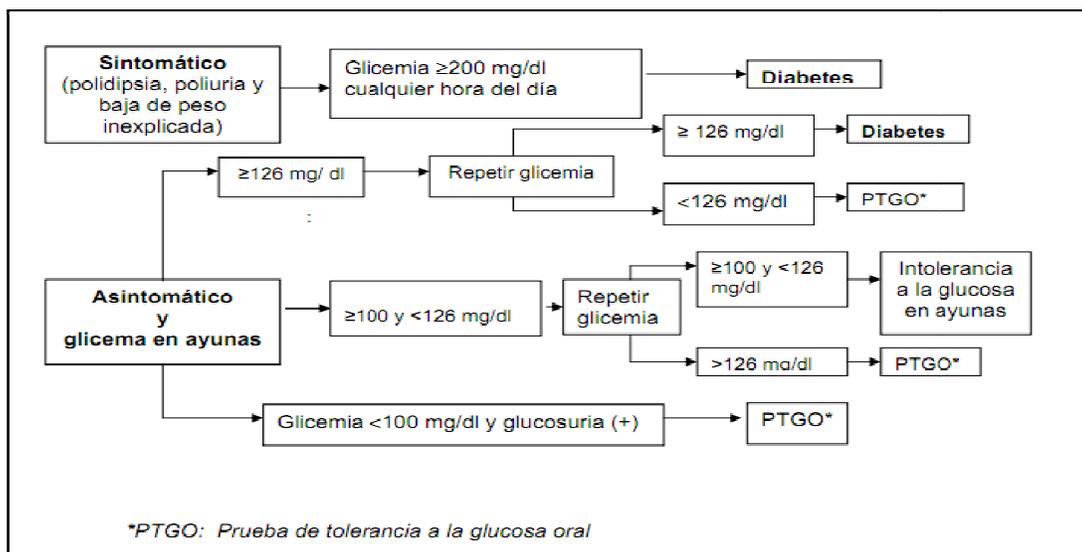
Determinación de una glicemia en ayunas y otra a las 2 horas post carga de 75 g de glucosa. Los 75 g de glucosa se disuelven en 250 mL de agua fría, o 1,75 g de glucosa /kg de peso en niños, hasta un máximo de 75 g. (17)

Condiciones para efectuar la prueba:

- Alimentación previa sin restricciones y actividad física habitual, al menos 3 días previos al examen.
- Suspender drogas hiperglucemiantes (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 (≥ 126 mg/dL). (17)

Criterios diagnósticos con Prueba de Tolerancia a la Glucosa Oral

- Glicemia 2 h post carga < 140 mg/dL: Tolerancia normal a la glucosa
- Glicemia 2 h post carga 140-199 mg/dL: Intolerancia a la glucosa
- Glicemia 2 h post carga ≥ 200 mg/dL: Diabetes (17)(33)



FUENTE: CANADIAN DIABETES ASSOCIATION, 2003.

FIGURA N° 1. CRITERIOS DE DIAGNOSTICO DE DIABETES MELLITUS.

1.1.4 TRATAMIENTO DE LA DIABETES MELLITUS

1.1.4.1 Tratamiento no Farmacológico

El tratamiento no farmacológico de la diabetes mellitus comprende principalmente: un plan de alimentación, ejercicio físico y hábitos saludables; con el objeto de reducir el peso en la diabetes mellitus tipo 2 lo que disminuye la glicemia, el perfil lipídico y la hipertensión arterial incrementando la sensibilidad a la insulina, es decir reduce los factores de riesgo cardiovascular. (3)(22)

1.1.4.2 Tratamiento farmacológico de la Diabetes Mellitus tipo 1

El tratamiento farmacológico para pacientes con diabetes mellitus tipo 1 es la insulina, éste debe ser iniciado tan pronto como se realice el diagnóstico para prevenir la descompensación metabólica y la cetoacidosis, usualmente dentro de las primeras 24 horas si se demuestra cetonuria. (3)(22)

Debido a su estructura proteica, la insulina no puede ser administrada por vía oral ya que se hidroliza en contacto con los jugos gastrointestinales. Además, como

consecuencia de su tamaño molecular, es difícil administrarla convenientemente a través de las mucosas. En general, se administra por vía subcutánea, pero con la insulina regular de acción rápida se pueden utilizar otras vías de administración como la intramuscular, intravenosa e intraperitoneal. (22)

Existe una variedad de preparaciones de insulina que están disponibles actualmente, pero la terapia debe ser individualizada dependiendo de las necesidades específicas de cada paciente. (3)

1.1.4.3. Tratamiento farmacológico de la diabetes mellitus Tipo 2.

El tratamiento farmacológico es complementario y no suplementario a las medidas no farmacológicas y está dirigido a corregir las causas fisiopatológicas de la enfermedad, es decir la insulinoresistencia y la deficiencia de secreción de insulina. (6)

En la actualidad se cuenta con tres grupos de medicamentos orales de diferente mecanismo de acción.

- 1) Drogas insulino-secretoras: sulfonilureas y meglitinidas.
- 2) Drogas insulino-sensibilizadoras: biguanidas y tiazolidinedionas (glitazonas).
- 3) Inhibidores de la absorción intestinal de monosacáridos: inhibidores de las alfa glucosidasas intestinales, Potenciadores de incretina (5)

1) Drogas insulino-secretoras

a) Sulfonilureas

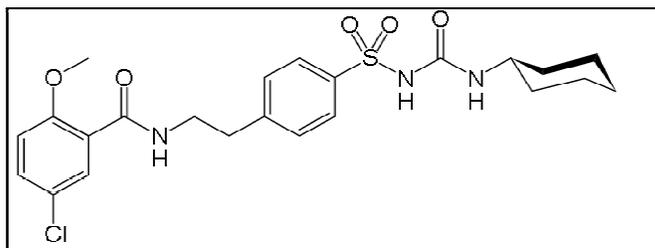
Su mecanismo de acción es complejo y se basa principalmente en el estímulo de la secreción pancreática de insulina, por lo que sólo son eficaces cuando hay secreción endógena de esta hormona. Se recomienda iniciar con dosis bajas, que serán aumentadas paulatinamente según la respuesta observada. (3)

Están principalmente indicados en pacientes diabéticos no obesos, la reacción adversa más frecuente de las sulfonilureas es producir hipoglucemia, que en ocasiones requiere

asistencia médica por coma o convulsiones especialmente en personas mayores a 65 años. (17)

Glibenclamida

La glibenclamida es un medicamento hipoglicemiante oral de la clase de las sulfonilureas.



FUENTE: SELF-MADE BY FVASCONCELLOS.2006

FIGURA Nº 2. ESTRUCTURA QUÍMICA GLIBENCLAMIDA.

Se absorbe rápidamente por vía oral y se une a proteínas plasmáticas. Su vida media es de aproximadamente 5 horas. Su pico máximo se alcanza a las 2 ó 4 horas posteriores a su administración. Han sido identificados dos metabolitos hidroxilados y un tercero no especificado que carecen de actividad hipoglicemiante significativa. Se excreta por la orina, siendo la mitad excretada dentro de las primeras 6 horas y el resto dentro de las siguientes 24 horas. Se excreta también por heces y por bilis. Se utiliza en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Para marzo del año 2007, la glibenclamida era uno de dos hipoglicemiante orales incluidos en la Lista de Medicamentos Esenciales de la OMS.

(38)

Administración y posología: Iniciar con ½ tableta al día antes del desayuno. Aumentar cada vez ½ tableta hasta estabilizar la situación metabólica. Generalmente el efecto máximo se consigue con una dosis diaria de 3 tabletas, pero en algunos casos puede llegarse a las 4 tabletas. (38)

Dosis y vía de administración: El nivel de glucemia fijado como meta en el tratamiento es, en principio, el parámetro que rige la dosis de glibenclamida, que deberá ser la mínima efectiva. El tratamiento con EUGLUCON® sólo deberá ser iniciado bajo

supervisión médica. El paciente deberá tomar la glibenclamida a la hora y en la dosis indicada por el médico; las eventualidades, tales como el olvido de la ingestión de una dosis, no deben ser corregidas ingiriendo una dosis mayor en la siguiente toma. Dosis única diaria: Iniciar, especialmente en pacientes con tendencia a la hipoglucemia o con peso menor de 50 kg con media tableta (2.5 mg), antes del desayuno o de la comida principal. Si los resultados de la prueba de glucemia son satisfactorios, mantener esta dosificación. De no ser así, se incrementará la dosis a razón de $\frac{1}{2}$ en $\frac{1}{2}$ tableta en intervalos de una a dos semanas, bajo monitoreo constante de la glucemia hasta un máximo de 2 tabletas (10 mg) como dosis única diaria. (38).

b) Metiglitinidas

Son fármacos que actúan por estimulación directa de la liberación de insulina principalmente en la primera fase de secreción, por lo que su indicación principal es el control de las hiperglucemias postprandiales. Las reacciones adversas son Hipoglucemias no severas, cefalea, problemas gastrointestinales (diarrea). (3)

2) Drogas insulino-sensibilizadoras

a. Biguanidas

Su primordial mecanismo de acción es inhibir la producción hepática de glucosa, disminuir la glicemia basal, no producen hipoglucemia. La principal indicación es su uso en pacientes con sobrepeso y obesos. (3)

b. Tiazolidinedionas (Glitazonas)

Su valioso modo de acción es influir directamente en los mecanismos intracelulares dando insulinosensibilidad al tejido adiposo, hepático y músculo estriado, potencia la transcripción de los genes que son activados por la insulina, reduciendo el flujo de glucogenólisis, disminuyendo la lipólisis y liberando ácidos grasos no esterificados por lo que el hígado es el principal órgano blanco. Sus reacciones adversas son aumento de peso, anemia por hemodilución y edema. (3)(6)

3) Inhibidores de la absorción intestinal de monosacáridos

a. Potenciadores de Incretina

Actúan aumentando los niveles circulantes de incretinas para reducir la glucosa sanguínea, es una estrategia para el tratamiento de la DM2. (3)

Las incretinas son hormonas glucorreguladoras producidas en el intestino. Desempeñan un papel importante para modular las respuestas de las células de los islotes pancreáticos a la ingestión de alimentos. Las incretinas potencian la secreción de insulina en las células beta del páncreas en respuesta a los niveles elevados de glucosa sanguínea que se presentan después de la ingestión de alimentos. Además de esta función una de las incretinas clave también inhibe la liberación de glucagón en las células alfa del páncreas en condiciones de hiperglucemia. (3)

b. Inhibidores de la Alfa Glucosamida

Su principal mecanismo de acción es retardar la absorción intestinal de glucosa. Las reacciones adversas son fundamentalmente gastrointestinales como dispepsia, flatulencia y diarrea. (3)(6)

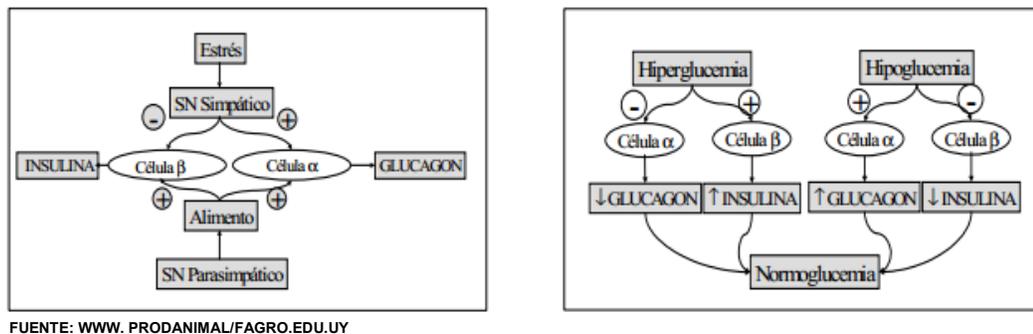
1.2 REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA

En condiciones normales la concentración plasmática de la glucosa se mantiene entre límites estrechos producto del equilibrio entre su ingreso y salida al espacio intravascular, lo que depende en el primero de la absorción intestinal y de su producción endógena, y en el segundo de su nivel de captación por los tejidos. (35)

Una vez ingeridos los alimentos (período postprandial) aumentan los valores de insulina circulante producto de la mayor concentración de glucosa plasmática y a la acción de las incretinas (hormonas intestinales liberadas durante la alimentación). (33) (35)

Después de 4 a 6 horas de la ingestión de alimentos, el metabolismo pasa a una fase de ayuno o catabólica caracterizado por la disminución de la concentración de insulina e incremento de cuatro hormonas llamadas contrarreguladoras de la glucosa:

- 1) Glucagón: secretada por las células de los islotes pancreáticos
- 2) Adrenalina: sintetizada por la médula suprarrenal
- 3) Cortisol: sintetizada en la corteza suprarrenal
- 4) Hormona del crecimiento: hipofisaria. (28)(33)



FUENTE: WWW. PRODANIMAL/FAGRO.EDU.UY

FIGURA N° 3. REGULACIÓN DE LA GLUCEMIA POR DIFERENTES MECANISMOS.

La compleja serie de interacciones que se establecen entre todos estos factores determinará finalmente, los niveles de glucosa en sangre, y es imprescindible que estos niveles no sufran excesivas oscilaciones ni se alejen de unos límites considerados como fisiológicos. En la Figura N° 3. Se intentan resumir algunos de los factores que intervienen en el control de la glucemia.

1.2.1 GLUCEMIA

Es la concentración de glucosa en sangre. Es el resultado neto del equilibrio entre la entrada y salida de glucosa al torrente sanguíneo. (39)

1.2.2 GLUCOSA

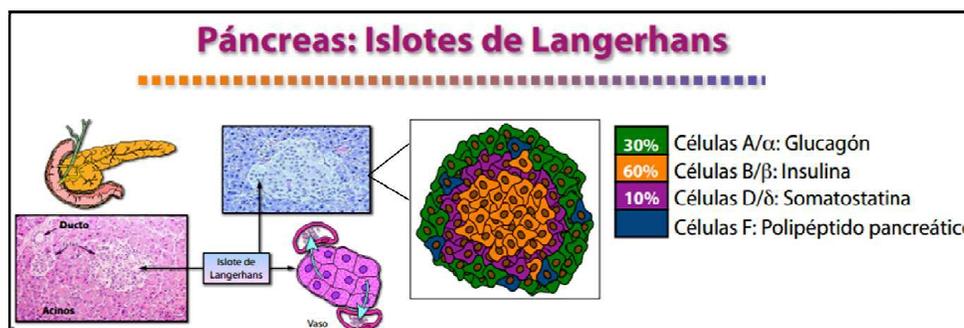
La glucosa es un monosacárido cuya fórmula molecular es $C_6H_{12}O_6$, es la principal fuente de energía para el metabolismo celular. Se obtiene fundamentalmente a través de la alimentación, y se almacena principalmente en el hígado en forma de glucógeno. (41)

La glucosa es el carburante principal del metabolismo energético y fundamental para el tejido nervioso como fuente principal de energía. Los niveles de glucosa en sangre (glucemia) se mantienen dentro de unos límites muy estrechos y constantes gracias, fundamentalmente, a la acción de dos hormonas: la insulina (hipoglicemiante) y el glucagón (hiperglicemiante). Así, tras la ingestión aumenta la glucemia pero, en las personas con un correcto metabolismo hidrocarbonado, estos niveles descienden rápidamente (gracias a la liberación de insulina) de manera que tras 1,5-2 horas la glucemia vuelve al nivel basal. (5)(10)(41)

1.2. 3 ÓRGANOS INVOLUCRADOS EN LA REGULARIZACION DE GLUCOSA

1.2.3.1 Páncreas: Islotes de Langerhans

Son unos acúmulos de células con función netamente endocrina. Forman pequeños racimos o islotes, dispersos por todo el páncreas, aunque abundan más en la cola del páncreas. Los islotes de Langerhans del páncreas están formados por grupos celulares situados entre las masas glandulares exocrinas. (45)



FUENTE: WWW. PRODANIMAL/FAGRO.EDU.UY

FIGURA Nº 4. PÁNCREAS: ISLOTE DE LANGERHANS.

Producen al menos cuatro tipos de secreciones endocrinas y están inervados por fibras simpáticas y parasimpáticas que regulan esta secreción. Las células α producen glucagón y constituyen entre un 20 y un 30% del total de células de los islotes. Las células β , productoras de insulina, representan entre el 40 y el 60% de la masa celular. Las células δ producen somatostatina y, al igual que las células F productoras de polipéptido pancreático (PP), no son más del 5-15% del conjunto de células de los islotes. (9)(45)

1.2.4 INSULINA

Es una hormona polipeptídica formada por 52 aminoácidos, producida y secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas (45) La síntesis de insulina en las células β de los islotes pancreáticos ocurre en los ribosomas en forma de pre-pro-insulina. Al igual que en el caso de otras hormonas peptídicas, la molécula final activa es almacenada, tras sucesivos cambios en su recorrido a través del retículo endoplasmático, en los gránulos del aparato de Golgi, formando un complejo insoluble con el zinc. (9)(45)

Las funciones de la insulina son muy variadas. Aunque las más conocidas se relacionan con el metabolismo de los carbohidratos, no son de menor importancia las que ejerce sobre el metabolismo lipídico o el de las proteínas. En general, la insulina es una hormona que estimula los procesos anabólicos e inhibe los catabólicos. A corto plazo aumenta la oferta de sustratos en el interior celular para el almacenamiento de energía y a medio plazo provoca un incremento de las actividades enzimáticas relacionadas con la formación de reservas energéticas.

1.2.4.1 Efectos de la insulina

Sobre el metabolismo de los hidratos de carbono, la insulina aumenta el transporte de glucosa a través de la membrana plasmática de las células en la mayoría de los tejidos, excepto en el cerebro (excluyendo el centro de la saciedad hipotalámico), los túbulos renales, la mucosa intestinal, las propias células β pancreáticas y los eritrocitos. En el

hígado, la insulina estimula la síntesis de glucógeno inhibiendo la gluconeogénesis y la glucogenólisis. Es, por lo tanto, una hormona hipoglicemiante. (39)(45)

1.2.5 GLUCAGÓN

El glucagón está formado por una cadena polipéptica de 29 aminoácidos carente de puentes disulfuro. Se sintetiza, al igual que la insulina en forma de pre-pro-glucagón, en este caso en las células α de los islotes pancreáticos.

Las funciones del glucagón sobre el metabolismo de los carbohidratos son opuestas a las de la insulina. Básicamente, el glucagón estimula la glucogenolisis en el hepatocito y la gluconeogénesis, siendo por tanto una hormona hiperglicemiante. (39) (45)

1.2.6 TRANSTORNOS DE GLUCEMIA

1.2.6.1 Hipoglucemia

Se produce cuando los niveles de glucosa en sangre por debajo de lo normal. Algunos de los indicios de la hipoglucemia son: temblores, mareos, sudoraciones, dolores de cabeza, palidez, cambios repentinos en estados de ánimo, entre otros. (41)

Etiología

Las causas más comunes de hipoglucemia son la sobredosis de insulina y de hipoglicemiante orales. Sin embargo, puede ser producto de diversas causas como:

- Comer muy poca comida
- Comer más tarde que lo habitual
- Consumir alcohol sin comer alimentos
- Periodos de ejercicio prolongados o actividad física extenuante
- Ingerir demasiadas pastillas reguladoras de la glucosa o inyectarse demasiada insulina (41)

1.2.6.2 Hiperglucemia

Se define como el aumento de glucosa en sangre venosa y arterial. Algunos síntomas incluyen aumento de sed, de hambre, respiración acelerada, náusea o vómito, visión borrosa y resequeidad de la boca. (41)

Etiología

Las causas más comunes de hiperglucemia son:

- Comer mucha comida o juntar demasiado
- las ingestas
- Enfermedad
- Olvidarse de tomar la medicina para la
- diabetes o la insulina
- No tomar la cantidad correcta de medicina o de insulina
- No hacer la cantidad de ejercicio habitual
- Estrés. (41)

1.3 MEDICINA NATURAL

El concepto de medicina tradicional es una nominación convencional adoptada recientemente por investigadores de los procesos de salud-enfermedad para referirse a los sistemas médicos empíricos, organizados y fundamentados en las diversas culturas del mundo. Aunque existen generalidades compartidas, cada sociedad ha elaborado un sistema terapéutico complejo que engloba concepciones ideológicas y prácticas terapéuticas, al igual que el desarrollo de especialistas que saben cómo aplicarlas. (9)(26). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) el término usado se refiere tanto a los sistemas de medicina tradicional como a las diversas formas de medicina indígena. Esta práctica está reconocida de manera académica en algunos países.

Aunque se dice medicina natural para distinguirla de la medicina reglada, muchos preparados naturales utilizados en la medicina natural, como los usos en fitoterapia contienen el mismo principio activo o fármaco que los usados en la medicina

convencional, pero preparados al margen de los procedimientos industriales, empleando formas tradicionales como la maceración, la infusión o la cocción.(26)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha promovido la utilización de todos los recursos existentes sin discriminaciones ideológicas ni políticas reconsiderando la potencialidad, eficacia y aceptación de las medicinas tradicionales en las culturas populares. Con el objeto de contribuir a mantener la salud para todos los hombres, la OMS recomienda establecer puentes de colaboración entre los diferentes sistemas médicos. (16)

Parte importante del patrimonio cultural de cada pueblo es este desarrollo cognoscitivo, y a partir de él se han conformado sistemas médicos empíricos teniendo como base la apropiación y uso de los recursos naturales del entorno biótico. (48)

No importa el nivel de desarrollo que posea, ni la región en que se desenvuelva, la medicina natural es inherente a cada población y cultura, lo que le da características propias, que son:

1. Distribución mundial
2. Prácticas basadas en creencias
3. Uso actual vigente
4. Tradición cultural oral y escrita.
5. Transferencia de generación en generación
6. Difícil transferencia entre culturas diferentes.
7. Remedios confiables y seguros.
8. Bajo costo. (48)

Los conocimientos se han transmitido de generación en generación para preservar la vida y permitir la reproducción y florecimiento de la propia cultura. Miles de años de observación y experimentación empírica han sido necesarios para la evolución de los diversos sistemas médicos empíricos alrededor del mundo, de las concepciones que los fundamentan, así como del conocimiento de plantas, animales y minerales que

constituyen los nichos ecológicos. Se han seleccionado los elementos útiles con potencialidades curativas y elaborando taxonomías y diferentes tratamientos para las necesidades de salud que afrontan las sociedades. (30)(48)

Las principales estrategias desarrolladas para lograr esta meta han sido las investigaciones de las plantas medicinales, para conseguir una validación científica de los tratamientos herbolarios, y la movilización y capacitación de los recursos humanos de la medicina tradicional para así aprovechar mejor sus propiedades en beneficio de la salud a bajos costos. (48)

1.3.1 VENTAJAS Y DESVENTAJAS

La medicina natural a lo largo de la historia muestra varias ventajas que son de importancia, así como desventajas que ponen en crítica el uso de la misma. (21)(23)

TABLA N° 2. VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA MEDICINA NATURAL.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Son menos agresivas para el cuerpo.	No las someten a los mismos controles de calidad. Muchos productos pueden no ser lo que prometen.
Promueven el bienestar general, no sólo combaten un síntoma. Muchos tratamientos naturales también te ayudan con tus emociones.	Al haber una menor supervisión, también hay un desconocimiento de sus consecuencias.
No tienen efectos a largo plazo. A diferencia de muchas medicinas que dejan sustancias en tu cuerpo que pueden dañar tus órganos.	Son más lentos. La mayoría de los tratamientos se concentran en el origen del problema, no en el síntoma, por lo que el síntoma puede tardar más en desaparecer.
Son más económicos. Porque no estás pagando ni el laboratorio ni la patente.	Las dosis no están controladas. Es difícil saber si estás tomando o recibiendo la cantidad que necesitas.
Son preventivos. Puedes recibir un tratamiento antes de que aparezcan síntomas de la enfermedad.	Son holísticos, no específicos. Son menos eficaces para aliviar un problema agudo o una emergencia.
No son agresivos con el cuerpo. Al ser naturales, salvo excepciones, son fáciles de asimilar y eliminar.	Muchos tratamientos naturales no están cubiertos por el seguro, por lo que su costo debe ser asumido de manera adicional.

FUENTE: VALADÉS J., 2011

1.3.2 FITOTERAPIA

La fitoterapia, conocida también como herbolaria es la ciencia del uso extractivo de plantas medicinales o sus derivados con fines terapéuticos, para prevención o tratamiento de patologías. Mas claramente la OMS la define como: "la planta que en uno o más de sus órganos contiene sustancias que pueden ser utilizadas con fines terapéuticos."(43)

El conocimiento de las propiedades terapéuticas de las plantas es un verdadero desafío para la ciencia moderna, día a día se suman importantes investigaciones clínicas y se descubren o confirman numerosos efectos benéficos, muchos de ellos ya conocidos por culturas milenarias. Las plantas, en todo el mundo, no sólo han sido nuestra principal fuente de alimentación y medicinas, sino la fuente de muchas de las aspiraciones, de los mitos, de los significados simbólicos y de las conductas rituales humanas. (18)(19)

La fitoterapia pertenece al ámbito de la medicina y se relaciona estrechamente con la botánica y el estudio del metabolismo secundario vegetal, es ejercido por médicos y por fitoterapeutas. (19)

1.3.3 FITOFARMACOLOGÍA.

Es la rama de la farmacología que se orienta al estudio de los extractos de plantas medicinales o fitofármacos. Entendiéndose por fitofármaco al extracto estandarizado de una parte de la planta medicinal utilizado en terapéutica. La estandarización se realiza considerando alguno de los compuestos bioactivos. (11)(20)

La farmacéutica tiene su aproximación a la fitoterapia en la farmacognosia, que da cuenta de los constituyentes químicos de las plantas o de sus órganos o partes y de las propiedades farmacológicas de estos. La Fitoterapia moderna, se basa en el conocimiento de la Farmacología, y considera los aspectos farmacodinámicos y farmacocinéticos de los medicamentos basados en plantas medicinales, en estudios pre

clínicos y clínicos, aunque tiene su punto de origen en el conocimiento ancestral y la experiencia de prueba y error heredada de las pasadas generaciones.(43)(48)

1.3.4 EXTRACTOS VEGETALES

Los extractos de plantas medicinales se utilizan por el hombre desde la antigüedad para la cura de múltiples dolencias. Se obtienen mediante la separación de porciones biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas, con el uso de un solvente (alcohol, agua, mezcla de estos u otro solvente selectivo) y un proceso de extracción adecuado. (21)(23)

Para la industria farmacéutica las plantas medicinales son una fuente de nuevas moléculas con efectos farmacológicos, que son utilizables directamente y que permiten obtener productos farmacéuticos con menores efectos secundarios y satisfacer las necesidades crecientes del uso de productos naturales. (11)

Las materias primas deben cumplir con los parámetros de calidad establecidos en las norma tanto del extracto vegetal como de la forma solida. (48) (56)

1.3.5 DROGAS VEGETALES

La palabra "droga" tiene varias definiciones, según sea el campo en el que se utilice. En el caso de la fitoterapia, se considera que una droga es aquella parte de la planta que contiene los principios activos con actuación farmacológica para su uso terapéutico. (33)

1.3.5.1 Especificaciones de calidad de la droga vegetal

Entre las especificaciones de calidad exigidas para la evaluación de materias primas vegetales con fines medicinales se encuentran:

- Características macroscópicas (forma, tamaño, caracteres superficiales, textura y fractura).
- Identificación y cuantificación de sustancias activas o marcadores.
- Sustancias solubles.
- Cenizas totales.
- Materias extrañas.
- Contenido de agua.
- Tamaño de partículas.
- Control microbiológico.
- Metales pesados. (50)

1.3.6 RIESGO DE SU USO

Como cualquier medicamento, algunas plantas pueden provocar reacciones adversas, intoxicación por sobredosis o interacciones perniciosas con otras sustancias. El consumo de plantas naturales por cualquier vía realmente es un proceso de medicación y es importante que sea informado al médico en caso de necesidad, porque cualquier otro fármaco podría interactuar negativamente con la planta. Por lo tanto, es necesario el mismo control médico estricto con las plantas medicinales que con los medicamentos de síntesis. (56)

Es de gran importancia tener en cuenta que no todas las enfermedades se curan de una forma efectiva, o con la rapidez requerida, con el uso de principios fitoterapéuticos. Existen casos en los que se hace necesario recurrir a la medicina convencional. (30)(56)

1.4 ALPISTE (*Phalaris canariensis*)

El alpiste es una planta gramínea de la familia de las poáceas, herbácea. Es originaria del Mediterráneo, pero se cultiva comercialmente en varias partes del mundo para usar la semilla en la alimentación de pájaros domésticos. Antiguamente con su harina se hacía pan. (50)

En la actualidad, el alpiste cuenta con un mercado principal: es el componente más importante de mezclas para alimentos de pájaros enjaulados y salvajes, sin embargo, los investigadores canadienses además están explorando los mercados de uso industrial y de consumo humano. (27)

1.4.1 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

Superdivisión: Spermatophyta

Division: Magnoliophyta

Clase: Liliopsida

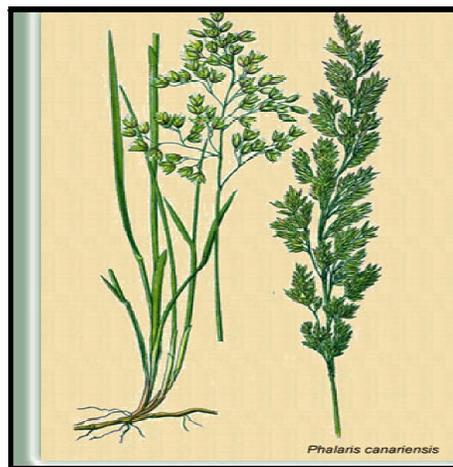
Subclase: Commelinidae

Orden: Cyperales

Familia: Poaceae

Género: *Phalaris* L.

Especie: *Phalaris canariensis* L. (47)



FUENTE: WWW.IQB.ES

FIGURA N° 5. PLANTA DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*)

NOMBRES COMUNES EN INGLÉS

Annual canarygrass, Common canarygrass. (50)

1.4.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una hierba grande y gruesa con vástagos erguidos, de 0,6 a 1,8 metros de altura, con tres o cuatro tallos cilíndricos y huecos a manera de cañas, provistos de nudos manifiestos y hojas semejantes a las del trigo, angostas y con largas vainas. Flores en racimos densos. Las inflorescencias son verdes al principio y se tornan luego levemente púrpuras. Las semillas son de color marrón brillante y envuelto en una pequeña cáscara. Se cría en el archipiélago canario, con el nombre vulgar de triguera o grano de Canarias, en tierras de cultivo, en medio de los sembrados o entre antiguos trigales de zonas de altitud media. (Rzedowski, 2001 y Marzocca, 1976.) (27) (54)

1.4.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Principios activos: Almidón, lípidos, resina, ácidos salicílico y oxálico, y sustancias nitrogenadas. (47)

Los granos de alpiste contienen por lo general alrededor de 61,0% de almidón. El promedio de proteína es de 18,7%, frente al 15,0% en de trigo. Las proporciones de prolamina y glutelina en el promedio de proteína de 77,7%, superior a la de la proteína del trigo de 73,5%. Las proteínas del alpiste son más deficientes en lisina y treonina que las proteínas del trigo, pero muy alta en cistina, triptófano y fenilalanina. Para un cereal, el alpiste también parece ser muy alta en grasa cruda, 8,7%, y de los lípidos purificados total, 11,0%; que contiene un 55% linoleico, oleico 29%, 11% palmítico, linoleico y el 2,5% ácidos. (52)

La Harina molida de los granos son bajos en la dieta fibra, azúcares solubles, y las cenizas totales. El aceite de alpiste es altamente insaturados. La fructosa y glucosa están presentes en pequeñas concentraciones en la comida. Los pequeños pelos silíceos en los cascotes son posibles carcinógenos y se han relacionado con el cáncer de la esófago cuando está presente como contaminante en la harina de trigo. Los pelos son también graves irritantes de la piel para los operadores durante la recolección y el transporte del grano. (30)

1.4.4 USOS

El Alpiste es destinado casi exclusivamente a la alimentación de pájaros, aunque la industria absorbe un pequeño porcentaje en la elaboración, entre otras cosas, de aprestos para tejidos y la destilación de bebidas. (46) (47)

1.4.5 USOS MEDICINALES

Usado popularmente como hipolipemiente (reductor de lípidos o grasas en sangre), demulcente (emoliente, relaja y ablanda las partes inflamadas) y diurético. En Canarias además de aperitivo se considera gran remedio para los males de orina y piedra, riñón y vejiga, y refrescante para los calores; antiguamente con su harina se hacía pan. (40)

También se usa para tratamientos en hipercolesterolemia y prevención de la arteriosclerosis, y cuando se requiere un aumento de la diuresis, tales como afecciones genitourinarias (cistitis), hiperazotemia (abundancia de sustancias nitrogenadas en la sangre), hiperuricemia, gota, hipertensión arterial, edemas, sobrepeso acompañado de retención de líquidos, gastritis y ulcus (úlceras, sobre todo úlceras del estómago). Uso externo para tratar eccemas. (58)

Un estudio realizado en 2004, demostró que el alpiste tiene propiedades antioxidantes muy cercanas a las de la Vitamina C. También, esteroides de plantas y ciertos ésteres de ácido cafeico (que no está relacionado con la cafeína) pueden contribuir a la actividad antioxidante del alpiste. (58)

El alpiste, algo que parece tan insignificante y sin demasiadas pretensiones, puede llegar a ser muy beneficioso para las personas que lo consumen. Es que, según determinaron algunos estudios realizados en la Universidad Nacional Autónoma de México, su consumo conllevaría interesantes propiedades y beneficios. (49)

Todo partió de la siguiente premisa: tratar de comprobar el por qué el alpiste le hacía tan bien a los pájaros que lo consumen. Y lo que hallaron fue que tiene proteínas muy poderosas y con una gran capacidad alimentaria. (58)

El alpiste sería una proteína muy enzimática, que ayudaría sobremanera a trabajar sobre diferentes áreas del sistema digestivo y del cuerpo en general. De esta manera, según se dice, serviría para perder peso (ayuda a eliminar grasas del organismo), para la diabetes (colabora con el páncreas), el hígado y los riñones. Sería depurativo e inhibidor de la reproducción bacteriana en las vías urinarias, además de ser un poderoso antioxidante. Además, se dice que el alpiste tiene importantes funciones metabólicas, además de ayudar a perder peso (otro beneficio muy importante para los diabéticos), la de reducir los niveles de azúcar en sangre y colaborar con los controles glucémicos. (29)(58)

1.4.6 MODO DE ADMINISTRACIÓN

Poner a remojar cinco cucharadas de alpiste por la noche y por la mañana eliminar el agua en que se remojó; poner las 5 cucharadas de alpiste remojado en la licuadora, llenar ésta de agua pura y licuar, el resultado será una leche muy espumosa de suave sabor que es básicamente una inyección a favor de la salud máxima y de la deseable figura del cuerpo, se toma un gran vaso en ayunas y justo otro antes de dormir. (40)

1.4.7 ACTIVIDADES TERAPEÚTICAS

Según la Universidad Nacional Autónoma de México se considera al alpiste como una planta introducida de la cual no se detectaron antecedentes de uso medicinal, ni estudios químicos o farmacológicos que corroboren su efectividad. (31)

1.4.8 EFECTOS ADVERSOS Y TOXICIDAD

Hasta el momento, no se han descrito contraindicaciones del consumo de semillas de alpiste o grano de las Canarias, en dosis adecuadas. La manipulación del alpiste, así

como también su aplicación externa podría llegar a ocasionar algún tipo de reacción alérgica en la piel. (57)

Por otra parte, el consumo en grandes cantidades de alimentos con propiedades diuréticas, como el alpiste, podría ocasionar una disminución de los niveles de sodio y potasio del organismo, esto debido a que se eliminarían en mayor medida, en virtud de dichos efectos. Una menor cantidad de potasio en el organismo podría llegar a ocasionar situaciones como un aumento de la debilidad muscular y de la sensación de agotamiento. (29)

1.4.9 ALPISTE PARA EL CONSUMO HUMANO

El alpiste que comúnmente se conoce como alimento para pájaros no es el indicado para preparar la leche de alpiste y para consumo humano. Existen diferentes tipos de semillas de alpiste, dentro de los cuales se puede mencionar una variedad Glabro, que no posee vello o pelo, denominado CDC María. Este tipo de semilla de alpiste ha perdido el pelo o fibra de sílica, esta fibra sería la responsable de complicaciones en la salud, tales como cáncer de esófago. (52)

Para que el alpiste sea apto para consumo humano es sometido a tres procedimientos de molienda húmeda sobre la base de etanol (E), agua (W) y sustancias alcalinas (A). A este proceso se lo conoce bajo el nombre de EWA. De esta forma la fibra es separada antes de la extracción alcalina y por ende, se consigue un producto libre de sílica. (52).

Como la utilización de la semilla de alpiste para consumo humano es bastante reciente, las diferentes investigaciones científicas echarán un poco más de luz sobre sus compuestos activos, sus beneficios y sus contraindicaciones sobre la salud. (27)(49)

1.5 RATÓN DE LABORATORIO

El ratón de laboratorio es un roedor, usualmente de la especie *Mus musculus*, que se utiliza para la investigación científica. Su cariotipo está compuesto por 40 cromosomas y suelen ser albinos. (32)

Para cada experimento se escogen ratones de laboratorio que pertenezcan a una misma cepa pura o endogámica. Los individuos de una misma cepa llevan los mismos genes, por lo cual se facilita la comparación de los efectos de los diferentes tratamientos experimentales (fármacos, entorno físico, etc.), sin que se produzca confusión debido a las diferencias genéticas. (13)

1.5.1 TAXONOMÍA

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Familia: Muridae

Género: Mus

Especie: *Mus musculus*. (18)



FOTOGRAFÍA N° 1. RATÓN DE LABORATORIO.

1.5.2 CEPA

Corresponde a la población de una misma especie, descendiente de un mismo origen; conservada por medio de una serie de pasos o cultivos. Entre algunos ejemplos se puede mencionar los siguientes:

- RATON BALB/c (*Mus musculus*)
- RATON AKR (*Mus musculus*)
- RATON ICR (*Mus musculus*)
- RATON NIH (*Mus musculus*)

Todas estas cepas se usan ampliamente en estudios de toxicología, farmacología y en pruebas de seguridad. La cepa más utilizada ha sido la BALB/c (ratón albino), aunque existen otras disponibles (ej. C57BL/6), especialmente desde el desarrollo de técnicas de manipulación de genes que han provisto una gran cantidad de cepas con modificaciones genéticas particulares. (13)

1.5.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE SU USO COMO ANIMAL DE LABORATORIO

Entre las ventajas que presenta el uso de ratones como animales de experimentación tenemos:

- De fácil cuidado y mantenimiento, por su pequeño tamaño.
- Bajos costo de manutención.
- Cepa definida.
- Diversidad de características específicas que sirven como modelo.
- Eficiencia reproductiva.
- Por su vida relativamente corta es excelente para su uso en ensayos crónicos de toxicología, microbiología, virología, farmacología, etc.
- Corto tiempo de generación. (13)(25)

Son pocas las desventajas que posee el uso de ratones como animales de experimentación entre las principales tenemos:

- Dificultad en la recolección de material biológico.
- Dificultad la administración de drogas.
- Dificultad en las técnicas quirúrgicas. (25)

1.5.4 CARACTERÍSTICAS GENERALES DEL RATÓN

El ratón es un mamífero de sangre caliente, de hábitos nocturnos y su comportamiento está influenciado por feromonas. Posee un agudo sentido de la audición, por lo que se alteran rápidamente con los ruidos, es por ello que hay que tener cuidado con los

equipos que se utilizan, su sentido del olfato está muy desarrollado, no sólo para detectar comida y depredadores, sino también para percibir un orden social, su visión es muy pobre y no pueden percibir los colores. En la órbita del ojo posee unas glándulas con forma de herradura llamadas glándulas. (13)

Por su pequeño tamaño son muy susceptibles a cambios ambientales, puesto que una variación de la temperatura entre 2 a 3°C, puede afectar su temperatura corporal y modificar su fisiología. (25)

Los valores típicos de diversos parámetros biológicos se muestran en la Tabla N° 3. Una variación significativa de los valores se puede producir entre los ratones individuales, las cepas y las existencias, los laboratorios y los métodos de muestreo. (43)

TABLA N° 3. VALORES TÍPICOS DE DIVERSOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DEL RATÓN

PARÁMETRO	VALOR TÍPICO
Número cromosomas (2n)	40
Promedio de vida	2-3 años
Peso al nacer	1 a 2 g
Edad destete	19 a 21 días
Peso destete	10 a 12 g
Edad pubertad	35 días
Peso corporal de adultos	20 a 40 g
Edad reproductiva	42 días
Duración del ciclo sexual	4 a 5 días
Reproductividad sexual	10 a 20 horas
Tamaño de la camada	6 a 12 crías
Periodo reproductivo óptimo	7 a 8 meses
Productividad crías al año	50 a 100 crías
Temperatura corporal	36.5-38.0 °C (97,5-100,4 °F)
Temperatura rectal	37.5 +/- 0.5 °C
Ritmo del metabolismo	180 a 505 kcal / kg / día
Ingesta de alimentos	12 a 18 g/100 g peso corporal / día
Ingesta de agua	15 mL/100 g peso corporal / día
Frecuencia respiratoria	138 (94-163) respiraciones / min
Ritmo cardíaco	470 (325-780) latidos / min

FUENTE: CONSEJO CANADIENSE DE PROTECCIÓN DE ANIMALES, 2001

1.5.5 COMPORTAMIENTO DEL RATÓN

El ratón es un animal sociable y se mantiene en grupos sin ningún inconveniente, estos grupos deben formarse rápidamente luego del destete. Sin embargo, los machos de algunas cepas comienzan a mostrar su agresividad entre la séptima y décima semana de edad, aun cuando estos grupos se hayan establecido al destete. En el grupo de machos existe uno dominante que puede ser muy agresivo. Las hembras generalmente no pelean, incluso cuando se hayan agrupado siendo ya adultas. (43)

El acto de comer es cíclico, con un pico máximo durante el periodo de oscuridad. El mayor consumo de agua es durante las horas de oscuridad. El consumo de alimento y agua varía entre las cepas de ratones. El ratón generalmente divide su caja en áreas específicas para dormir, comer, orinar y defecar. Las hembras parturientas construyen un nido y permanecen mucho tiempo cerca de él o sobre las crías. (13)(25)

1.5.6 MACRO Y MICRO AMBIENTE

El investigador podrá decidir, de acuerdo con sus necesidades, dónde ubicar a los animales empleados, teniendo en cuenta que el lugar brinde las condiciones ambientales y de manejo óptimos que aseguren la salud y la comodidad de especímenes, de modo que sus patrones metabólicos y de comportamiento se mantengan normales y estables, dando respuestas confiables. (13)(25)

1.5.6.1 Microambiente

El microambiente, es el ambiente físico inmediato que rodea al ratón, también llamado confinamiento o encierro primario, está limitado por el perímetro de la jaula o caja, cama, alimento y agua de bebida; deben contribuir a la salud de los animales, y evitarles todo estrés, por lo que deberá asignársele, a cada uno, un espacio adecuado que le permita movimientos y adopciones de posturas normales, preservando a su vez las mínimas condiciones de higiene y de protección contra insectos, roedores y otras plagas. (13)(25)

El microambiente lo conforman la caja o jaula, el alimento, el agua, así como el mantenimiento de las condiciones de higiene de cada uno de ellos. (13)

Caja o jaula

Los ratones se alojan en cajas o jaulas especialmente diseñadas para facilitar su bienestar, pueden ser de metal o de plástico (polipropileno, policarbonato, poliestireno y polysulfano), provistas de tapas de acero inoxidable con o sin filtro. (13)

El poliestireno es transparente y resiste al autoclavado y a la mayoría de desinfectantes. Debe tener las siguientes características:

- Proporcionar espacio adecuado, ser cerrado, seguro y protegerlo de las amenazas externas.
- Ser adecuado en ventilación.
- Ser resistente al lavado, desinfección y esterilización frecuente.
- La altura de las paredes de la caja no debe ser menor de 12,7 cm.
- Permitir la observación del animal.
- Tener pisos y paredes fáciles de limpiar (superficies lisas) y con tapa removible de rejas o perforada.
- Mantenerse en buenas condiciones de uso.
- Facilitar el acceso de los animales al agua y alimento.
- No presentar bordes cortantes o proyecciones que puedan causar lesiones. (13)

Espacio (densidad animal)

El requerimiento mínimo es que el animal disponga de espacio suficiente para moverse y para expresar las posturas normales de conducta y sociabilidad, debe tener fácil acceso al agua y alimento y debe tener un área suficiente con material de lecho limpio y sin obstáculos para moverse y descansar. El número de animales por jaula estará en relación

con el tamaño corporal (edad del ratón, estado pre y postnatal) evitándose la sobrecarga. (13)(25)

Lecho o cama

Los lechos son de material absorbente tal como la viruta de madera, la coronta molida del maíz, etc.; libres de polvillo, alérgenos y sustancias tóxicas. La viruta más adecuada es la de de pino blanco, seguida por la de tornillo. Se debe tener especificaciones de calidad de la viruta para su adquisición, tales como:

- No ser nocivo.
- Capacidad de absorción
- No se recomienda el uso de viruta procedente de cedro o caoba. (13)(25)



FOTOGRAFÍA Nº 2. MICROAMBIENTE: LECHO DEL RATÓN

Alimento

Los animales deben ser alimentados con dietas apetitosas, no-contaminadas y nutricionalmente adecuados, diariamente o de acuerdo a sus requerimientos particulares, a menos que el protocolo en el que están siendo empleados lo demande de otra manera. Se aconseja a los encargados de compras examinar a los fabricantes, sus prácticas y procedimientos de provisión para proteger y asegurar la calidad del alimento. Las instituciones deben exigir a los fabricantes de alimentos que presenten periódicamente los resultados de los análisis del contenido de nutrientes críticos de las dietas. El usuario

debe conocer la fecha de fabricación y otros factores que afecten la vida media de almacenamiento del alimento. (13)(25)

Agua de bebida

El agua debe ser potable y suministrarse libremente durante toda la vida del animal, puede ser en frascos bebederos de vidrio o de policarbonato. El agua debe ser acidificada, esterilizada mediante autoclave o por método de filtración. (13)(25)

1.5.6.2 Macroambiente

El macroambiente es el espacio inmediato al microambiente y es la sala de alojamiento en su ámbito general. La alteración de los factores del macroambiente producirá cambios en el modelo animal y con ello, la modificación del tipo de respuesta, y aumento de la variabilidad de los resultados entre o dentro de los laboratorios de experimentación. (13)(25)

Temperatura y humedad relativa

Las exigencias de temperatura para ratones son de 20 a 25 °C y la humedad relativa ambiental entre 40 y 70%.

Las condiciones ambientales en que se crían y experimentan los animales influyen decisivamente en las respuestas a los diferentes tratamientos. Si se requiere respuestas estandarizadas, las condiciones en que se mantienen los animales deben ser fijas. (25)

Aire y ventilación

Los ambientes destinados a la producción de animales, en su interior, deben poseer ventilación con presión positiva de aire respecto a los pasillos o áreas exteriores, manteniendo las gradientes de presión, de tal forma que se evita el ingreso de

patógenos desde el exterior. La ventilación es importante para controlar la humedad, calor, gases tóxicos. Se debe generar entre 15 a 20 recambios de aire / hora.

Los sistemas de aire acondicionado o ventilación no podrán ser compartidos con otras áreas, serán exclusivos para el sector bioterio y con factores controlados de temperatura y humedad. (25)(42)

Intensidad de luz y tipo de iluminación

Los ambientes de crianza deben contar con la luz artificial, provista de lámparas fluorescentes tipo luz día, con incidencia oblicua, con una iluminación máxima de 323 lux a un metro del piso; de forma tal, que todas las jaulas, independientemente de su ubicación, reciban intensidades similares de luz. (13)(25)

La iluminación debe distribuirse adecuadamente a través de la sala de alojamiento y ser lo suficiente para las prácticas de mantenimiento, inspección y bienestar de estos, sin causarles signos clínicos a los animales. También debe proporcionar condiciones seguras de trabajo para el personal.

La iluminación es importante para la regulación del ciclo estral y reproductivo. Se recomienda 12 horas luz/12 horas oscuridad, lo cual se programa con un reloj temporizador.

Ruido

Los ratones son muy sensibles al ruido y pueden percibir frecuencias de sonido que son inaudibles para el ser humano, por lo que el personal debe tratar de minimizar la generación de ruido innecesario. El ruido excesivo e intermitente se puede minimizar capacitando al personal en modos alternativos a las prácticas que producen ruido. Los radios, celulares, alarmas y otros generadores de sonido, aun con auriculares o audífonos, no deben usarse en las salas de alojamiento de animales. Se permite un nivel

máximo de ruido de 85 decibeles, si estos son mayores tiene efectos nocivos como estrés y problemas de fertilidad.

Olor

El olor es otro factor que afecta al ratón, es por ello que no se debe utilizar desinfectantes que emanen olores, que sean irritantes y mucho menos desodorizantes, dentro de los ambientes del bioterio.

La percepción de amoníaco en el ambiente es un indicador de saturación del lecho, por lo que se recomienda tener programas de cambio de lecho según la población que se maneje.

1.5.7 VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

1.5.7.1 Vía oral

Se puede usar el alimento o el agua, en volumen máximo de 1mL. de solución por cada 100 g de peso del animal, cuando es vehículo oleoso y 2mL. de solución cuando es solución acuosa; lo ideal es mediante sonda orogástrica y teniendo un buen conocimiento de la anatomía de la zona orofaríngea, los pasos a seguir son los siguientes:

- Inmovilizar al animal en forma correcta e introducir la sonda hacia la
- izquierda en forma lenta y suave a lo largo de la rama mandibular derecha,
- aquí el ratón comienza a tragar y la sonda se inserta dentro del esófago. (37)

1.5.7.2 Vía subcutánea

Esta vía es utilizada como alternativa a la intramuscular, en los ratones.

Se prefieren los sitios en que abunde tejido conjuntivo, en el dorso a nivel del cuello o los flancos. La aguja se inserta en la piel paralela a la columna vertebral Se utiliza

agujas de 25 a 27 G, $\frac{1}{2}$ a $\frac{3}{4}$ pulgada con jeringas de tuberculina. Y el volumen para un ratón adulto será de 2 a 3 mL. (37)(42)

1.5.7.3 Vía Intraperitoneal

Se usa jeringas y aguja calibre 25 –27 G. $\frac{1}{2}$ a 1 pulgada, de bisel pequeño.

Aplicando la sujeción con una mano e inmovilizando la pata izquierda del ratón, con una inclinación hacia craneal para producir un desplazamiento de las vísceras con el fin de no lesionarlas. Se inserta la aguja en la piel en el cuadrante izquierdo inferior del abdomen, luego se lleva hacia craneal y se introduce en la cavidad peritoneal, levantando la aguja en contra de la pared abdominal para evitar la punción en el interior del intestino; la jeringa con aguja debe estar paralela a la columna vertebral. Se puede administrar hasta 3 mL. (37)(55)

1.5.7.4 Vía Intravenosa

Se utiliza agujas de 27 - 30 G y jeringas tuberculina de 1 mL. Teniendo el ratón inmovilizado dentro de un cepo (sujetador para ratón), se utilizan las venas laterales de la cola, estas se dilatan con alcohol o con calor. (37)(42)

1.5.8 VÍAS DE EXTRACCIÓN DE SANGRE EN ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

Los métodos que impliquen el cortar la cola repetidamente deben evitarse, ya que actualmente es posible obtener cánulas y agujas del tamaño correcto para prácticamente todas las especies. Para obtener muestras de sangre de la vena de la cola se utiliza el mismo método que para la administración intravenosa mencionada anteriormente. (37)

Se puede usar los vasos sanguíneos para la toma de pequeñas muestras de sangre, para lo cual se usa la cola ya que ésta no posee pelo y resulta fácil la sujeción y punción debido a que los vasos sanguíneos recorren toda la longitud de la cola. (22)(55)

1.5.8.1 Vía Intracardiaca

Mediante esta técnica se pueden obtener grandes volúmenes de sangre el animal debe estar anestesiado y se recomienda utilizar esta técnica únicamente como procedimiento terminal. (55)

Se coloca el ratón bien apoyado sobre el dorso, se ubica la apófisis xifoides y se inserta la aguja perpendicular a la columna vertebral. Con una leve presión digital se localiza el ventrículo; al punzar el corazón se siente el choque cardíaco. El volumen extraído de sangre dependerá del peso del ratón. Las medidas de las agujas son de 20 a 25 G. (55)

1.5.8.2 Venas y Arterias Caudales

La vena de la cola es la más usada, la vena debe localizarse claramente y la punción debe ser llevada a cabo decididamente mejor que con vacilaciones. Se debe desinfectar la zona antes de la punción. (13)(55)

Puede que se necesite alguna presión próxima al lugar de oclusión del retorno venoso con el fin de obtener suficiente volumen de sangre. La gota de sangre formada puede retirarse con un tubo capilar o con una micropipeta con punta de plástico. Después de haber sacado la sangre, se debe mantener una presión suave pero firme sobre el lugar durante unos 30 segundos, lo que detendrá rápidamente cualquier sangrado. (42)

El estrés y la anestesia pueden alterar significativamente algunos parámetros hematológicos y bioquímicos. El estrés causado por la manipulación e inmovilización suele ocasionar una elevación del hematocrito y alteraciones en el recuento de células blancas, así como variaciones en las cifras de glucemia y ciertas hormonas. Para evitar el estrés de punciones repetidas se puede dejar una vía heparinizada en un lugar no accesible para el animal. (55)

1.5.8.3 Venas Safena

La técnica emplea la vena safena lateral, la cual discurre primero por la cara caudal de la extremidad posterior y luego lateralmente sobre la articulación del torso, la piel situada sobre la vena debe ser afeitada, lo cual solo debe ser repetida cuando el pelo vuelva a crecer, aunque a menudo no es necesario este procedimiento debido a la gran visibilidad de la vena. (8)

La punción de la vena safena es un método rápido y fiable para la obtención de muestras sanguíneas. La situación superficial de la vena permite asegurar que la punción ha sido correcta y permite una fácil observación de cualquier hemorragia posterior a la obtención de la muestra. Se debe utilizar agujijas con el menor calibre posible que posibilite una evacuación de la sangre suficientemente rápida. (8)



FOTOGRAFÍA Nº 3. VENA SAFENA DEL RATÓN

1.5.8.4 Seno Orbital

Esta técnica aunque es muy usada no está recomendada y requiere una particular justificación dado lo agresivo de la misma. Implica pinchar el seno orbital del globo del ojo. En manos expertas puede ser un método útil para obtener volúmenes mayores de los que se pueden obtener de la vena de la cola. Es una técnica que puede tener severas consecuencias para el animal por lo que no se recomienda el uso del sangrado del seno orbital con recuperación del animal más que en circunstancias excepcionales cuando no haya ningún otro método disponible. Esta técnica no es aceptable más que como procedimiento terminal bajo anestesia. (37)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.

El presente trabajo de investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Laboratorio de Productos Naturales y Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, en función a las diversas determinaciones y ensayos que se debieron realizar.

2.2 FACTORES DE ESTUDIO

Los factores de estudio corresponden a los valores de glicemias frente a diferentes concentraciones de Alpiste (*Phalaris canariensis*).

2.3 MATERIALES, EQUIPOS, REACTIVOS

2.3.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Ratones machos (*Mus musculus*) de 30-35g de peso pertenecientes al Bioterio de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.3.2 MATERIAL VEGETAL

Se emplean semillas de alpiste (*Phalaris canariensis*) adquiridas en el Supermercado “Camari” de la ciudad de Riobamba-Ecuador.

2.3.3 MATERIALES DE LABORATORIO

- Gradilla
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Pipetas volumétricas
- Pipetas
- Pera de succión
- Balón aforado de 10mL.
- Varilla de agitación
- Capsulas de porcelana
- Crisol
- Embudo
- Trípode
- Probetas
- Frascos de vidrio
- Papel filtro
- Tamiz
- Piceta
- Reverbero
- Mascarilla
- Guantes
- Jaulas
- Cánula
- Canastilla con tapa
- Jeringuilla
- Vaselina
- Etiquetas
- Cronómetro
- Equipo de disección

2.3.4 EQUIPOS

- Glucómetro (PRODIGY)
- Balanza Analítica (BOECO)
- Estufa (MEMMENT)
- Horno de Mufla (SNOL Modelo snd 8,2/1100 1L2)
- Refractómetro (WARSZAWA)
- pH metro (JENWAY)
- Refrigerador (MABE)
- Computador (HP)

2.3.5 REACTIVOS

- Agua Destilada
- Alcohol Antiséptico
- Tiras Reactivas para glucómetro PRODIGY
- Glibenclamida
- Reactivo de Lieberman – Buchard
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Börntrager
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III
- Solución de Carbonato de Sodio
- Solución de Cloruro Férrico al 5%
- Solución de Ninhidrina al 5%
- Ácido Clorhídrico concentrado
- Granallas de Magnesio
- Alcohol Amílico
- Solución de Fehling A y B
- Acetato de Etilo
- Ácido Fórmico

- Ácido Acético Glacial
- Alcohol Etilico

2.4 TÉCNICAS

2.4.1 CONTROL DE CALIDAD MATERIA PRIMA.

2.4.1.1 Determinación del contenido de humedad. Método Gravimétrico.

Se pesó 2 g. \pm 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a una c previamente tarado y se secó a 100°C durante 3 horas. El pesa filtro se puso en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante. El ensayo se realizó por triplicado. (21)

Expresión de resultados:

$$\%H = \frac{m_2 - m_1}{m} \times 100$$

Donde:

%H = Porcentaje de Humedad

m = masa de la muestra de ensayo (g).

m₁ = masa del pesa filtro con la muestra desecada (g)

m₂ = masa del pesa filtro con la muestra de ensayo (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

2.4.1.2 Determinación de cenizas totales.

En un crisol de porcelana previamente tarado se pesó 2 g \pm 0.5 mg de semilla pulverizada y sin cáscara. Se calentó suavemente la muestra aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incineró en un homo mufla a una temperatura de 700 a 750 °C durante 2 horas. Luego se enfrió el crisol en un desecador y se pesó.

El proceso se repitió a partir de la incineración hasta obtener masa constante es decir que no difiera las pesadas en más de 0,5 mg para obtener la masa constante el tiempo de calentamiento y pesada se realizó en intervalos de 30 minutos.

Si el residuo presenta trazas de carbón se le añade unas gotas de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio 10 mg en 100 mL y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco. El ensayo se realizó por triplicado. (21)

Expresión de resultados:

$$\%C = \frac{m_2 - m_1}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

%C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

m = masa del crisol vacío (g)

m₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

m₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos.

2.4.1.3 Determinación de cenizas solubles en agua.

A las cenizas totales se añadió de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapó y se puso a hervir suavemente directo a la llama del quemador durante 5 minutos. La solución se filtró a través de papel filtro libre de cenizas, con cenizas determinadas o declaradas. El papel del filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un quemador y luego se incineró en un horno mufla a 700 - 750 °C durante 2 horas. Posteriormente se colocó en un desecador y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. El ensayo se realizó por triplicado. (24)

Expresión de resultados:

$$\%C_a = \frac{m_2 - m_a}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

%Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

m₂ = masa del crisol con las cenizas totales (g).

m_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

m₁ = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

m = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

2.4.1.4 Determinación de cenizas insolubles en ácido.

A las cenizas totales se añadió de 15 a 20 mL de ácido clorhídrico al 10 %. El crisol se tapó y se puso a hervir suavemente 5 minutos.

La solución se filtró a través de papel filtro libre de cenizas, con cenizas determinadas o declaradas, se lavó el residuo con agua caliente hasta que al añadirle al filtrado acidulado con ácido nítrico: 1 o 2 gotas de nitrato de plata 0.1 M, no muestre la presencia de cloruros. El papel de filtro con el residuo se transfirió al crisol inicial, se carbonizó en un quemador y luego se incineró en un horno mufla a 700 - 750 °C durante 2 horas. Posteriormente se colocó en un desecador y cuando alcanzó la temperatura ambiente se pesó. El ensayo se realizó por triplicado. (24)

Expresión de resultados:

$$\%C_i = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

Donde:

%Ci = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

m = masa del crisol vacío (g).

m₁ = masa del crisol con la porción de ensayos (g)

m₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático.

2.4.2 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*).

Se pesó 500 g de alpiste y se colocó en un recipiente, se llenó con agua destilada hasta cubrir y se dejó en reposo por 12h. Posteriormente, se separó la parte sólida a través de un proceso de filtrado y se licuó junto con 1000 mL de agua destilada. Se realizó una segunda filtración, desechando la parte sólida y recogiendo la parte acuosa en un frasco de vidrio oscuro. El extracto preparado se diluyó al 70% y 30%, obteniendo de esta manera tres dosis diferentes: 61,2 mg/ml, 42,8mg/ml y 18,3 mg/ml. (23)

2.4.3 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO.

2.4.3.1 Color

Se tomó un tubo de ensayo bien limpio y seco y se llenó hasta las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observó el color, la transparencia, la presencia de partículas y la separación de capas. Se reportó los resultados. (24)

2.4.3.2 Olor

Se tomó un tira de papel secante aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introdujo un extremo en la muestra de ensayo. Se olió y se determinó si corresponde con la característica del producto. (24)

2.4.3.3 Sabor

Se apreció determinadamente la sensación que ciertas sustancias producen en el órgano del gusto. (17)

2.4.3.4. Apariencia

Análisis visual del aspecto externo. (24)

2.4.4 DETERMINACIÓN DE PROPIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DEL EXTRACTO.

2.4.4.1 Densidad relativa

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25°C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. (21)

Expresión de resultados

$$d(25^{\circ}\text{C}) = \frac{m_1 - m}{m_2 - m}$$

Dónde:

m₁: Peso de picnómetro con la muestra (g)

m₂: Peso del picnómetro con agua (g)

m: Peso del picnómetro vacío (g)

Procedimiento: Primeramente se pesó el picnómetro vacío y seco a 25°C y se llenó con la porción de ensayo, se mantuvo a temperatura de 25°C (+/- 1°C) durante 15 min. Y se ajustó el líquido al nivel empleado, con una tira de papel se extrajo el exceso y secó exteriormente el picnómetro.

Se pesó cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repitió la operación con el agua destilada a 25°C, y después se limpió el picnómetro.

2.4.4.2 Determinación de pH

El pH es un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. La lectura está en función de la diferencia de potencial establecida entre un electrodo indicador y un electrodo de referencia usando como solución de ajuste de la escala del medidor de pH, una solución reguladora del mismo.

Procedimiento: Se ajustó el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango que se realizó la determinación. Posteriormente se determinó el valor del pH de la muestra. Los resultados dieron apreciando hasta la décima. (21)

2.4.4.3 Determinación de índice de refracción.

El índice de refracción es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

Esta relación viene dada por la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{\text{Sen}_i}{\text{Sen}_r}$$

Así los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente. (6)

Procedimiento: Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, utilizando para ello una varilla de vidrio, se ajustó el equipo seleccionando la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo el compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro. (21)

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se colocó una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cerró el termoprisma y se enfocó la luz por medio del espejo, de modo tal que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se procesó de la misma forma que con el agua.

Expresión de los resultados

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$N_{d_{25}} = N_{dt} + 0.00044 (t-25)$$

Donde:

N_{d₂₅} = índice de refracción a 25 °C.

N_{dt} = Valor leído en la escala del aparato a la temperatura.

T = valor de la temperatura a que se realiza la medición (°C).

0.00044 = factor de correlación por Grados Celsius.

2.4.4.4 Determinación de sólidos totales.

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. 5.0 mL del extracto se llevó a una cápsula previamente tarada a 105 °C, se evaporó sobre baño de agua hasta que el residuo esté aparentemente seco. Se pasó hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3 horas).

Se retira la cápsula de la estufa y se coloca, en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente. (21)

Para obtener la masa constante entre una pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 minutos.

Expresión de los resultados.

La cantidad de sólidos totales, expresado en %, se calcula por la siguiente fórmula:

$$St = \frac{P_1 - P}{V} \times 100$$

Donde:

P₁ = masa de la cápsula más el residuo (g).

P = masa de la cápsula vacía (g).

V = volumen de la porción de ensayo.

100 = factor matemático para el cálculo.

2.4.5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

2.4.5.1. Reacción de identificación de saponinas

Ensayo de Espuma: Se toman una parte de la muestra y se le añaden 2 partes de agua se agita enérgicamente y se observa la presencia de espuma. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. (21)

2.4.5.2 Reacción de identificación de catequinas.

Ensayo de catequinas: Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo. (21)

2.4.5.3 Reacción de identificación de resinas.

Ensayo de resinas: Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2mL. de la solución alcohólica, 10mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo. (21)

2.4.5.4 Reacción de identificación de compuestos fenólicos.

Ensayo de Cloruro férrico: Si el extracto de la planta es alcohólico, se determina tanto fenoles como taninos.

A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (Cloruro de sodio al 0,9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos.

A una alícuota del extracto se le añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

1. Desarrollo de una coloración rojo – vino compuestos fenólicos en general.
2. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
3. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalactónicos. (21)

2.4.5.5. Reacción de identificación de flavonoides

Ensayo de Shinoda: La alícuota se diluyó con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se esperó 5 minutos para añadir 1 mL de alcohol amílico, se mezclaron las fases y se dejaron reposar hasta que su separación. (21)(54)

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso en todos los casos. (21)

2.4.5.6. Reacción para identificación de quinonas

Ensayo de Borntrager: Se toma 1 mL de muestra y se adicionó 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en la reacción. Si la fase alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++). (24)(54)

2.4.5.7. Reacción para la identificación de lactonas α - β insaturadas

Ensayo de Baljet: Se trabajó con dos reactivos el reactivo A y el reactivo B, el A se prepara con la adición de 1g de ácido pícrico en etanol al 95%. El reactivo B 10g de NaOH en 100 mL de agua. (24)(54)

Se toma 2 mL de muestra y se le adiciona 10gts de Reactivo A+B. Se observó color considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente. (24)

2.4.5.8. Reacción para identificación de triterpenos y esteroides.

Ensayo de Liebermann – Buchard: Se toma 1 mL de muestra, se añaden 1mL. de anhídrido acético y se deja resbalar 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado, sin agitar. Se nota en medio de las dos fases un anillo azul o verde que indica que la reacción es positiva. (24)

2.4.5.9. Reacciones para la identificación de alcaloides

Ensayo de Dragendorff: A la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. (Calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++). (24)

Ensayo de Mayer: Se procede de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 o 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++). (24)

2.4.5.10. Reacción para la identificación de compuestos grasos

Ensayo de Sudan: A 3mL. de muestra, se añade 1mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III. Se calentó en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente. (21)

2.4.5.11. Reacción para la identificación de aminoácidos libres o aminas.

Ensayo de Ninhidrina: Se tomó una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL. de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calentó 5- 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo. (24)

2.4.5.12. Reacción para la identificación de Antocianidinas.

Ensayo de Rosenthaler: Se tomó 1 mL de muestra se añade 3 gotas de H₂SO₄ vainillina, y a esta mezcla se le añadió 1 gota de HCl concentrado. Se observa la presencia de coloración en tonos rojos a violáceos. (24)

2.4.5.13. Reacción para la identificación de azúcares reductores.

Ensayo de Fehling: Se evaporó el solvente en baño de agua y el residuo se re disolvió en 1-2 mL. de agua. A este residuo se adicionó 2 mL. del reactivo y se calentó en baño de agua durante 5 a 10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. (24)

El reactivo se preparó de la siguiente forma:

Solución A: Se pesaron 35 g de sulfato cúprico pentahidratado cristalizado y se disolvió con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesaron 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disolvieron con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar. (24)(54)

2.5 METODOLOGÍA

2.5.1 FASE DE CAMPO

Para el análisis se emplearon semillas de alpiste (*Phalaris canariensis*) adquiridas en el Supermercado “Camari” de la ciudad de Riobamba., Ecuador, las mismas que fueron peladas y trituradas manualmente.

2.5.2 FASE EXPERIMENTAL

En la fase experimental se realizó los siguientes procedimientos

- Obtención del extracto acuoso de Alpiste (*Phalaris canariensis*)
- Estandarización y tamizaje fitoquímico.
- Ensayo de la actividad hipoglicemiante.
- Determinación de la actividad toxicológica del extracto.

También se debió realizar un tratamiento estadístico de los datos.

- Análisis de varianza.
- Prueba de separación de medias Prueba de Tukey al 5%
- Coeficiente de variación.

2.5.3 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE.

Se emplearon 18 ratones machos agrupados en tres lotes de 3 ratones cada uno para las dosis de 30%, 70% y 100% del extracto acuoso de semillas de alpiste, y tres lotes de 3 ratones para controles: blanco, control positivo con glibenclamida y control negativo. Los animales tenían de 6 semanas de edad, acondicionados en cajas plásticas de polipropileno y mantenidos en condiciones ambientales controladas, cumpliendo previamente un período de readaptación de 5 días. Se alimentaron con la fórmula pele tizada y agua ad libitum. La identificación de los animales se realizó mediante marcas con marcador permanente en la cola de cada animal.

Doce horas antes del estudio se les retiró el alimento y se mantuvieron con agua *Ad libitum*. Pasadas las doce horas de ayuno se evaluó su glicemia inicial para lo cual se extrajo sangre de la vena safena del animal y se evaluó a través de tiras reactivas utilizando el medidor de glucemia PRODIGY AUTO CODE, de la casa comercial Diagnostic Devices, Inc. para su lectura. Posterior a la evaluación de la glicemia inicial de todos los animales pertenecientes a los 6 grupos de estudio, se procederá a la administración de los tratamientos por vía oral de acuerdo con el esquema descrito en el Cuadro N°.1.

CUADRO N°. 1. TRATAMIENTOS Y PARÁMETROS CONSIDERADOS EN EL ESTUDIO DE EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO DEL 2012.

GRUPOS						
	CONTROLES			TRATAMIENTOS		
REPETICIÓN	B	C1	C2	T1	T2	T3
a	Ba	C1a	C2a	T1a	T2a	T3a
b	Bb	C1b	C2b	T1b	T2b	T3b
c	Bc	C1c	C2c	T1c	T2c	T3c

B= Ratones sin sobrecarga de glucosa.

C1= Ratones con sobrecarga de glucosa 14g/Kg de peso del animal.

C2= Ratones con sobrecarga de glucosa y tratadas con Glibenclamida 5mg.

T1= Ratones con sobrecarga de glucosa y tratadas con extracto de alpiste al 100%

T2= Ratones con sobrecarga de glucosa y tratadas con extracto de alpiste al 70%

T3= Ratones con sobrecarga de glucosa y tratadas con extracto de alpiste al 30%

Una vez administrado los tratamientos a los grupos de estudio se procedió a inducir la hiperglicemia, para lo cual 30 minutos después de la administración de los tratamientos se administró por vía oral una solución de sacarosa a la razón de 14g/Kg. Posteriormente se evaluó la glicemia a los 36 minutos, 86 minutos, 6 y 12 horas después de la sobrecarga de sacarosa.

Posteriormente al primer estudio, se evaluó la actividad hipoglicemiante durante 15 días consecutivos, para lo cual se administró a los individuos las dosis antes mencionadas cada día, y se evaluó su comportamiento, estado físico general (peso del animal), la glicemia basal cada 3 días. Cabe recalcar que durante estos 15 días de estudio el animal dispuso libremente de alimento y agua.

VALORES NORMALES DE GLICEMIA: Suero, plasma ratones (ayunas) 60-90mg/dL.
(Según Charles River, 1984)

2.5.4 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD TOXICOLÓGICA.

Finalizado los 15 días de estudio se procedió a realizar las necropsias de los órganos farmacocinéticas más importantes que han sido comprometidos entre ellos esta: riñón, hígado, estomago y se realizó el estudio histopatológico. Para lo cual los animales fueron sacrificados por el método de dislocación cervical. (14)(16)

2.5.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

1. 1er Período: Período de adaptación del material biológico. Condiciones iniciales: pesos, condiciones ambientales.

2. 2do Período: Inducción de hiperglucemia (sobrecarga de sacarosa). Valoración de los niveles de glicemia.

3. 3er Período: Tratamiento a base del extracto de semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*).evaluación toxicológica Condiciones finales: peso, estado de ánimo, glucemia pasando un día.

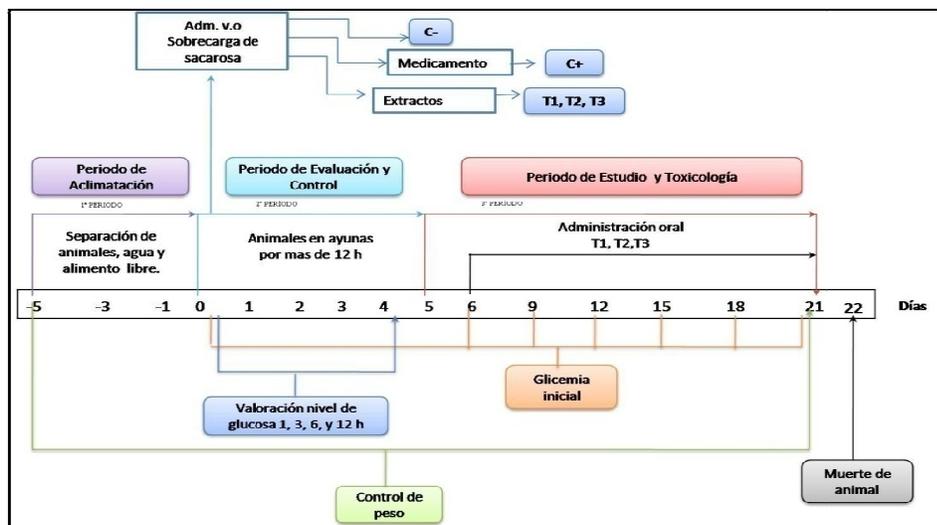


GRÁFICO N°. 1. ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL.

2.5.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se tabularon y se determinaron las medias de las distintas lecturas para realizar el análisis de varianza, separación de medias y análisis de regresión.

2.5.6.1 Análisis de varianza

Es un procedimiento estadístico que sirve para medir la variación total de las observaciones, la que se divide para sus componentes, quedando el residuo como error experimental. El análisis de varianza es un método para comparar dos o más medias de las observaciones o de los tratamientos, permite medir la variación de las respuestas numéricas como valores de evaluación de diferentes variables nominales.

En esta investigación de análisis de varianza permitió establecer la relación entre una variable dependiente (actividad hipoglicemiante) y un factor independiente (intervalo de aplicación). (22)

2.5.6.2 Prueba de separación de medias prueba de Tukey al 5%.

La prueba de Tukey al 5% es un procedimiento empleada para determinar las diferencias existentes entre las medias de los tratamientos realizados. (8)

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA ALPISTE (*Phalaris canariensis*)

Para el presente estudio se partió del extracto acuoso de la semilla de alpiste que fue obtenida diariamente, para lo cual la materia prima empleada se obtuvo en el Supermercado “Camari”, y fue retirada la cáscara manualmente y trituradas hasta obtener un polvo, y se realizó el control de calidad.

3.1.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y CENIZAS

CUADRO N°. 2. HUMEDAD Y CENIZAS DE LA SEMILLA DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) UTILIZADA COMO MATERIA PRIMA. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO DEL 2012.

CENIZAS	VALOR	ESPECIFICACIÓN USP
Humedad	9%	< 14%
C. Totales	8%	< 12%
C. Solubles en Agua	5%	<7%
C. Insolubles en HCl	4.1%	<5%

En el cuadro N°2 se muestra que el porcentaje de humedad presente en la semilla de alpiste es del 9% valor que se encuentran dentro de los límites establecidos en la USP (< 14%) evitando de este modo la acción enzimática, y proliferación de microorganismo

durante el proceso de la almacenamiento que puede ser perjudiciales durante la investigación.

También muestran el porcentaje de cenizas totales, solubles en agua en insolubles en ácido clorhídrico presente de la semilla de alpiste luego de remover la cáscara es 8%, 5%, 4.1% respectivamente, demostrando ser valores que se encuentran dentro de las especificaciones para semillas, ya que los valores superiores a los establecidos es un indicativo de rechazo del producto, pues es un referencia de la cantidad de componentes inorgánicos presentes en la materia prima a utilizar.

3.2 CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO ACUOSO

3.2.1 DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA

CUADRO N° 3. DESCRIPCIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2012.

PARÁMETRO	ALPISTE
COLOR	Blanco
OLOR	Inodoro
SABOR	Ligeramente dulce
ASPECTO	Líquido lechoso, ausencia partículas

El cuadro N° 3 expresa los resultados de las propiedades organolépticas del extracto acuoso de alpiste, las cuales corresponden a las características mismas como son de aspecto lechoso, color blanco, de sabor ligeramente dulce y sin partículas extrañas, lo que corrobora en el buen estado del extracto.

3.2.2 DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS

CUADRO N° 4. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO DEL 2012.

PARÁMETRO	VALOR
pH	5.93
ÍNDICE DE REFRACCIÓN	1.378
DENSIDAD RELATIVA	1.470g/ml
SÓLIDOS TOTALES	6.117%

En el cuadro N° 4 se expone los resultados de cada una de las determinaciones de los parámetros físicos del extracto acuoso de alpiste así se tiene que es un extracto un poco denso (1.470g/ml) los resultados expresados en la medición del pH tienden a la acidez, posee un alto contenido de sólido totales, sin embargo todos los valores correspondientes al análisis de los parámetros físicos se encuentran acorde a las especificaciones presentadas por la OMS para extractos en general.

3.2.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUADRO N° 5. DETERMINACIÓN DEL NÚMERO DE MICROORGANISMOS AEROBIOS MESOFILOS Y COLIFORMES TOTALES EXISTENTES EN EL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL 2012.

MICROORGANISMOS	EXTRACTO DE ALPISTE	ESPECIFICACIÓN
Aerobios Mesófilos UFC/mL	1570 UFC/ mL	<10
Coliformes totales UFC/mL	<10	<10

En el cuadro N° 5 se expresan los valores de Aerobios Mesófilos y Coliformes Totales presentes en el extracto, este último cumple con con límites microbiológicos permitidos en productos de este tipo, pero existió una contaminación bacteriana de aerobios

mesófilos, a pesar de realizar el extracto bajo normas de sanidad, por lo que la contaminación se atribuye a la materia prima, cabe recalcar que esta es comercializada para el consumo humano y la que mejor se encontró en el mercado.

CUADRO N°. 6. DETERMINACIÓN DE *Aspergillus* EXISTENTES EN LA SEMILLA DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL 2012.

MICROORGANISMOS	SEMILLA DE ALPISTE	ESPECIFICACIÓN
<i>Aspergillus</i>	Ausencia	Ausencia

En el cuadro N°. 6 la identificación de *Aspergillus* en la semilla de alpiste fue negativo, sin embargo hubo crecimiento de un hongo de especie *Rhizopus*, los que nos confirma que la materia prima no se encuentra en las mejores condiciones de sanidad.

3.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO.

CUADRO N°. 7. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2012.

METABOLITO	ENSAYO	RESULTADO
SAPONINAS	Espuma	(-)
CATEQUINAS	Catequinas	(-)
RESINAS	Resinas	(++)
COMPUESTOS FENÓLICOS.	Cloruro férrico	(-)
FLAVONOIDES	Shinoda	(-)
QUINONAS	Borntrager	(-)
COMPUESTOS LACTONICOS	Baljet	(-)
TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	Lieberman - Buchard	(+)
ALCALOIDES	Dragendorff	(-)
	Mayer	(-)
COMPUESTOS GRASOS	Sudan	(++)
AMINOÁCIDOS LIBRES O AMINAS	Ninhidrina	(+++)

ANTOCIANIDINAS	Rosenthaler	(-)
AZÚCARES REDUCTORES	Fehling	(-)

- (-) Reacción negativa
- (+) Intensidad baja de la reacción.
- (++) Intensidad moderada de la reacción.
- (+++) Intensidad alta de la reacción.

En el Cuadro N° 7 se muestra los resultados del estudio fitoquímico realizado al extracto de alpiste, el cual presenta resinas, triterpenos o esteroides, compuestos grasos y aminoácidos libres. Estos resultados se pueden comparar con los de SAYED ABDEL quien señala que la semilla de alpiste posee 18,7% de proteína en comparación con 15,0% en el trigo, prolamina y glutelina en un 77,7%. Dichas proteínas demostró ser deficientes en lisina y treonina, pero muy ricas en cistina, triptófano y fenilalanina. Además grasa cruda, 8,7%, y de los lípidos purificada total, el 11,0%, que contiene 55% de ácido linoleico, 29% oleico, palmítico 11% y el 2,5% de ácidos linolénico. Lo que nos da a suponer según el estudio de CARADIOL que señala que la suplementación alimenticia con una mezcla especial de aminoácidos resulta segura y mejora perceptiblemente el control metabólico y la sensibilidad a la insulina en pacientes diabéticos tipo 2, por lo que estos los metabolitos serian los responsables de dicha actividad.

3.4 ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*).

El estudio se efectuó en ratones de experimentación para lo cual se las distribuyó al azar en seis grupos, cada uno de los cuales conformado por 3 animales, la administración de los productos fue vía oral.

CUADRO N° 8. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL GRUPO BLANCO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)			
		36 min	86 min	6h	12h
BLANCO (B)	a	99	92	96	90
	b	68	64	61	62
	c	86	83	82	84
PROMEDIO		84,3±15,6	79,7±14,3	79,7±17,6	78,7±14,7

En el cuadro N° 8 se muestra los valores de glicemia a los cuatro tiempos establecidos (Anexo N°.11), que presenta el grupo denominado blanco, al que no se le administró ninguna sustancia y sirvió de referencia para conocer los valores basales que presentan y que se mantienen en un promedio de 81 ± 13.5 mg/dL de glucemia.

CUADRO N° 9. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL CONTROL NEGATIVO PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)				
		0 min	36 min	86 min	6H	12H
CONTROL NEGATIVO (C1)	a	87	216	349	156	114
	b	95	192	267	169	110
	c	84	227	253	173	103
PROMEDIO		88,7±5,68	212±14,62	290±42,34	166±7,29	109±4.05

En el cuadro N° 9 se muestra los valores de glicemia a los tiempos establecidos (Anexo N°.11), que presenta control negativo, al que se le administró una sobrecarga de sacarosa a razón de 14g/kg, por vía oral. Esta nos muestra el incremento a lo largo del tiempo alcanzando su pico promedio más alto a los 86 minutos ($290 \pm 42,34$ mg/dL), y descendiendo hasta sus valores basales promedio a las 12 horas después de la administración de la sobrecarga de sacarosa (109 ± 4.05 mg/dL). Estableciendo así el pico más alto como referencia para la comparación de los distintos tratamientos.

CUADRO N°. 10. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL GRUPO C2 (MEDICAMENTO COMERCIAL EUGLUCON) PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)				
		0 min	36 min	86 min	6H	12H
CONTROL POSITIVO	a	99	167	128	188	125
	b	89	174	100	116	98
	c	97	165	98	152	109
PROMEDIO		95±5,29	169±3,86	109±13,70	152±29,39	111 ±11,09

El cuadro N°.10, arroja los resultados que presenta el control positivo, al que se le administró un medicamento comercial (EUGLUCON) antes de la administración de la sobrecarga de sacarosa, por vía oral. Esta nos muestra que existe un incremento de los niveles normales de glucosa a los 36 min. (169±3,86mg/dL), y posteriormente van alcanzando los niveles normales. Este incremento es menor en comparación con el grupo C1.

CUADRO N°. 11. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL GRUPO T1 (EXTRACTO DE AL 100%) PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIA. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)				
		0 min	36 min	86 min	6H	12H
TRATAMIENTO 1 (100%)	a	78	361	164	118	98
	b	99	336	238	133	100
	c	95	301	185	102	99
PROMEDIO		90,67±11,2	333±24,6	160±35,8	159±24,2	109±5,0

Los valores de glicemia a los 36 min en el Tratamiento 1 (extracto acuoso de alpieste al 100%) alcanzan niveles muy elevados (333±24,61mg/dL.) esto puede deberse a la cantidad de almidón presente en el extracto ya que es el más concentrado, sin embargo a los 86 min, estos valores disminuyen en comparación con el grupo C1 hasta alcanzar un valor promedio de 160±35,8, que se mantiene hasta las 6h después de la administración de sobrecarga y se estabiliza a las 12 h.

CUADRO N°. 12. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL GRUPO T2 (EXTRACTO AL 70%) PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)				
		0 min	36 min	86 min	6H	12H
TRATAMIENTO 2 (70%)	a	85	216	131	118	100
	b	91	189	152	125	87
	c	89	156	142	89	98
PROMEDIO		88,3±3,1	187±30,1	142±10,5	111±19,1	95±7

Los valores de glicemia a los 36 minutos en el Tratamiento 2 (extracto acuoso de alpiсте al 70%) alcanzan niveles fuera de los normales (187 ±30,1 mg/dL) (Cuadro N° 12), pero que a medida que pasa el tiempo van disminuyendo alcanzando así a los 86 min. una glicemia promedio de 142±10,5mg/dL, misma que se encuentra por debajo de los valores del grupo C1, llegando hasta establecerse en los valores normales transcurrido 12h.

CUADRO N°. 13. RESULTADOS DE GLICEMIAS EN mg/dL TOMADOS AL GRUPO T3 (EXTRACTO DE 30%) PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*) EN RATONES. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIA. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO DEL 2012.

GRUPO	REPETICIÓN	GLICEMIAS (mg/dL)				
		0 min	36 min	86 min	6H	12H
TRATAMIENTO 3 (30%)	a	78	241	237	113	108
	b	85	256	222	128	90
	c	73	248	229	102	96
PROMEDIO		78,7±6,03	248±7,51	229±7,51	114±13,05	98±9,17

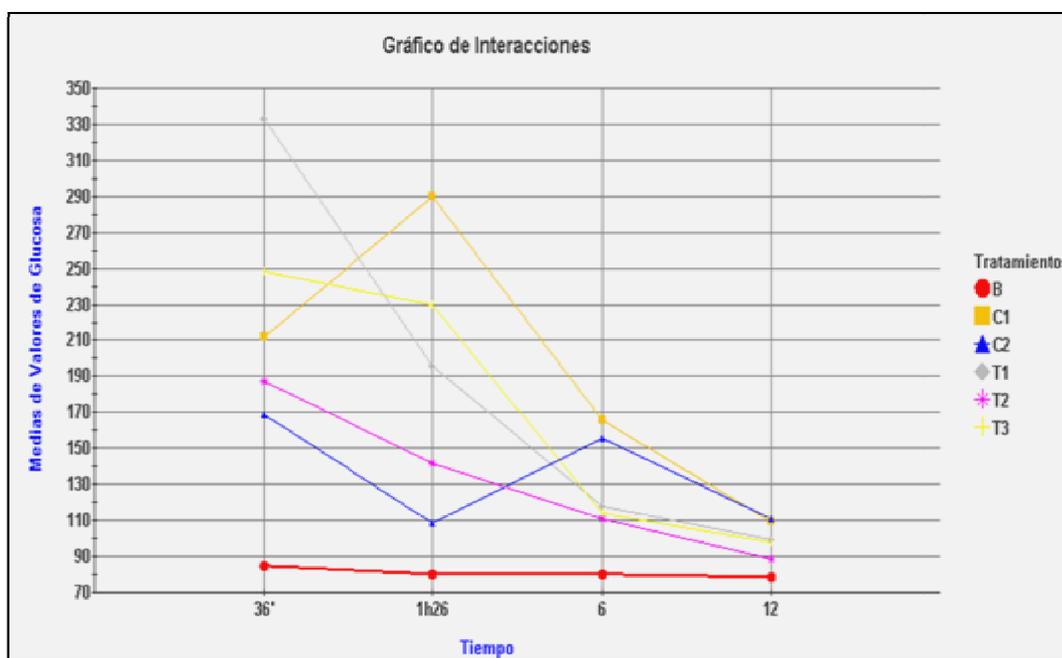
El Cuadro N° 13 muestra los valores de glicemia que se presenta tras la administración del T3 (extracto acuoso de alpiсте al 30%) alcanzan niveles elevado de glucosa a los 36 minutos (248 7,51mg/dL) y se mantienen no muy variables hasta los 86 min (229±7,51 mg/dL), se recupera el valor normal de glicemia pasado las 12 h.

TABLA N°. 4. VALORES PROMEDIO DE GLUCEMIAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

	0 min	36 min	86 min	6h	12h
C1	88,7±5,68	212±14,62	290±42,34	166±7,29	109±4,05
C2	95±5,29	169±3,86	109±13,70	152±29,39	111 ±11,09
T1	90,67±11,2	333±24,6	160±35,8	159±24,2	109±5,0
T2	88,3±3,1	187±30,1	142±10,5	111±19,1	95±7
T3	78,7±6,03	248±7,51	229±7,51	114±13,05	98±9,17

GRÁFICO N°. 2 VALORES DE GLICEMIA DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

El Gráfico N°.2 nos muestra los valores de glicemia que presentan todos los grupos de estudio a los tiempos establecidos, lo que nos permite compararlos, y observar que existe una disminución a los 86 min, de los niveles de glucosa con los tratamientos (T1, T2, T3), en relación con el Grupo C1, que no recibió ningún tratamiento solo la sobrecarga de sacarosa, el grupo C2 demuestra una mayor disminución de los valores de glucosa ya que fue administrado el medicamento comercial (EUGLUCON).



3.4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE GLICEMIAS CON RESPECTO A LOS DIFERENTES TRATAMIENTOS APLICADOS EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*).

En base a estos parámetros analizados se planteó la hipótesis estadística permitiendo aplicar test de ANOVA para verificar si existe diferencias entre cada uno de los tratamientos.

H₀: No existe diferencia entre cada uno de los extractos administrados a los sujetos de experimentación tras la inducción de sobrecarga de sacarosa.

H₁: Al menos uno de los tratamientos administrados es diferente.

CUADRO N° 14. RESULTADOS DE ANOVA.

	Suma de cuadrados	G.L	Cuadrado Medio	F-valor	p-valor
Tratamientos	394.575,1000	4	986.877,50	5,1461	0,0014
Tiempo	151.303	3	50435,4222	26,2996	2,00E-10
Residual	99.722	52	1.917,7224		
Total (corr.)	290.503	59			

En el cuadro N° 14 se muestra que la probabilidad es menor a 0.05, por lo que se rechaza la hipótesis nula, y aceptando la hipótesis alternativa determinandose que existe diferencia entre alguno de los tratamientos administrados a los sujetos de experimentación. Por lo que se aplicó el test estadístico para comparación de grupos homogenios y se establece la diferencia entre los tratamientos utilizados.

CUADRO N° 15. COMPARACIONES MÚLTIPLES ENTRE GRUPOS HOMOGÉNEOS

Anova Dos Factores. Comparaciones Múltiples			
Variable Respuesta:		Valores de Glucosa	
Variable(s) Explicativa(s):		Tratamientos, Tiempo	
Número de Casos:		60	
Modelo sin interacciones			
con I.C. LSD al 95.0%			
Tratamientos	n	Media	Grupos Homogéneos
T2	12	132.0000	X
C2	12	135.8333	X
T3	12	172.5000	X
T1	12	186.2500	X
C1	12	194.0833	X
Contraste	Diferencia	+/- Limite	
C1 VS C2	*58.2500	*35.8745	
C1 VS T1	7.8333	35.8745	
C1 VS T2	*62.0833	*35.8745	
C1 VS T3	21.5833	35.8745	
C2 VS T1	*-50.4167	*35.8745	
C2 VS T2	3.8333	35.8745	
C2 VS T3	*-36.6667	*35.8745	
T1 VS T2	*54.2500	*35.8745	
T1 VS T3	13.7500	35.8745	
T2 VS T3	*-40.5000	*35.8745	
* Diferencia estadísticamente significativa.			

El test de comparaciones múltiples (Cuadro N°15) muestra que no existe una diferencia significativa entre los grupos C1 y el tratamiento T1 (dosis al 100% del extracto acuoso de alpiste), entre el grupo C2 y el tratamiento T2 (dosis al 70% del extracto acuoso de alpiste). También entre los tratamientos T1 y T3 (dosis al 100% y 30%, respectivamente del extracto acuoso de alpiste). Lo que nos da a conocer que el grupo al que se aplicó el tratamiento T2 posee un mejor efecto de reducción de los niveles de glucosa en los sujetos de experimentación de igual manera con el grupo C2 que recibió tratamiento con el medicamento comercial (EUGLUCON), lo que no sucede con los T1 y T3 ya que sus valores son homogéneos con el grupo C1. Estos resultados no pueden ser comparados ya que no se han realizado otros estudios acerca de la actividad hipoglicémica de las semillas de alpiste.

3.4.2 DETERMINACIÓN DE PESO INICIAL Y FINAL DE TODOS LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

CUADRO N°. 16. DIFERENCIA DE PESO DURANTE 15 DIAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO-ABRIL 2012.

GRUPO	PESO INICIAL (±2g)	PESO FINAL (±2g)	DIFERENCIA DE PESO
B	32,6	33,33	1,53
C1	32,8	32,5	1,67
C2	31,5	29,6	-0,9
T1	28,3	29,43	1,17
T2	27,0	27,53	0,50
T3	29,1	30,27	1,17

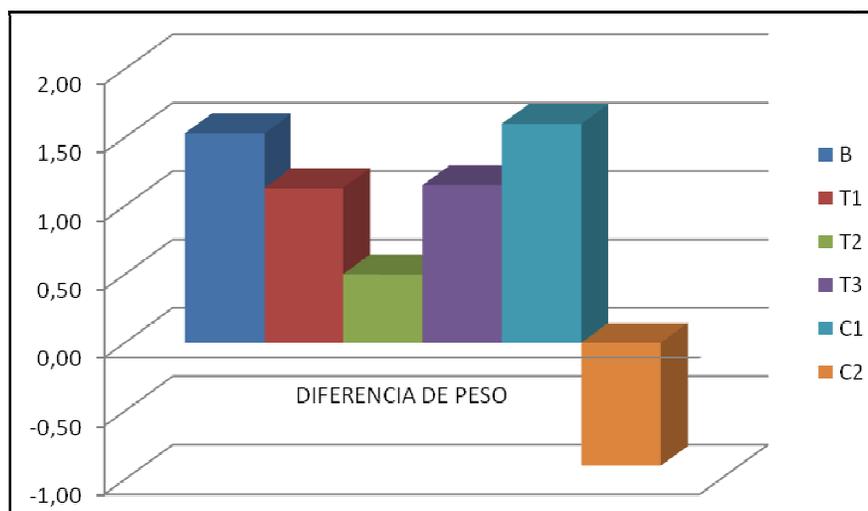


GRÁFICO N°. 3 DIFERENCIA DE PESO DURANTE 15 DIAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

El Gráfico N° 3, nos muestra que existe una mayor pérdida de peso del control positivo (C2), que fue tratado con el medicamento comercial (EUGLUCON), sin embargo los tratamientos con extracto de semilla de alpiste al 100, 70 y 30% también muestran una disminución de peso corporal en relación con el Blanco (B), que se mantuvo en condiciones normales, sin administración de ninguna sustancia y el control negativo (C1)

que recibió un placebo como tratamiento. Siendo más notoria la disminución de peso con extracto de semilla de alpiste al 70%.

3.4.3 DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA EN DOSIS REPETIDAS.

Para el estudio de toxicidad aguda se tomó 4 grupos de 3 ratones (*Mus musculus*) al cual se le administró durante 15 días por vía oral 1 mL del extracto acuoso al 100%, 70%, 30% y 0% respectivamente y al final de esto fueron sacrificados y realizado el estudio histopatológico de hígado y riñones, tomando al azar un ratón por cada lote.

CUADRO N°. 17. PROTOCOLO FARMACOLÓGICO DEL ESTUDIO DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE ALPISTE AL 100, 70 y 30 % (*Phalaris canariensis*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2012.

GRUPO	B	X	Y	Z
1	B1	X1	Y1	Z1
2	B2	X2	Y2	Z2
3	B3	X3	Y3	Z3

B= Ratones sin tratamiento

X= Ratones administrados extracto acuoso de alpiste al 100% durante 15 días.

Y= Ratones administrados extracto acuoso de alpiste al 70% durante 15 días.

Z= Ratones administrados extracto acuoso de alpiste al 30% durante 15 días.

CUADRO N°.18. RESULTADOS HISTOPATOLÓGICOS DE ÓRGANOS: HÍGADO Y RIÑONES PARA LA DETERMINACIÓN DE TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO DE ALPISTE AL 100, 70 y 30 %. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2012.

GRUPO	ESTUDIO MICROSCÓPICO		
	HÍGADO	RIÑÓN DERECHO	RIÑÓN IZQUIERDO
X	Histológica normal	Histológica normal	Histológica normal
Y	Histológica normal	Histológica normal	Histológica normal
Z	Histológica normal	Histológica normal	Histológica normal

En el cuadro N° 18 se expresan los resultados del estudio de toxicidad aguda del extracto acuoso de alpiste al 100%, 70% y 30%, mediante el estudio histológico de los órganos más comprometidos (hígado y riñones), se encuentran en condiciones normales, sin ningún daño, lo que nos indica que el extracto acuoso de alpiste no posee un toxicidad en sus diferentes concentraciones. (ANEXO N°9)

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Los resultados del control de calidad de la semilla de alpiste, (humedad, cenizas totales, cenizas solubles en agua e insolubles en ácidos.) se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP para materia vegetal, excluyendo el análisis microbiológico que mostró alta contaminación de hongos del género *Rizophus*.
2. El extracto acuoso de la semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*) muestra metabolitos secundarios tales como, resina, compuestos esteroidales, compuestos nitrogenados, y sustancias grasas que son los posibles agentes que intervienen en el efecto hipoglicemiante de esta semilla.
3. Estadísticamente no existe una diferencia significativa entre los grupos C2 que recibió tratamiento con el medicamento comercial (EUGLUCON) y T2 (dosis al 70% del extracto acuoso de alpiste) mostrándose ser grupos homogéneos. Lo que no sucedió con los grupos tratamientos T1 y T3 (dosis al 100% y 30% del extracto acuoso de alpiste respectivamente) que muestran una diferencia significativa con el grupo Control (C2). Comprobándose que el extracto acuoso de la semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*) en una dilución del 70% posee mejor actividad hipoglicemiante, en ratones (*Mus musculus*) con hiperglucemia inducida mediante una sobrecarga de sacarosa, que a concentraciones de 100% y 30%.
4. Se evidenció una reducción de peso en los animales con tratamiento durante 15 días del extracto acuoso de alpiste al 100%, 70% y 30%, siendo mayor efectivo el extracto al 70% ya que existe una mayor pérdida de peso en comparación con los animales que no recibieron ningún tratamiento.

5. Las dosis del extracto acuoso de la semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*) al 100, 70 y 30% no posee actividad toxicológica demostrada mediante el estudio histopatológico de los órganos que fueron más comprometidos durante el estudio: hígado y riñones, que presentan una histología normal.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios fitoquímicos más amplios para conocer los componentes presentes en la semillas de alpiste (*Phalaris canariensis*) e investigar nuevas propiedades farmacológicas.
2. Se recomienda ampliar la investigación implicando otros métodos de estudio y estableciendo la dosis efectiva que posee la actividad.
3. Seleccionar el alpiste que es apto para el consumo humano libre de sílica, y que cuente con una inocuidad apropiada puesto que ésta puede causar alteraciones a la salud a largo plazo.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

Evaluar el efecto hipoglicemiante de la semilla de alpiste (*Phalaris canariensis*), en ratones (*Mus musculus*) con hiperglicemia inducida mediante una sobrecarga de sacarosa, este estudio se realizó en el bioterio de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

Se utilizó el método experimental, para lo cual se empelaron 18 ratones que fueron divididos en 6 grupos de 3 animales cada uno denominados: T1, T2, T3 (dosis al 100%, 70% y 30% de extracto de semilla de alpiste respectivamente), C1 (Control negativo), C2 (Control positivo, dosis de Glibenclamida 0.3g/kg) y B (Blanco, grupo de referencia), Una vez administrado los tratamientos a los grupos de estudio se indujo la hiperglucemia, para lo cual 30 minutos después de la administración de los tratamientos se administró por vía oral una solución de sacarosa de 14g/kg. Posteriormente se evaluó la glicemia mediante tiras reactivas y leídas en el medidor de glicemia PRODIGY, a los 36 minutos, 86 minutos, 6 y 12 horas después de la sobrecarga de sacarosa.

Los resultados se analizaron estadísticamente a través del test ANOVA y prueba de Tuckey al 5%, estableciéndose una disminución de glucemia en un 44% con el tratamiento T1, 54 % con el tratamiento T2 y 21% con el tratamiento T3, en relación con el medicamento comercial que reduce la glicemia en un 62,4%.

Concluyendo que el extracto acuoso de alpiste posee efecto hipoglicemiante, siendo el mejor tratamiento el extracto acuoso al 70%, además el estudio histopatológico demuestra que el alpiste no posee efecto tóxico.

Es recomendable realizar estudios más amplios ya que es un gran aporte para nuevos tratamientos para diabetes.

SUMMARY

This research was conducted in the animal facility of the Sciences Faculty of the Superior Polytechnic of Chimborazo to evaluate the effect hypoglycemic birdseed in mice (*Mus musculus*) with hyperglycemia induced by sucrose overload.

The experimental method was used, and 18 mice were manipulated, divided into 6 groups of 3 animals each denominated T1, T2, T3 (dose 100%, 70%, 30% birdseed extract respectively), C1 (negative control), C2 (positive control, Glibenclamide dose 0.3 g/kg) and B white group), once treatments administered the study groups was induced hyperglycemia, 30 minutes after administration of treatments were administered orally 14 g/kg sucrose solution. Subsequently glycemia was evaluated using test strips and meter read in the glycemic PRODIGY, 36 minutes, 86 minutes, 6 and 12 hours after sucrose overload.

The results were statistically analyzed by the ANOVA test and Tukey at 5%, settling glucose decreased 44% by treatment T1, 54% to 21% treatment with T2 and T3, related to the commercial drug that lowers blood glucose by 62%.

It concluded that the aqueous extract has hypoglycemic effect birdseed, with the best treatment to 70%, and the histopathologic study showed that the toxic effect has not birdseed.

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA

- 1) **ABRAMSON, J.,** Overdosed America: The Broken Promise of American Medicine., s. ed., Harper Perennial., 2005., Pp. 230-232.
- 2) **AMERICAN DIABETES ASSOCIATIONS.,** Diabetes A to Z., Traducido del inglés por Beatriz Magri., Nueva York-Estados Unidos., Paidós., 2004., Pp. 173-174.
- 3) **AMOROSO, A., TORRES, H.** Insulino resistencia, prediabetes, diabetes y riesgo cardiovascular., Riobamba-Ecuador., .IESS., 2007., 344p.
- 4) **ARENCIBA, D., Y OTROS.,** Consideraciones importantes acerca de la cuarentena de ratas y ratones como biomodelos experimentales en toxicología. Veterinaria Argentina., Buenos Aires-Argentina., 2010., Vol. 25., Pp10-18.
- 5) **ARTEAGA, A., Y OTROS.,** Manual de diabetes y enfermedades metabólicas. Depto. Nutrición, diabetes y metabolismo. Escuela de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. 1997., Pp. 115-126.

- 7) **GARCÍA, C.**, Diabetes mellitus gestacional., Medicina Interna., Vol. 24., México., 2008., Pp. 148-151.
- 8) **HEM, A., SMITH, A., Y OTROS.**, Punción en la vena safena para la obtención de muestras sanguíneas del ratón, rata, hámster, gerbillo, cobayo, hurón y visón., Traducido del inglés por; ÁGUEDA MARÍA., 1998., Pp. 364-368.
- 9) **KATZUNG, B.**, Farmacología básica y clínica., 7a ed., México DF., Manual Moderno., 2007., Pp. 808-810.
- 10) **MOHR, K.**, Atlas de Farmacología., Madrid-España., Elsevier., 2004., Pp.268.
- 11) **MORALES, M., MORALES, J.**, Plantas medicinales y medicina natural., 2ª ed., Santiago -Chile., s.ed., 2009., Pp. 4-7.
- 12) **NAVARRO, M., Y OTROS.**, Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *phyllanthus sellowianus* ("sarandí blanco") en ratones C57BL/Ks. Buenos Aires-Argentina., Pp. 520-522.
- 13) **PERÚ, MINISTERIO DE SALUD.**, Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón., Lima-Perú., 2004., Pp. 7-11, 24-31, 39-4.
- 14) **SARAVIA, A.**, Manual de Ensayos Toxicológicos y Farmacológicos Experimentales In Vivo o In Vitro. Guatemala., 2005., Pp. 65-109; 543-549
- 15) **TREASE, G., EVANS, E.**, Farmacognosia., 13ª. ed., México. Interamericana Mc GrawHill., 1991., Pp 125-130.

- 16) **WAGNER, H., BLADT, S.,** Análisis de plantas y drogas., Berlín. Springer Verlag., 1996., Pp. 195-245.
- 17) **ASOCIACION LATINOAMERICAN DE DIABETE.** Guía de diagnóstico, control y tratamiento de diabetes mellitus tipo 2. Revista ALAD. Bogotá-Colombia., Vol 1., 2006., Pp. 7-18.
- 18) **CORRAL, A., Y OTROS.,** Droga cruda y extracto fluido de *Tecoma stans L.* Revista Cubana Plantas medicinales., La Habana-Cuba., N° 1., 2002.
- 19) **DEHESA, M.,** La legislación vigente en Ecuador para la fabricación, uso y comercialización de plantas medicinales y fitomedicamentos., Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas., Vol.8 N°1., Santiago – Chile., 2009.,Pp. 53-54.
- 20) **GRANDA, M., FUENTES, Y OTROS.,** Sustancias biológicamente activas. Plantas medicinales I. La Habana-Cuba., N° 1., 1988., Pp. 4 -7.
- 21) **ARAGADVAY, S.,** Elaboración y control de calidad de tintura y gel cicatrizante y antiinflamatorio a base de chilca (*Baccharis latifolia*) y hierbamora (*Solanum nigrum*)., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2009., Pp 86-95.
- 22) **CARRILLO, P.** Comprobación del efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de noni (*Morinda citrifolia*) en ratas (*Rattus*

novergicus) con hiperglucemia inducida., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2011., 128 p.

- 23) ESCOBAR, C.** Estandarización de dos extractos del rizoma de la planta Zarzaparrilla (*Smilax Domingensis*), Proveniente el Departamento De Santa Rosa, para desarrollo fitofarmacéutico a nivel de laboratorio, utilizando la extracción por percolación de lecho estático con 24 Horas de reposo., Universidad San Carlos de Guatemala., Facultad de Ingeniería., Guatemala., TESIS., 2007., Pp. 8-12.
- 24) LEON, J.** Efecto hipoglucemiante del extracto de las hojas de frutipan (*Artocarpus altilis*) en ratas (*Rattus novergicus*) con hiperglucemia inducida. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2011., Pp. 64-69.
- 25) MAZÓN, A.** Determinación de buenas prácticas de producción de ratones (*Mus musculus*) en el bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2009., Pp. 60-80.
- 26) ROSERO, M.** Efecto Hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (*Cinnamomum Zeylanicum*), en ratas (*Rattus novergicus*) con hiperglucemia inducida. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Escuela Bioquímica y Farmacia., Riobamba-Ecuador., TESIS., 2010., Pp. 30-75

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

27) ALPISTE.

www.gov.mb.ca/trade/globaltrade/agrifood/pdf/cta79s17.pdf
2012/05/12

**28) ANÁLISIS DE LA GLUCEMIA Y PARÁMETROS
RELACIONADOS.**

<http://www4.ujaen.es/~esiles/TEMA%202.pdf>
2012/05/26

**29) ANNUAL CANARY GRASS PHALARIS-CANARIENSIS
CULTIVA**

<http://www.hort.purdue.edu/newcrop/afcm/cangrass.html>
2011/05/10

**30) ASOCIACIÓN ORNITOLÓGICA NATURALISTA
CULTURAL DE GRANADA.
ALIMENTACIÓN.**

<http://supercanarios.tripod.com/alimentacion.htm>
2012/10/13

**31) BIBLIOTECA DIGITAL DE MEDICINA TRADICIONAL
MEXICANA. UNAM. ALPISTE.**

[http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/busqueda
_php?dato=ALPiSTE&buscar=Buscar](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/busqueda.php?dato=ALPiSTE&buscar=Buscar)
2011/12/12

32) CARIOTIPO. GENOMA COMPLETO.

http://www.ensembl.org/Mus_musculus/Location/Genome
2011/10/15

33) DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LA DIABETES MELLITUS Y OTROS PROBLEMAS METABÓLICOS ASOCIADOS A REGULACIÓN ALTERADA DE LA GLUCOSA.

<http://revistaalad.com.ar/website/articulo.asp?id=13>
2012/05/12

34) DETERMINACIÓN DE PH EN AGUA.

<http://arturobola.tripod.com/ph.htm>
2011/12/18

35) DIABETES.

<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>
2011/10/13

36) DIAGNÓSTICO, CLASIFICACIÓN Y PATOGENIA DE LA DIABETES MELLITUS.

<http://www.revespcardiol.org/es/revistas/revista-espa%C3%B1ola-cardiologia-25/diagnostico-clasificacion-patogenia-diabetes-mellitus-13031154-diabetes-enfermedades-cardiovasculares-2002>
2011/10/15

37) EXTRACCIÓN DE SANGRE EN LOS MAMÍFEROS Y AVES DE LABORATORIO.

<http://www.fcv.unl.edu.ar/comite/ExtracciondeSangreenlosMamiferosyAves.pdf>
2012/05/12

38) GLIBENCLAMIDA.

<http://www.plmfarmacias.com/colombia/DEF/PLM/productos/27933.htm>

2012/05/21

39) HOMEOSTASIS ENERGÉTICA.

<http://prodanimal.fagro.edu.uy/cursos/AFA/TEORICOS/11%20%20Homeostasis%20energetica.pdf>

2012/05/11

40) MARAVILLAS Y PROPIEDADES DEL ALPISTE

<http://saludnatural.biomanantial.com/maravillas-propiedades-delalpiste/>

2011/10/04

41) NIVELES ALTOS Y BAJOS DE GLUCOSA

http://www.niprodiagnostics.com/diabetes_resources/downloads/true_insightMKT0165S-high%20low-sp.pdf

2012/05/20

42) NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-062-ZOO-1999

<http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/principal/archivos/062ZOO.PDF>

2012/ 04 /22

43) NORMA PARA MEDICAMENTOS NATURALES, TRADICIONALES Y HOMEOPÁTICOS.

<http://www.sns.gob.bo/aplicacionesweb/unimed/reg-far/14.htm#>

2011/12/12

**44) OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS
MEDICINALES.**

[http://www.slideshare.net/estrategiafarmacologica/plantas-
medicinales-2462428](http://www.slideshare.net/estrategiafarmacologica/plantas-medicinales-2462428)

2011/10/09

45) PÁNCREAS ENDOCRINO

[http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/fisiologia-
animal/Material%20de%20clase/bloque-3-cap-8-tema-7.-
pancreas-endocrino](http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/fisiologia-animal/Material%20de%20clase/bloque-3-cap-8-tema-7.-pancreas-endocrino)

2012/05/21

46) PHALARIS-ALPISTE

[http://curaparaladiabetes.com/alpiste-para-combatir-la-
diabetes](http://curaparaladiabetes.com/alpiste-para-combatir-la-diabetes)

2011/10/05

47) PHALARIS CANARIENSIS

http://es.wikipedia.org/wiki/Phalaris_canariensis

2012/05/21

48) PRODUCTOS NATURALES.

http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol35_3_01/far07301.pdf

2012/05/21

49) PROPIEDADES DEL ALPISTE.

<http://www.estebanmayo.com/alpiste/alpiste.html>

2012/ 04 /22

50) REQUISITOS PARA LA SOLICITUD DE INSCRIPCIÓN, RENOVACIÓN Y MODIFICACIÓN EN EL REGISTRO DE MEDICAMENTOS DE ORIGEN NATURAL DE USO HUMANO.

<http://www.monografias.com/trabajos66/extractos-plantas-medicinales/extractos-plantas-medicinales2.shtml>.

2012/05/21

51) SÍNTOMAS DE LA DIABETES

http://api.ning.com/files/8Ay8ZnfHuPWWHQvCFRfSoyAWwSochmefFIjse*on1FWmBU2K1S1KdADL.EHswue*2*bpqQHsGZ3VKnpiJHcDusi4YMpb8rx/04RevistaDiabeteseldulceplacerdelavida.pdf

2012/05/11

52) STRUCTURAL AND COMPOSITIONAL CHARACTERISTICS OF CANARYSEED (*Phalaris canariensis* L).

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf970100x>

20111002

53) TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS FLORES DE *Hibiscus e.*

<http://www.pedagogiaprofesional.rimed.cu/Vol5%20no2/yaque2.htm>

2011/10/15

54) TAMIZAJE FÍTOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICO, ETÉREO Y ACUOSO DE HOJAS Y FLORES DE LA TURNERA *Ulmifolia* L.

<http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v9n1/rondonarias.pdf>

2012/05/21

55) TÉCNICAS DE INOCULACIÓN Y SANGRIA DE ANIMALES.

[http://es.scribd.com/doc/3288391/TECNICAS-DE-INOCULACION-Y-SANGRIA-DE-ANIMALES.](http://es.scribd.com/doc/3288391/TECNICAS-DE-INOCULACION-Y-SANGRIA-DE-ANIMALES)

2011/10/12

56) TENDENCIAS ACTUALES EN EL CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS NATURALES.

<http://www.bioquimifarma.org/Conferencias/ControlProductosNaturales.pdf>

2011/12/12

57) TOXICIDAD DEL ALPISTE.

<http://www.plantasparacurar.com/toxicidad-del-alpiste/>

2011/12/12

58) USOS MEDICINALES Y APLICACIONES CURATIVAS DEL ALPISTE.

<http://alimentosparacurar.com/n/315/propiedades-curativas-del-alpiste.html>

2011/12/12

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO N° 1. MATERIA PRIMA UTILIZADA EN LA PREPARACIÓN DEL EXTRACTO ACUSO DE ALPISTE. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2012.



FOTOGRAFÍA N° 4. SEMILLA Y EXTRACTO DE ALPISTE.

ANEXO N° 2. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD Y CENIZAS DE ALPISTE. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2012.



FOTOGRAFÍA N° 5. DETERMINACIÓN DE DEL CONTENIDO DE HUMEDAD DE LA SEMILLA DE ALPISTE.



FOTOGRAFÍA Nº 6. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES E INSOLUBLES DE LA SEMILLA DE ALPISTE

ANEXO Nº 3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE. LABORATORIO DE PRODUCTOS NATURALES. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. FEBRERO 2012.



FOTOGRAFÍA Nº 7. ENSAYOS DE IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE.

ANEXO N° 4. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA SEMILLA DE ALPISTE. LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL 2012.



FOTOGRAFÍA N° 8. *Rizopus*

ANEXO N° 5 AMBIENTACIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO PARA EL ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.



FOTOGRAFÍA N° 9.HÁBITAT DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.



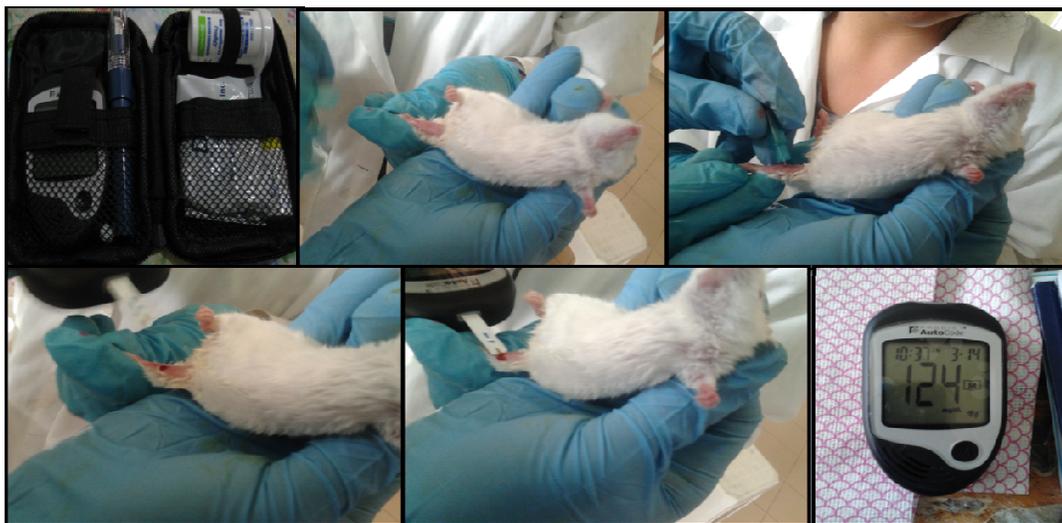
FOTOGRAFÍA N° 10. MANIPULACIÓN Y TOMA DE PESO DE LOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.

ANEXO N° 6. ADMINISTRACIÓN DE SUSTANCIAS PARA LA EVALUCIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.EPOCH. RIOBAMBA. MARZO-ABRIL 2012.



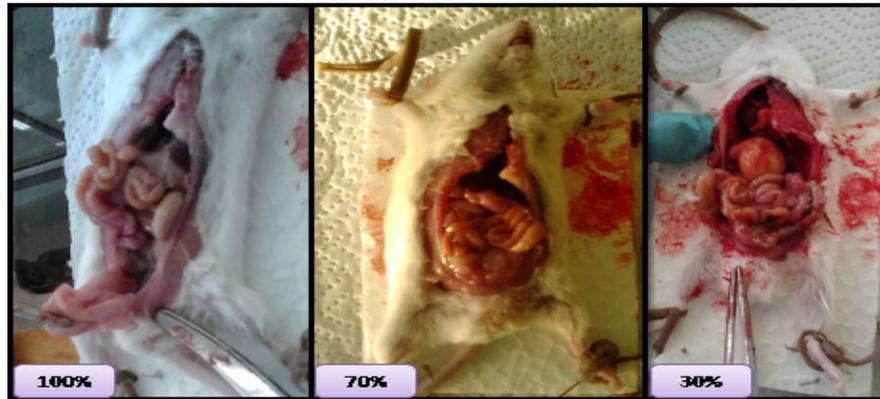
FOTOGRAFÍA N° 11. MATERIALES Y ADMINISTRACIÓN DE EXTRACTO AL 100%.

ANEXO N°7. TOMA Y LECTURA DE MUESTRAS DE SANGRE PARA LA EVALUCIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLUCEMIANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.EPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

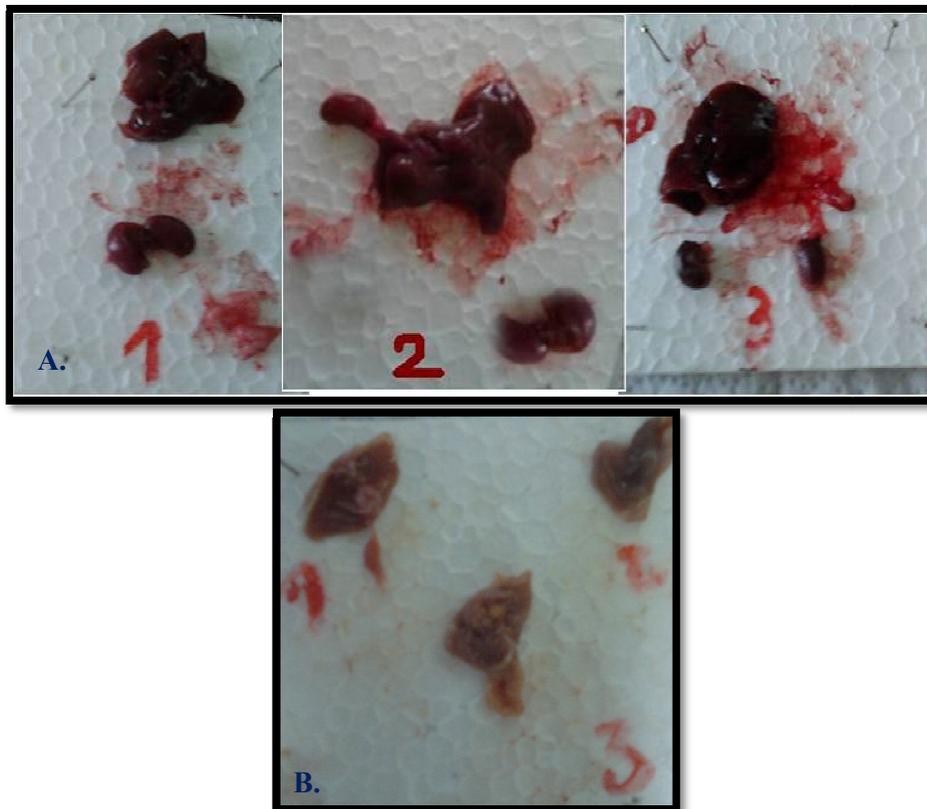


FOTOGRAFÍA N° 12. TOMA DE MUESTRA Y LECTURA DE GLICEMIA.

ANEXO N° 8. ESTUDIO TOXICOLÓGICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE ALPISTE. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS.ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL 2012.



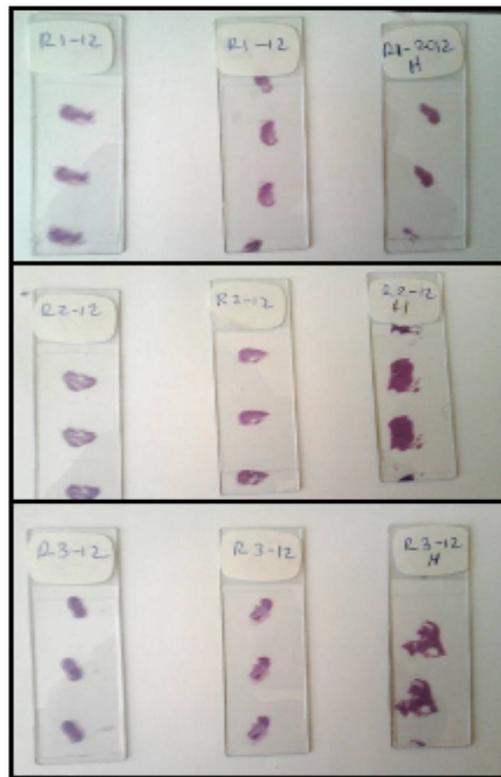
FOTOGRAFÍA N° 13. ANATOMÍA INTERNA DEL RATÓN.



FOTOGRAFÍA N° 14. ÓRGANOS PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO. (A. HÍGADO, RIÑONES,



FOTOGRAFÍA Nº 15. CORTES HISTOÓGICOS DE HÍGADO Y RIÑONES.



FOTOGRAFÍA Nº 16. PLACAS DE HÍGADO Y RIÑONES PARA EL ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.

ANEXO N°9. RESULTADOS DEL ESTUDIO HISTOPATOLOGICO. ABRIL 2012.

EXAMEN HISTOPATOLÓGICO DE RATONES ALBINOS
ADMINISTRADOS EXTRACTO ACUOSO DE ALPITE

LOTE	MACROSCÓPICO	MICROSCÓPICO
LOTE 1 (Extracto 100%)		
R1/12	Riñón derecho: 1,4x1x0,6 cm	Glomérulos conservación de la membrana, túbulos de calibre y contenido normal, ligera congestión vascular y pequeños focos de linfocitos.
R1/12	Riñón izquierdo: 1,4x1x0,6 cm	
R1/H12	Hígado: 3,0x2,8x 0,7cm	Globulillos hepáticos de arquitectura conservada, espacio porta normales, vasos congestivos.
LOTE 2 (Extracto 70%)		
R2/12	Riñón derecho: 1,4x1x0,6 cm	Glomérulos conservación de la membrana, túbulos de calibre y contenido normal, ligera congestión vascular y pequeños focos de linfocitos.
R2/12	Riñón izquierdo: 1,4x1x0,6 cm	
R2/H12	Hígado: 4,0x2x 1 cm	Globulillos hepáticos de arquitectura conservada, espacio porta normales, vasos congestivos.
LOTE 3 (Extracto 30%)		
R3/12	Riñón derecho: 1,4x1x0,5 cm	Glomérulos conservación de la membrana, túbulos de calibre y contenido normal, ligera congestión vascular y pequeños focos de linfocitos.
R3/12	Riñón izquierdo: 1,4x1x0,5cm	
R3/H12	Hígado: 3,8x2,5x 0,8 cm	Globulillos hepáticos de arquitectura conservada, espacio porta normales, vasos congestivos.

Dr, Oswaldo Duque

ANEXO N° 10. RESULTADOS DEL ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LA SEMILLA DE ALPISTE. ABRIL 2012.



Contáctanos: 093387300 - 032942022 ó 093806600 - 03360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba - Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

CLIENTE: Srta. Silvia Reinoso		CODIGO: 46-12
DIRECCION: Nathaly Torres y Simón Bolívar		TELEFONO: 084503080
TIPO DE MUESTRA: Extracto acuoso de alpiste		
FECHA DE RECEPCIÓN: 2012-04-16		
FECHA DE MUESTREO: 2012-04-16		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Blanco		
OLOR: Característico		
ASPECTO: Líquido		
02 DETERMINACIONES	METODO USADO	VALOR ENCONTRADO
Recuento de aerobios mesofilos UFC/ml	Vertido en placa	1570
Coliformes fecales UFC /ml	Petrifilm	< 10
03 OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANALISIS: 2012-04-16		
FECHA DE ENTREGA: 2012-04-19		
RESPONSABLES:		
 Dra. Gina Álvarez R.		
 Dra. Fabiola Villa		
 SACMIQ LABORATORIOS DRA. GINA ALVAREZ RESPONSABLE		

El informe sólo afecta a la muestra solicitada a Ensayo, el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad previo autorización de los responsables.

*La muestra es receptada en el laboratorio



Contáctanos: 093387300 - 032942022 ó 093806600 - 03360-260
Av. 11 de Noviembre y Milton Reyes Riobamba - Ecuador

EXAMEN MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

CLIENTE: Srta. Silvia Reinoso		CODIGO: 46-12
DIRECCION: Nathaly Torres y Simón Bolívar		TELEFONO: 084503080
TIPO DE MUESTRA: Alpiste		
FECHA DE RECEPCIÓN: 2012-04-16		
FECHA DE MUESTREO: 2012-04-16		
EXAMEN FISICO		
COLOR: Abano		
OLOR: inapreciable		
ASPECTO: Regular homogéneo tipo lenteja		
02 DETERMINACIONES	METODO USADO	RESULTADO
Reconocimiento de hongos	Vertido en placa	Presencia de Hongos Especie <i>Rhizopus</i>
03 OBSERVACIONES:		
FECHA DE ANALISIS: 2012-04-16		
FECHA DE ENTREGA: 2012-05-07		
RESPONSABLES:		
 Dra. Gina Alvarez R.		 Dra. Fabiola Villa



El informe sólo afecta a la muestra sometida a ensayo; el informe no deberá reproducirse sino en su totalidad, basándose en la autorización de los responsables.

*La muestra es receptada en el laboratorio

ANEXO N° 11. DETERMINACIÓN DE TIEMPOS PARA TOMA DE MUESTRAS. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

Tiempo	Hora	Glicemia g/dL.
0	9:00	101
	9:30	202
36 min	9:36	216
	9:40	215
	9:55	226
1H	10:00	267
	10:07	269
	10:10	265
	10:15	301
1h26	10:26	349
	10:35	205
	10:45	204
	10:10	232
2H	11:00	162
4H	13:00	158
6H	15:00	156
12H	21:00	114



GRÁFICO N° 4. NIVELES DE GLUCOSA DESPUES DE LA ADMINISTRACIÓN DE SOBRECARGA DE GLUCOSA. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO 2012.

ANEXO N° 12. RESULTADOS DE GLICEMIAS DE TODOS LOS GRUPOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO-ABRIL 2012.

CUADRO N° 19. RESULTADOS DE GLICEMIAS DE TODOS LOS GRUPOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE DEL EXTRACTO DE ALPISTE (*Phalaris canariensis*). BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. ABRIL DEL 2012.

GRUPO		REPETICIÓN	TIEMPO				
			0 min	36 min	96 min	6H	12H
BLANCO	B	a	*	99	92	96	90
		b	*	68	64	61	62
		c	*	86	83	82	84
CONTROL NEGATIVO	C1	a	87	216	349	156	114
		b	95	192	297	169	110
		c	84	227	283	173	103
CONTROL POSITIVO	C2	a	99	167	128	188	125
		b	89	174	100	116	98
		c	97	165	98	152	109
TRATAMIENTO 1 (100%)	T1	a	78	361	124	118	98
		b	99	336	140	133	100
		c	95	301	185	102	99
TRATAMIENTO 2 (70%)	T2	a	85	216	131	118	100
		b	91	189	102	88	87
		c	89	156	142	89	98
TRATAMIENTO 3 (30%)	T3	a	78	241	237	99	108
		b	85	256	222	128	90
		c	73	248	229	113	98

ANEXO N° 13. RESULTADO ESTADÍSTICO: ANOVA UN FACTOR HOCEDASTICIDAD.

Anova Un Factor, Homocedasticidad		
Variable Respuesta:	Valores de Glucosa	
Variable Explicativa:	Tratamientos	
Número de Casos:	60	
Prueba C de Cochran:	0.4252	P-valor = 0.0256
Prueba de Bartlett:	15.1097	P-valor = 0.0045
Prueba de Levene:	6.0177	P-valor = 0.0004

ANEXO N° 14. RESULTADO ESTADÍSTICO: ANOVA DOS FACTORES.

Anova Dos Factores. Estadísticos										
Variable Respuesta:		Valores de Glucosa								
Variable(s) Explicativa(s):		Tiempo, Tratamientos								
Número de Casos:		72								
Tiempo	N	Media	Mediana	Varianza	Desviación Típica	E.E. de la Media (*)	Mínimo	Máximo	Rango	
6	18	123.9444	121.5000	1137.3497	33.7246	7.9490	61.0000	188.0000	127.0000	
12	18	97.3333	98.5000	229.4118	15.1463	3.5700	62.0000	125.0000	63.0000	
36'	18	205.4444	204.0000	6363.4379	79.7712	18.8022	68.0000	361.0000	293.0000	
1h26	18	174.1111	158.0000	6056.4575	77.8232	18.3431	64.0000	349.0000	285.0000	
Total	72	150.2083	125.5000	5103.0405	71.4356	8.4188	61.0000	361.0000	300.0000	
Tratamientos	N	Media	Mediana	Varianza	Desviación Típica	E.E. de la Media (*)	Mínimo	Máximo	Rango	
T3	12	172.5000	175.0000	4952.4545	70.3737	20.3151	90.0000	256.0000	166.0000	
C2	12	135.8333	127.0000	1036.6970	32.1978	9.2947	98.0000	188.0000	90.0000	
T2	12	132.0000	128.0000	1795.6364	42.3749	12.2326	68.0000	216.0000	148.0000	
C1	12	194.0833	182.5000	5332.6288	73.0249	21.0805	103.0000	349.0000	246.0000	
T1	12	185.2500	148.5000	9703.2955	98.5053	28.4360	98.0000	361.0000	263.0000	
B	12	80.5833	83.5000	182.4470	13.5073	3.8992	61.0000	99.0000	38.0000	
Total	72	150.2083	125.5000	5103.0405	71.4356	8.4188	61.0000	361.0000	300.0000	

(*) Usar con propósito de estimación para el I.C. de la media

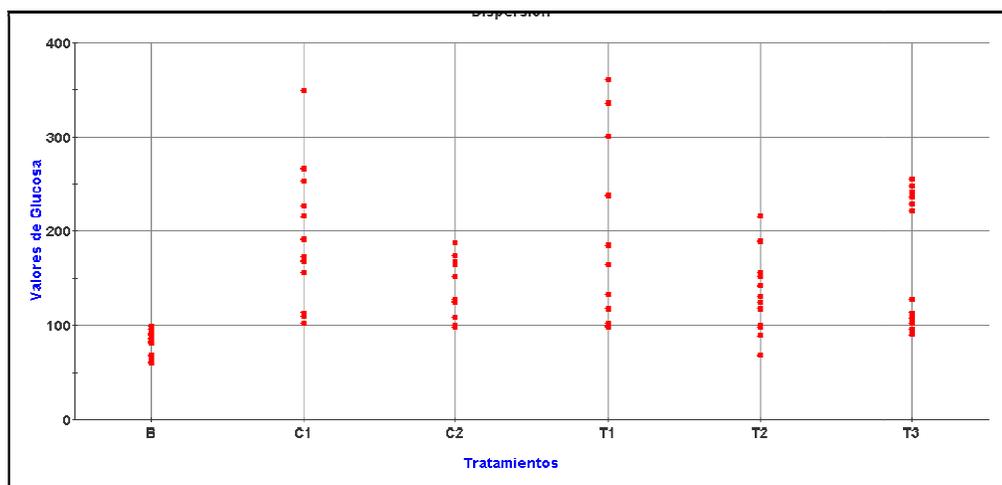


GRÁFICO N°. 5. DISPERSIÓN DE DATOS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

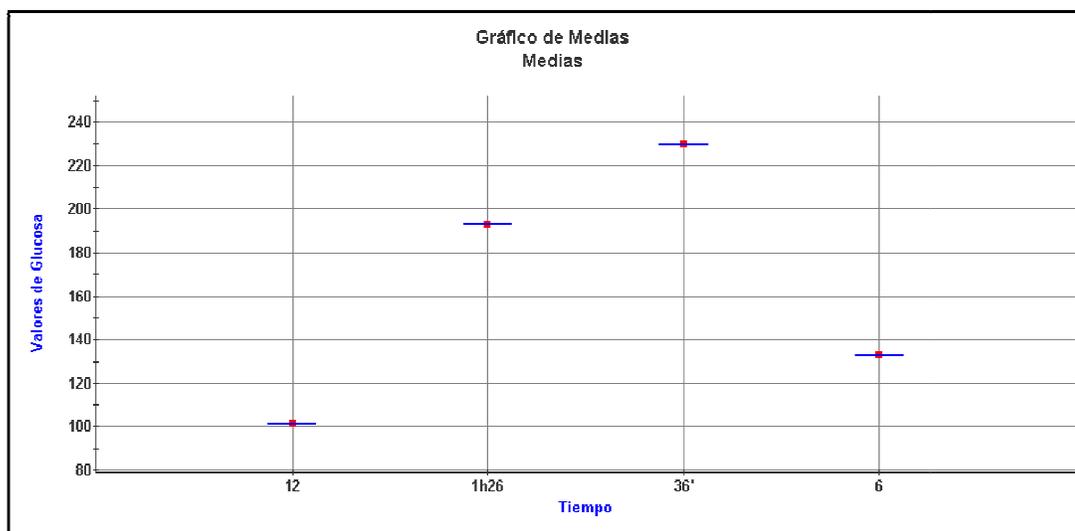


GRÁFICO N°. 6. MEDIAS EN FUNCIÓN DE DATOS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

ANEXO N° 15. RESULTADO ESTADÍSTICO: ANOVA DOS FACTORES. MEDIA E I.C

Anova Dos Factores, Medias e I.C.

Variable Respuesta: Valores de Glucosa
Variable(s) Explicativa(s): Tratamientos, Tiempo
Número de Casos: 60

Tabla de Medias

	n	Media
Total	60	164.1333
Tratamientos		
C1	12	194.0833
C2	12	135.8333
T1	12	186.2500
T2	12	132.0000
T3	12	172.5000
Tiempo		
12	15	101.0667
1h26	15	193.0000
36'	15	229.6667
6	15	132.8000

ANEXO N°. 16. PESOS DE RATONES DURANTE 15 DÍAS DE TRATAMIENTO. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. RIOBAMBA. MARZO – ABRIL 2012.

CUADRO N°. 20. PESOS DE RATONES DURANTE 15 DÍAS DE TRATAMIENTO. BIOTERIO. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. MARZO – ABRIL 2012.

FECHA	MAR/ABR	28	29	30	31	1	2	3	4	6	7	8	9	10	11
DIA	Nº	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14	15
B	I	29,5	30,5	31,7	29,5	31,6	32,3	32,5	31,7	31,0	31,2	31,2	31,5	31,4	30,8
	II	36,9	35,8	36,9	37,2	39,2	39,3	38,9	37,2	38,4	38,1	38,1	38,9	38,3	35,7
	III	31,5	31,5	32,8	31,5	32,5	33,5	33,8	33,8	34,1	34	34,1	34,3	34,2	34,5
A1	I	31,7	32,8	33,5	31,7	33,7	34,3	33,9	33,5	34,5	34,6	34,6	33,9	33,5	33
	II	27,9	26,0	26,7	27,9	29,1	29,1	28,9	26,7	28,0	27,8	27,8	28,9	27,3	27,4
	II	26,2	26,1	26,8	26,9	27,2	27,3	27,1	27,4	28,4	28,1	27,3	27,4	27,5	27,9
A2	I	25,4	25,9	28,1	25,4	28,5	29,9	28,7	28,1	28,3	27,6	27,6	27,7	27,5	26,6
	II	31,1	29,1	29,8	31,1	32,8	32,3	31,1	29,8	30,9	30,3	30,3	31,1	30,8	29,3
	II	26,5	26,1	26,2	26,3	26,1	25,4	26,5	26,1	26,3	26,1	26,4	26,8	26,8	26,7
A3	I	30,4	30,5	30,1	29,4	31,4	31,4	31,3	30,1	31,7	32,6	32,6	31,3	31,5	30,2
	II	25,8	25,6	25,9	26,9	26,0	26,8	26,3	25,9	25,8	26,3	26,3	26,3	26,1	25,7
	II	31,4	31,2	32	31,2	32,4	32,9	33,8	33,8	34,1	33,9	34,1	34,1	34,2	34,5