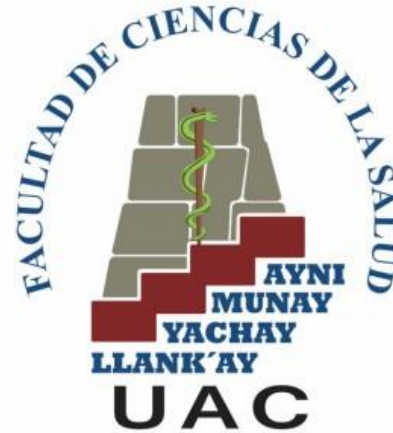




UNIVERSIDAD ANDINA DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA HUMANA



UAC



TESIS

EFEECTO HIPOGLICÉMICO DEL EXTRACTO DE *Hypericum silenoides* Juss
EN RATAS CON DIABETES EXPERIMENTAL

PRESENTADO POR:

BACH. MAYRA SAMIRA GUTIERREZ ORTIZ

BACH. MAYDER VILCA SALAS

PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE

MÉDICO CIRUJANO

ASESOR:

Mg. Q. F. RICARDO SANCHEZ GARRAFA

CUSCO – PERÚ

2020



AGRADECIMIENTO

A Dios, por la vida y la oportunidad de ser mejores cada día.

A nuestros padres, por enseñarnos a ser personas con valores y a luchar por nuestros sueños.

A nuestro asesor, por su entusiasmo y optimismo, por sus consejos y su pasión por la investigación.

A nuestros docentes, que durante la carrera se dieron el tiempo necesario para poder alimentarnos con su sabiduría, en especial al Dr. Ronny Breibat quien siempre nos apoyó y confió en nosotras.

A la Universidad Andina del Cusco, por acogernos en el camino del saber.

Al Laboratorio de Farmacotecnia (UNSAAC), por permitirnos el uso de sus instalaciones; así como, al Laboratorio Multiusos de Cromatografía y Espectrometría (UNSAAC) por el apoyo con los procedimientos realizados.

Y a todos los que nos apoyaron en esta investigación, especialmente al equipo de trabajo del Bioterio automatizado de la UAC, muchas gracias por el entusiasmo y el tiempo tomado.

**DEDICATORIA**

A Dios, por siempre guiarme en cada paso de mi vida

A los valores, forjados por mis padres, Santos Rodolfo y Carmen Reynalda.

A mis hermanos, por su apoyo moral y confiar siempre en mí, Jade Maricielo y Jhossef Rodolfo

A aquellas amistades que estuvieron conmigo en las buenas y malas, en especial a Paolita y Nohelí, mis hermanas del alma y a Mayder porque sin el equipo formado no hubiéramos logrado esta meta.

A mi padrino, José Rueda Pantigoso, por su apoyo incondicional durante mi carrera.

A mi abuelita, por siempre enseñarme que el amor y perseverancia por lo que uno hace es lo más importante y mi abuelo que, aunque no esté en vida me guía desde el cielo.

A mi familia, que con su ejemplo de trabajo me enseñaron a ser humilde y perseverante.

Mayra G.O.

A Dios y a nuestra Mamita del Carmen por haberme guiado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres, Sonia y Lucio por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional, por enseñarme que el único camino son la perseverancia y el esfuerzo para lograr mis sueños.

A toda mi familia que siempre me demuestran la capacidad de superación y la fortaleza para cada decisión.

A mis amigos y amigas con quienes viví cada lección de vida, quienes motivan mis más grandes sueños, en especial a Mayra porque sin el equipo que formamos, no hubiéramos logrado este fin.

Mayder V.S.

**CONTENIDO**

| | |
|--|----|
| CONTENIDO | 2 |
| ABREVIATURAS | 5 |
| INTRODUCCIÓN | 7 |
| RESUMEN/ABSTRACT | 9 |
| CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | |
| 1.1. Fundamentación del problema | 11 |
| 1.2. Antecedentes teóricos | 14 |
| 1.3. Formulación del problema | |
| 1.3.1. Problema general | 23 |
| 1.3.2. Problemas específicos | 23 |
| 1.4. Objetivos de la investigación | |
| 1.4.1. Objetivo general | 23 |
| 1.4.2. Objetivos específicos | 23 |
| 1.5. Justificación de la investigación | 24 |
| 1.6. Limitaciones de la investigación | 24 |
| 1.7. Aspectos éticos | 25 |
| CAPITULO II: MARCO TEORICO CONCEPTUAL | |
| 2.1. Marco teórico | 26 |
| 2.1.1. <i>Hypericum</i> | 26 |
| 2.1.2. Diabetes Mellitus | 30 |
| 2.1.3. Inducción química de diabetes mellitus experimental | 40 |
| 2.1.4. Animales de experimentación | 43 |
| 2.2. Definición de términos básicos | 45 |



| | |
|---|----|
| 2.3. Hipótesis | 47 |
| 2.4. Variables | 48 |
| 2.5. Definiciones operacionales | 48 |
| CAPITULO III: METODOS DE INVESTIGACIÓN | |
| 3.1. Tipo de investigación | 52 |
| 3.2. Diseño de la investigación | 52 |
| 3.3. Población y muestra | 53 |
| 3.3.1. Descripción de la población | 53 |
| 3.3.2. Criterios de inclusión y exclusión | 53 |
| 3.3.3. Muestra, tamaño y método de muestreo | 54 |
| 3.4. Técnicas, instrumentos y procedimiento de recolección de datos | 54 |
| 3.5. Plan de análisis de datos | 58 |
| CAPITULO IV: RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES | |
| 4.1. Resultados y discusión | |
| 4.1.1. Resultados | 59 |
| 4.1.2. Discusión | 75 |
| 4.2. Conclusiones | 79 |
| 4.3. Sugerencias | 80 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 81 |
| ANEXOS | 85 |

**RELACIÓN DE TABLAS Y GRÁFICOS****RELACIÓN DE TABLAS**

| | |
|---|----|
| ○ Tabla N° 01: Operacionalización de las variables | 51 |
| ○ Tabla N° 02: Distribución de grupos de trabajo | 52 |
| ○ Tabla N° 03: Modelo de inducción a Diabetes experimental con aloxano | 60 |
| ○ Tabla N° 04: Glicemias diarias de subgrupos de trabajo | 62 |
| ○ Tabla N° 05: Pesos interdiarios de los subgrupos de trabajo | 64 |
| ○ Tabla N° 06: Piloto de inducción con aloxano en ratas machos y hembras | 66 |
| ○ Tabla N° 07: Respuesta a la inducción de diabetes experimental con aloxano ratas machos | 67 |
| ○ Tabla N° 08: Resumen de prueba de hipótesis | 68 |
| ○ Tabla N° 09: Comparaciones de la glucosa al final del tratamiento en mg/dl | 69 |
| ○ Tabla N° 10: Diferencias de peso inicial y final por subgrupos | 72 |
| ○ Tabla N° 11: T de student de glicemia inicial y final de los subgrupos | 73 |

RELACIÓN DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| ○ Gráfico N° 01: Piloto de inducción a Diabetes experimental con aloxano en ratas machos y hembras | 66 |
| ○ Gráfico N° 02: Respuesta a la inducción de diabetes experimental con aloxano ratas machos | 67 |
| ○ Gráfico N° 03: Distribución de medianas entre los distintos subgrupos (Prueba de Kruskal Wallis) | 71 |



ABREVIATURAS

OMS: Organización mundial de la salud

DPPH: 1,1-Difenil-2-picrylhydrazyl

ABTS: ácido 2,2-azinobis-3etil benzotioazolín-6-sulfónico

FRAP: poder antioxidante de la reducción férrica

EtOAC: Acetato de etilo

MeOH: Metanol

BHT: Butilhidroxitolueno

TC: colesterol total

TG: triglicéridos

MDA: malondialdehído

SOD: Superóxido dismutasa

HDL: lipoproteínas de alta densidad

IDL: lipoproteínas de densidad intermedia

LDL: lipoproteínas de baja densidad

apoA: apolipoproteína A

apoB: apolipoproteína B

CRP: proteína C reactiva

PU: fosfato en orina

KU: potasio en orina

FBS: azúcar en la sangre en ayunas

DPPH: 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo



STZ: estreptozotocina

DM2: diabetes mellitus 2

DL50: dosis letal media

DM: diabetes mellitus

PI3K/Akt: vía fosfatidilinositol 3 kinasa

SCFA: ácidos grasos de cadena corta

ADA: Asociación americana de diabetes

VIH: virus de inmunodeficiencia humana

SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida

IFG: intolerancia a la glucosa en ayuno

IGT: intolerancia a la glucosa

MODY: diabetes de la edad madura que se presenta en el joven

CDC: centros para el control y prevención de enfermedades

HbA1c: hemoglobina glicosilada

NGSP: programa nacional de estandarización de glicohemoglobina

DKA: cetoacidosis diabética

GLP: glucagón

-SH: grupos sulfhidrilo

GSH: grupos glutatión reducido

ROS: reactivas de oxígeno

ADP: adenosín difosfato

VIP: vía intraperitoneal

H.s: Hypericum silenoides Juss



INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad cuyo marcador esencial es la elevación de glucosa en sangre debido a la disminución de insulina producida por las células β del páncreas (diabetes tipo 1) o por la decadencia de respuesta a la insulina por las células presentes en el tejido adiposo y en el músculo (diabetes tipo 2) (1). Se evalúa que más de 220 millones de personas a cota mundial presentan diabetes y se planifica que este número se duplicará para el año 2030 según la Organización Mundial de la Salud (OMS) (1,2).

La estrategia convencional para el tratamiento de la diabetes se basa en terapia farmacológica combinada con dieta y ejercicio; sin embargo, la terapia farmacológica no está exenta de efectos colaterales propios de los fármacos, siendo importante reconocer los beneficios de plantas medicinales con efecto hipoglucémico por su bajo costo, alta eficacia y baja toxicidad como una alternativa terapéutica o coadyudante. (8)

Esta investigación tiene como objeto determinar el efecto hipoglicemiante del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss en ratas Sprague-Dawley inducidas a diabetes experimental con aloxano monohidrato en las instalaciones del Bioterio automatizado de la Universidad Andina del Cusco, de esta manera el trabajo de investigación consta de los siguientes capítulos.

En el capítulo I se presenta el problema de investigación y consta de siete apartados: fundamentación del problema, antecedentes teóricos, formulación del problema, objetivos, justificación, limitaciones y aspectos éticos de la misma.

El capítulo II corresponde al marco teórico conceptual; consta de cinco apartados: el marco teórico, definición de términos básicos, hipótesis, variables y definiciones operacionales. En el marco teórico se profundizan aspectos relacionados al Género *Hypericum* y al modelo de diabetes experimental.



El capítulo III aborda los métodos de investigación y consta de cinco apartados: tipo de investigación, diseño, población y muestra, técnicas, instrumentos, procedimientos de recolección de datos y el plan de análisis de datos.

Finalmente, en el capítulo IV se exponen los resultados, la discusión, las conclusiones y sugerencias.



RESUMEN

El género *Hypericum* ha mostrado ser una fuente de metabolitos bioactivos con propiedades biológicas importantes, estudios internacionales resaltan su efecto hipoglicemiante, en Perú a pesar de tener subespecies como el *Hypericum silenoides* Juss no se reportan estudios de sus efectos sobre la glicemia. El objeto de esta investigación es evaluar el efecto hipoglicemiante del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss en ratas Sprague-Dawley inducidas a diabetes experimental con aloxano monohidrato en las instalaciones del Bioterio automatizado de la Universidad Andina del Cusco.

Se realizó un estudio experimental, usando 30 ratas machos de 2 a 3 meses de edad, cepa Sprague-Dawley con peso de 250 a 350g los cuales recibieron agua y alimento a libertad. Fueron distribuidos en 5 subgrupos: normal, diabético control, dos subgrupos diabéticos con administración de extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss a 100mg/kg y 200mg/kg y un subgrupo diabético patrón con Glibenclamida 10mg/kg. La diabetes fue inducida mediante inyección intraperitoneal con aloxano monohidrato a dosis única de 150mg/kg excepto al subgrupo control sano, los niveles de glucosa en sangre se determinaron usando un glucómetro electrónico AccuChek Active, confirmada la diabetes (glucemia > 200mg/dl) se administró el extracto y la toma de muestra sanguínea se realizó cada 24 horas entre las 9 – 10 am durante 7 días continuos.

Se analizaron los resultados mediante el estadístico Kruskal Wallis $p < 0.05$, el efecto hipoglicémico del extracto a dosis de 100mg/kg ($p < 0.02$) y 200mg/kg ($p < 0.01$) presentó diferencia significativa con respecto al grupo control diabético; sin embargo, no se observó diferencia significativa con el grupo patrón con Glibenclamida. Conclusión: El extracto del *Hypericum silenoides* Juss posee efecto hipoglicémico a diferentes concentraciones en ratas inducidas a diabetes experimental en condiciones de altura.

Palabras clave: *Hypericum silenoides* Juss, diabetes inducida por aloxano



ABSTRACT

The genus *Hypericum* has proven to be a supply of bioactive metabolites with essential biological properties, international studies highlight its hypoglycemic effect; In Peru, despite having subspecies such as *Hypericum silenoides* Juss, no studies on its effects on glycemia are reported. The goal of this research is to evaluate the hypoglycemic impact of *Hypericum silenoides* Juss cyclohexane extract in Sprague-Dawley rats induced to experimental diabetes with aloxane monohydrate in the facilities of the Automated Bioterium of the Andean University of Cusco.

A quasi-experimental study was carried out, using 30 male rats from 2 to 3 months old, Sprague-Dawley strain weighing 250 to 350g which received water and food in freedom. They were distributed in 5 subgroups: normal, control diabetic, two diabetic subgroups with administration of *Hypericum silenoides* Juss cyclohexane extract at doses of 100mg/kg and 200mg/kg and a standard diabetic subgroup with Glibenclamide 10mg/kg. Diabetes was induced by intraperitoneal injection with aloxane monohydrate at a single dose of 150mg/kg except for the healthy control subgroup, blood glucose levels were determined using an AccuChek Active electronic blood glucose meter, diabetes confirmed (blood glucose > 200mg/dL). He administered the extract and the blood sample was taken every 24 hours between 9-10 am for 7 continuous days.

Results were analyzed using Kruskal wallis with $p < 0.05$, the hypoglycemic activity of the extract at doses of 100mg/kg ($p < 0.02$) and 200mg/kg ($p < 0.01$) showed significant difference with respect to diabetic control group; however, no significant difference was observed with the master group with Glibenclamide. Conclusion: The extract of *Hypericum silenoides* Juss has a hypoglycemic effect at different concentrations in rats induced by experimental diabetes in high altitude conditions.

Keywords: *Hypericum silenoides* Juss, alloxane-induced diabetes



CAPITULO I: EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Fundamentación del problema

La diabetes es una seria enfermedad crónica que se desencadena cuando la glándula del páncreas no produce suficiente insulina o cuando el organismo no puede manejar con eficacia la insulina. Se trata de una problemática crucial de salud pública y según la OMS es una de las cuatro enfermedades no transmisibles seleccionadas por las directrices mundiales de la salud para ejecutar con carácter primordial, ocupando el tercer espacio como consideración de muerte. Según estadísticas la OMS en el 2015 consideró a la diabetes como causa directa de deceso en 1,6 millones de personas, presenta una alta prevalencia en nuestra población, las bases de datos registran que el número de personas con diabetes incrementó con creces de 180 millones en 1980 a 422 millones en 2014. (1)

El tipo de diabetes más frecuente a nivel mundial (diabetes mellitus tipo 2) tiene como base común la utilización ineficaz de insulina asociado a factores externos como el peso corporal excesivo e inactividad física. (2)

Según los perfiles de países para la diabetes de la OMS indican que en el Perú la prevalencia de diabetes es de 6,9% de los habitantes en general, siendo el motivo directo de deceso en 1460 varones y cerca de 1490 mujeres. En la actualidad la diabetes afecta a más de un millón de peruanos y un porcentaje menor de la mitad han sido diagnosticados. En cuanto al grupo etario se ha conocido un aumento crucial de diabetes en personas entre 30 y 69 años de edad, aunque al momento el conjunto más afectado es el de 70 años a más. Los lineamientos políticos y estrategias de plan de acción contra la diabetes, así como la promoción para reducir el sobrepeso y la obesidad son limitados según la OMS. (1,2)

Siendo de vital importancia realizar investigaciones que permitan validar la eficacia de tratamientos alternativos que garanticen poder ser aplicados a nivel humano de manera



segura, evitando la acumulación de residuos químicos que provocan los fármacos repercutiendo a breve y largo periodo de tiempo sobre la salud y bienestar del individuo. El bioterio viene a ser un recurso importante para este tipo de investigaciones permitiendo realizar estudios experimentales salvaguardando la salud de los animales. (3)

En la actualidad, encontramos diferentes alternativas para modelizar animales de experimentación a diabetes, la inducción experimental es una alternativa de uso frecuente y económica, siendo el aloxano y la estreptozotocina las sustancias mas reconocidas para este uso por su afinidad hacia las células β pancreáticas permitiendo replicar las alteraciones metabólicas propias de esta patología.

Muchos de los fármacos tienen como fuente primaria el aislamiento de principio activo de productos naturales considerándose que hasta un 25% de fármacos prescritos en todo el mundo derivan de productos naturales. (4)

Se sabe que diversos frutos y plantas poseen efecto hipoglucemiante demostrado en varios estudios preliminares a nivel mundial. Por lo tanto, la identificación y uso de estas fuentes naturales con actividad hipoglucemiante permite reducir efectos colaterales de los medicamentos, siendo de beneficio para el que lo consume. (5)

En el estudio realizado por Mohammed G, Sunder S, Nath P, Kumar V. (India, 2009) concluyeron que en modelos de ratas inducidas a hiperglicemia los extractos estandarizados de *Hypericum perforatum* tienen un efecto beneficioso, siendo el componente aislado causante parcial de tal efecto según observaciones preliminares la hiperforina. (6) Otro estudio original realizado por Arokiraraj S, Balamurugan R, Augustian P. (India, 2011) concluyen que el extracto de acetato de etilo de *Hypericum perforatum* posee una actividad hipoglucemiante potente en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina, además inciden en la importancia de realizar nuevos estudios que



permitan identificar los compuestos responsables de esta actividad. (7) Así mismo, Jin D, He J, Luo X, Zhang T. (China, 2018) demostró en su estudio que el *Hypericum attenuatum* tiene la capacidad de disminuir la glucosa en sangre, regulando la gluconeogénesis, glucogénesis y aumentando la sensibilidad de la insulina, también actúa atenuando el desorden del metabolismo de los glucolípidos disminuyendo la síntesis de lípidos y promoviendo la conversión del colesterol; concluyendo que en ratas inducidas a diabetes mellitus estos efectos juegan un rol positivo. (8)

La Diabetes emerge como uno de los mayores problemas de salud pública por su morbimortalidad e impacto en la calidad de vida que generan altos costos, los cambios de estilo de vida relacionados al sedentarismo y a malos hábitos alimenticios aumentan la prevalencia de este padecimiento en la población joven y económicamente activas. En el presente trabajo pretendemos documentar el efecto hipoglicémico del extracto ciclohexánico del *Hypericum silenoides* Juss, especie que a pesar de encontrarse en nuestra región no ha sido difundida por poco conocimiento de sus beneficios demostrados en investigaciones previas.



1.2. Antecedentes teóricos

Antecedentes internacionales:

Kang W, Song Y, Zhang L. (China, 2010) en su estudio “Propiedad inhibidora de la α -glucosidasa, actividad antioxidante y antidiabética de *Hypericum ascyron L.*”, evaluaron la capacidad inhibitoria de diferentes tipos de extractos solventes de *Hypericum ascyron L* sobre la α -glucosidasa y verificaron la actividad antioxidante in vitro que tienen los diferentes extractos de *Hypericum ascyron L* mediante ensayos de DPPH, ABTS y FRAP, obteniendo como resultado que en comparación con la acarbosa como control positivo los extractos de EtOAC y MeOH mostraron una actividad inhibidora más fuerte contra la α -glucosidasa intestinal de la rata. En este estudio, aislaron de los extractos de EtOAC y MeOH ocho compuestos conocidos con actividad biológica y se seleccionaron los compuestos con actividad antioxidante e inhibidora de la α -glucosidasa. Identificando que el kaempferol y ácido ursólico obtenidos del extracto de EtOAC fueron los compuestos activos con efecto inhibidor de la α -glucosidasa. En cuanto a la evaluación de actividad antioxidante los extractos de EtOAC y MeOH la quercetina-3-O- β -D-galactósido, la quercetina-3-O- β -D-glucósido y el kaempferol demostraron actividad antioxidante moderada o ligeramente baja con BHT como control positivo. La actividad antidiabética de los extractos de EtOAC y MeOH se determinó in vivo mediante la administración intragástrica de extracto de EtOAC (500mg/kg de peso corporal por día) y extracto de MeOH (500mg/kg) durante 8 días a grupos de ratones inducidos a diabetes con aloxano, el nivel de glucosa en sangre y en suero disminuyó significativamente ($P < 0.01$ y $P < 0.05$, respectivamente), así como el nivel de lípidos(colesterol y triglicéridos), y el estrés oxidativo a los tejidos se inhibieron al disminuir el nivel de MDA ($P < 0.01$ y $P < 0.01$, respectivamente) y aumentar ligeramente el nivel de SOD. (9)



Arokiraraj S, Balamurugan R, Augustian P (India, 2011) en su trabajo titulado “Efecto antihiperглиcémico del extracto de acetato de etilo del *Hypericum perforatum*”, donde el extracto de acetato de etilo del *Hypericum perforatum* mostró una caída dependiente de la dosis sobre la glucosa en sangre en ayunas. Después de 30 minutos de la administración del extracto, la glucosa en ayunas disminuyó significativamente en comparación a las ratas normales. Este extracto produjo una reducción significativa de la glucosa, colesterol total, triglicéridos y los niveles de glucosa 6 fosfato en sangre; el glucógeno en tejidos, el colesterol HDL y la glucosa 6 fosfato deshidrogenasa aumentaron significativamente en comparación con el grupo control de ratas diabéticas. Y es importante mencionar que no se observó muerte ni efectos letales en el grupo piloto de prueba de toxicidad. En conclusión, estos resultados demostraron que el extracto de acetato de etilo de *Hypericum perforatum* tiene una acción antihiperглиcémica potente en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina y es necesario identificar los compuestos responsables de esta actividad en próximos estudios. (7)

Kabiri N, Asgary S, Setorki M (Irán, 2012) en su estudio titulado “Los efectos del extracto hidroalcohólico de *Amaranthus caudatus L.* y *Hypericum perforatum L.* en la formación de estrías grasas en animales hipercolesterolémicos”, evaluaron los beneficios de los extractos hidroalcohólicos de *Amaranthus caudatus L.* (A. caudatus) e *Hypericum perforatum L.* (H. perforatum) sobre las estrías grasas y cambios vasculares de conejos hipercolesterolémicos comparando con los efectos de la lovastatina. Para ello se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos de conejos que fueron alimentados con alimento normal, dieta (control), dieta alta en colesterol (grupo de control hipercolesterolémico), dieta alta en colesterol más extractos hidroalcohólicos de A. caudatus (75mg/kg al día) y H. perforatum (75mg/kg al día) (tratamiento grupo) y colesterol alto más lovastatina (10mg/kg al día) (grupo de tratamiento) durante 60 días y



luego se obtuvieron muestras de sangre para medir el colesterol en plasma, triglicéridos (TG), lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteína de baja densidad (LDL), apolipoproteína A (apoA), apolipoproteína B (apoB), malondialdehído (MDA). En efecto, la observación mostró disminución en el colesterol plasmático, TG, IDL, LDL, apoB, CRP, MDA, OX-LDL, AI y aumento de apoA y HDL entre los grupos de tratamiento y los grupos de control hipercolesterolémico ($P > 0.05$). (10)

Roostaie A, Roshanaei K, Reza M, Akbar A (Irán, 2014) en su trabajo titulado “Los efectos del extracto de *Hypericum* sobre parámetros sanguíneos en ratas diabéticas”, se realizó un estudio experimental donde 36 ratas fueron divididas en 6 grupos; para posteriormente inducir las a diabetes, se usó estreptozotocina vía intraperitoneal a dosis única de 60mg/kg, luego se les dio el extracto a dosis de 60mg/kg por un periodo de 3 a 4 semanas; tras ello, se demostró una disminución significativa del potasio, sodio y FBS en sangre, PU, KU en el grupo diabético al que se le administró el extracto. Concluyendo, que la administración del extracto del *Hypericum* en modelos experimentales de diabetes mellitus mejoró los parámetros bioquímicos en ratas diabéticas y se sugiere que para la identificación del mecanismo de acción del extracto se requiere del análisis de la composición química del extracto a diferentes dosis y duraciones. (11)

Sharma K (Waknaghat-India, 2014) en su estudio “Evaluación in vitro e in silico de efectos antidiabéticos del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Hypericum Perforatum* Linn”, y se evaluó el efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto. El potencial antidiabético se evaluó a través de su capacidad para inhibir la desnaturalización de la albúmina y la estabilización de la membrana eritrocítica con respecto al diclofenaco, tomado como droga estándar, *Hypericum Perforatum* mostró resultados significativos que muestran una buena potencia para inhibir la desnaturalización de albúmina y estabilizar la membrana eritrocítica. Además, se evaluó la actividad antioxidante



utilizando el ensayo de eliminación de radicales DPPH. El extracto mostró una importante actividad de barrido en concentraciones diferentes con mejores resultados a una concentración de 1mg/ml. Como antioxidante el potencial del extracto generalmente se atribuye a su contenido fenólico y flavonoide, se evaluó el total del contenido fenólico y flavonoide en el extracto tomando al ácido gálico y quercetina como estándar. Los resultados demostraron que los compuestos fenólicos y flavonoides presentan potente efecto antioxidante cumpliendo importante papel en la prevención del daño oxidativo. En conclusión, es importante que estudios posteriores sean realizados en modelos animales porque el extracto de las hojas del *Hypericum perforatum* representa un importante recurso natural con gran potencial antidiabético. (12)

Senthil M, Kavimani S (India, 2015) en su trabajo titulado “Evaluación de estudios con efecto antihiper glucémicos del *Hypericum hookerianum* en ratas diabéticas inducidas con Estreptozotocina (STZ) y nicotinamida”, tuvo como finalidad evaluar la actividad antihiper glucémica de los extractos de etilacetato de hojas y tallos de *Hypericum Hookerianum* (HH) en ratas diabéticas inducidas experimentalmente. Las ratas machos Wistar fueron administradas por vía oral con 200mg/kg de *Hypericum hookerianum* por vía oral durante 28 días, se realizó medición de glucosa en sangre una vez por semana por 4 semanas. A la cuarta semana de tratamiento el extracto de HH mostró una reducción importante de hasta 49% del nivel de glucosa en sangre en comparación con el grupo control diabético, al final del estudio se encontró que el perfil lipídico (HDL, colesterol total y triglicéridos) junto con metabolitos como la urea, ácido úrico y creatinina redujeron en el grupo tratado. (13)

Ghosian M, Ansari I, Roghani M, Ghanem A, Mehdizade N (Iran, 2017) en su artículo titulado “El efecto de la administración oral de *Hypericum perforatum* en la glucosa y lípidos séricos, enzimas hepáticas y peroxidación de lípidos en ratas diabéticas



inducidas con estreptozotocina”, en este estudio experimental se utilizó a 32 ratas machos divididas en cuatro grupos de control, tratamiento – control, diabéticas y tratamiento – diabéticas, se les administró el tratamiento por 6 semanas; se evaluó parámetros de nivel de glucosa sérica, triglicéridos, colesterol total, HDL, LDL al inicio del estudio, a la tercera semana y en la última semana del tratamiento; tras ello se evaluaron las enzimas malondialdehído y aminotransferasa del hígado, tras ello se halló que respecto a los niveles de la glucosa sérica y peso medidos en la tercera y sexta semana, el grupo diabético con tratamiento no presenta un cambio significativo comparado con el grupo diabético y respecto a los niveles de colesterol total y LDL se muestra una disminución significativa así como un aumento significativo del HDL. En conclusión, disminuyó los niveles séricos del colesterol total, LDL, y enzimas hepáticas como la aspartato aminotrasnferasa, e incrementó los valores de HDL tras la ingesta oral del *Hypericum perforatum* en ratas inducidas a diabetes con estreptozotocina. (14)

Campuzano-Bublitz MA, Rolón LE, Vera LM, Kennedy ML (Paraguay, 2018) en el estudio titulado “ Efecto del consumo de pulpa de *Carica papaya* sobre la glicemia y peso de ratones normoglicémicos e hiperglicémicos inducidos por aloxano”, determinaron que la ingesta de la pulpa de *Carica papaya* mejora la glucosa en sangre en los animales de experimentación, el estudio indujo previamente a diabetes mediante aloxano a dosis de 150mg/kg vía intraperitoneal, previo ayuno. Se distribuyeron cuatro grupos de seis ratones cada uno. Grupo I: ratas con glucemia normal con dieta estándar, grupo II: hiperglicémicos con dieta estándar, grupo III: normoglicémicos con dieta estándar y papaya, grupo IV: hiperglicémicos con dieta estándar y papaya, el proceso duró 28 días. El consumo de *C. papaya* en los animales hiperglicémicos causó beneficio sobre la glicemia y un resultado positivo en el metabolismo de la glucosa; además, redujo significativamente el peso corporal en los animales con glicemias normales. (28)



Jin D, He J, Luo X, Zhang T (China, 2019) en el trabajo titulado “Efecto hipoglucémico de los extractos de *Hypericum attenuatum Choisy* en la diabetes tipo II mediante la regulación del metabolismo de los glucolípidos y la modulación de la microbiota intestinal”, refiere que como planta medicinal comestible posee múltiples efectos terapéuticos. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto hipoglucémico del extracto de *Hypericum attenuatum Choisy* (HaC) en ratones con DM2 y evaluar el efecto modulador de HaC sobre la composición de la microflora intestinal. Los ratones con DM2 fueron tratados con HaC durante 5 semanas. El HaC podría modular la glucosa en sangre en ayunas, mejorar la sensibilidad a la insulina hepática y promover el depósito de glucógeno hepático activando la ruta IRS1 / PI3K / AKT.

El HaC regula el metabolismo lipídico disfuncional y reduce el proceso inflamatorio en ratones con DM2; además, en el presente estudio se evidenció que las ratas con DM2 presentaban una microbiota alterada del intestino delgado y colon (abundante Firmicutes, Bacteroides y Proteobacterias) y el tratamiento con HaC modularía la composición de la microbiota intestinal y aumentaría el contenido de ácidos grasos de cadena corta, siendo importante exponer estos resultados para posteriores estudios como terapia potencial futura en el tratamiento de la DM2. (8)

Antecedentes nacionales:

Sanchez MT (Trujillo-Perú, 2019) en su trabajo titulado “Efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de *Averrhoa carambola* (carambola) en *Rattus norvegicus var. albinus* con diabetes mellitus inducida”, el objetivo fue valorar el efecto hipoglucemiante del zumo del fruto de *Averrhoa carambola* (Carambola) en *Rattus norvegicus var. albinus* con diabetes mellitus experimental, se laboró con 24 *Rattus norvegicus var. albinus* (machos), cuyos pesos corporales variaron entre 260- 360 g, se designó cuatro grupos con 6 animales cada uno: el control negativo se al que se le brindó agua destilada (0.5ml/día)



por 14 días, el control positivo y los grupos experimentales I y II ambos inducidos a diabetes mellitus con aloxano (150mg/kg pc) a dosis única. El grupo experimental I y II fueron tratados con zumo del fruto *Averrhoa carambola* (Carambola) a 100mg/kg y 200mg/kg respectivamente; durante dos semanas. Los resultados obtenidos arrojaron que las glicemias de inicio para el control negativo; control positivo; experimental I y experimental II se encontraron entre 88.7mg/dl \pm 1.51, 506.8mg/dl \pm 56.8, 442.5mg/dl \pm 56.1 y 552.2mg/dl \pm 58.5 y las glicemias después de dos semanas post tratamiento se establecieron de la siguiente manera 84.6mg/dl \pm 2.9; 480.5mg/dl \pm 48.3; 80.5mg/dl \pm 6.4 y 69.7mg/dl \pm 12.3, distinguiéndose una diferencia estadísticamente significativa (0.000*) por medio de la prueba de ANOVA. Se concluyó que el zumo del fruto de *Averrhoa carambola* (Carambola) presenta efecto hipoglucemiante en *Rattus norvegicus var. Albinus* inducidas a diabetes experimental. (23)

Antecedentes locales:

Florez CA, Huarcaya VF (Cusco-Perú, 2009) en su trabajo "Determinación del efecto hipoglucemiante del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci "Sasawi" en ratas con diabetes inducida experimentalmente con aloxano y determinación de la toxicidad aguda", obtuvieron extracto hidroalcohólico al 70% de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci "Sasawi" y posteriormente determinaron la dosis efectiva con actividad hipoglucemiante comparado con un patrón farmacológico, se determinó que la insulina reduce en un 40,35% el nivel de glucosa y el extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci "Sasawi" redujo en un 19,90%.

La inducción de la diabetes experimental en ratas machos y hembras se realizó previas 4 semanas de acondicionamiento y ambientación administrando 112mg/dl de aloxano por vía intraperitoneal, determinándose la hiperglucemia después de 48 horas. Concluyeron



que si presenta efecto hipoglucemiante el extracto seco hidroalcohólico al 70% de la planta entera en ratas macho y hembras a una dosis de 600mg/kg. (18)

Huarancca E (Cusco-Perú, 2009) en su trabajo de tesis titulada "Elaboración de liposomas del extracto seco etanólico de *Urtica urens* Linneo "Ortiga" y evaluación de su efecto hipoglicemiante en Diabetes experimental inducida en ratas", se elaboró liposomas por el método de Banghan utilizando fosfatidilcolina, colesterol y extracto seco etanólico de las hojas, tallos, raíces y frutos de la especie *Urtica urens*. Y se determinó el efecto hipoglucemiante de los liposomas in vivo mediante el método del fotolorímetro el cual cuantificó directamente la disminución de los niveles de glucemia. Para ello se indujo a ratas normoglicémicas a hiperglicemia mediante la administración de aloxano a dosis de 112mg/kg vía intraperitoneal, los animales que resultaron con hiperglicemias mantenidas se dividieron en seis grupos para administrar el tratamiento diario correspondiente con extracto puro de *Urtica urens* (200 y 300mg/kg), la división de la administración fue con liposomas de extractos de *Urtica urens* a dosis (200 y 300mg/kg), agua destilada y como medicamento patrón glibenclamida (5mg/kg). Concluyendo que presenta buen efecto hipoglucemiante los liposomas elaborados del extracto seco etanólico de *Urtica urens* "Ortiga" en ratas albinas macho de la cepa Holtzman inducida a diabetes experimental con aloxano. (19)

Aymachoque K (Cusco-Perú, 2017) en su trabajo de tesis titulado "Efecto hipoglucemiante de *Baccharis tricuneata* var. *Robusta* Cuatrecasas (Tayanca) en ratas albinas (*Rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida por aloxano y evaluación de toxicidad en ratones albinos (*Mus musculus*)", se evaluó el efecto hipoglicemiante de esta planta usando 30 ratas hembras de 2 meses y medio de edad, cepa Holtzman con peso de 200 +/- 20gr que recibieron agua y alimento a libertad. Los animales se distribuyeron en seis grupos: normal, control con aloxano, tres dosis del extracto etanólico de *Baccharis*



tricuneata (200, 400 y 600mg y grupo patrón con glibenclamida 5mg/kg) con un tratamiento diario durante 10 días. La diabetes fue inducida por inyección intraperitoneal de aloxano monohidrato a 130mg/kg de peso a todos los animales excepto al grupo normal, se realizó un estudio histopatológico en el páncreas de un grupo de ratas para evidenciar la efectividad del reactivo, se utilizó un glucómetro electrónico de la marca AccuChek Active para cuantificar los niveles de glucosa en sangre. Los resultados obtenidos muestran que el extracto a dosis de 400mg/kg, presentó un 73.1% de disminución de glicemia y el extracto a dosis de 200mg/kg presentó 71.5% de disminución de glicemia, mostrando a estas dosis mejores resultados como hipoglicemiante con respecto al grupo control de glibenclamida que obtuvo un 26.5%, la duración del tratamiento fue de 10 días. Del ensayo de toxicidad aguda realizado por método de Lorke se concluyó que la dosis letal media DL50 fue de 3800mg/kg. (20)



1.3. Formulación del problema

1.3.1. Problema general

¿Presentará efecto hipoglicémico el extracto de *Hypericum silenoides Juss* en ratas con diabetes experimental?

1.3.2. Problemas específicos

- ¿Es posible obtener un extracto ciclohexánico estandarizado de las partes aéreas del *Hypericum silenoides Juss*?
- ¿Es posible modelar ratas con diabetes experimental inducida con aloxano en condiciones de altura?
- ¿El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides Juss* a diferentes concentraciones mostrará efecto variado sobre la glicemia en los subgrupos de estudio de ratas con diabetes experimental?

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Determinar el efecto hipoglicémico del extracto de *Hypericum silenoides Juss* en ratas con diabetes experimental.

1.4.2. Problemas específicos

- Obtener un extracto ciclohexánico estandarizado de las partes aéreas *Hypericum silenoides Juss*.
- Modelar ratas con diabetes experimental inducida con aloxano en condiciones de altura.
- Determinar el efecto del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides Juss* a diferentes concentraciones sobre la glicemia en los subgrupos de estudio de ratas con diabetes experimental.

1.5. Justificación de la investigación

La diabetes mellitus (DM) es uno de los problemas primordiales de la medicina y afecta a un gran porcentaje de los habitantes a nivel mundial (2% -10%). En gran parte de los países en vías de desarrollo la diabetes mellitus ocupa el tercer espacio como fuente de muerte, posterior a las enfermedades cardiovasculares y oncológicas. (1,2)

En nuestro país destacan frutos y variedad de plantas nativas andino amazónicas con efectos benéficos sobre la salud y gran porcentaje son propios de nuestra región, a pesar de su alto consumo en nuestra población, existen pocas investigaciones que demuestren el efecto hipoglicemiante al consumirlos.

Actualmente se cuenta con una variedad de estudios preclínicos que demuestran un gran potencial como agente hipoglicemiante al género *Hypericum*; sobre todo del *Hypericum attenuatum* (8), son diversas las especies sudamericanas de este género, y dentro de las plantas nativas peruanas tenemos al *Hypericum silenoides* Juss el cual no ha sido estudiado en nuestra región, es imprescindible dar a conocer en esta investigación sus efectos sobre la glicemia y difundir sus beneficios fomentado más investigaciones de otras especies nativas en modelos experimentales de animales para su posterior uso en humanos.

1.6. Limitaciones de la investigación

En nuestra universidad no contamos con antecedentes locales de modelos de estudio experimental de diabetes en animales, por lo tanto, existió una dificultad en la obtención de reactivos para este tipo estudio.

Se encontró limitaciones en el horario de acceso a las instalaciones del Bioterio Automatizado de la UAC.



1.7. Aspectos éticos

En la actualidad se realizan estudios en modelos animales en los cuáles, los aspectos éticos deben de ir más allá de no causarles daño físico innecesario, proporcionándoles en todo momento la mayor posibilidad de bienestar físico y psíquico, esto se logra cuando se cumplen los reglamentos establecidos para un adecuado manejo de animales en bioterios, siempre trabajando de la mano con personal calificado en esta área. (3)

Para esta investigación previamente se realizó la capacitación en “Reducción del dolor y angustia en ratas y ratones de laboratorio” así como “Conflicto de interés”, capacitaciones realizada mediante CITIPROGRAM el cual se encuentra abalado por la comisión de investigación y ética de la Universidad Andina Del Cusco. (Ver Anexo 5).



CAPITULO II: MARCO TEORICO CONCEPTUAL

2.1. Marco teórico

2.1.1. *Hypericum*

Aspectos botánicos de la especie en estudio

Taxonomía

La muestra fue sometida a diagnosis en base al análisis morfológico y comparación con ejemplares del Herbario Vargas CUZ, la siguiente posición taxonómica en la clasificación APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group) corresponde a:

- *Clase* : *Equisetopsida C. Agard*
- *Subclase* : *Magnoliidae Novák ex Takht.*
- *Superorden* : *Rosanae Takht.*
- *Orden* : *Malpighiales Juss. ex Bercht. & J. Presl*
- *Familia* : *Hypericaceae Juss. Amaranthaceae Juss.*
- *Género* : *Hypericum L.*
- *Especie* : *Hypericum silenoides Juss*

Muestra identificada por: M. Cs. Blgo. Washington H. Galiano Sánchez – Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. (Anexo 2).

Nombres comunes

En el valle gallego, distrito de Morropón - Piura, se le distingue como “corazoncillo” o “hierba de la rabia”. En el valle del río Ocoña, Parinacochas - Ayacucho, se le conoce como “sunchito”. (21)

Aspectos botánicos de la especie en estudio

Este género presenta una disposición mundial, habita en regiones templadas y trópicos montañosos. Las especies del género *Hypericum* que pueblan todo el espacio peruano, pertenecen a las secciones *Brathys* y *Trigynobrathys*. (21)

El género *Hypericum* está extensamente distribuido en países del Mediterráneo, Asia y América del Sur, se considera actualmente que incluye más de 500 subtipos de especies, divididas en más de 36 secciones taxonómicas en principio a su morfología que se pueden diferenciar desde plantas herbáceas anuales o perennes, de 5-10 cm de altura, a arbustos y árboles de hasta 12 m de altura. (21)

Distribución

Esta especie está dispersa en zonas abiertas, arenosas o rocosas, húmedas; sin embargo, aceptablemente drenadas; 0 – 850 m.s.n.m (desde Chile a la costa del Perú), 900 – 3900 m.s.n.m. (Ecuador, Colombia, tierras altas del Perú, Bolivia, Argentina), 600 - 945 m.s.n.m (Islas Galápagos). (21)

Descripción

La hierba anual o perenne, posee las siguientes características, 0.1 a 0.5 m de alto, erguido a veces decumbente. Sus tallos de color verde o rojo vivo. Hojas sésiles; lámina 6-26 x 1-6 mm, lanceoladas a elípticas o estrechamente oblongas con glándulas laminares muy densas, pequeñas y oscuras inflorescencias cimosas. Pedículo de 2-17 mm. y sus flores son de 9- 14 mm en diámetro, en forma de estrella. Sépalos 2-6 x 0.7-1.5 mm, desiguales, imbricados, estrechamente oblongas, glándulas lineales. Pétalos de color matizado entre amarillo y naranja, 4-8 x 1-2 mm, con manchas rojas, oblanceoladas a oblongas con glándulas. 14-32 estambres el más extenso de 2-5 mm de longitud. Ovario de 0.8-2 x 0.5-0.7 mm, estrechamente ovoide-elipsoide, 3 estilos de 0.7-2 mm de longitud y cápsula de 4.5-8 x 2-3.5 mm, estrechamente ovoide-cilíndrico con semillas de 0.5 mm. (21)



Aplicaciones farmacológicas

Existen diversas revisiones sobre especies de *Hypericum* en la literatura científica, los estudios químicos y farmacológicos indican que los componentes más importantes en esta especie son: acilfloroglucinoles, meroterpenoides prenilados, compuestos fenólicos, incluidos las naftodianonas, floroglucinoles, xantonas y flavonoides. En recientes estudios se ha informado la presencia de aceites esenciales donde se discute el potencial farmacéutico y las aplicaciones de las especies *Hypericum*. También se indicó que los derivados de floroglucinol son los responsables de la mayoría de las actividades biológicas. (26)

Las plantas de *Brathys* y *Trigynobrathys* (sección a la cual pertenece *el Hypericum silenoides Juss*) en lugar de las glándulas oscuras características responsables de la biosíntesis y el almacenamiento de naftodiantrones, presentan glándulas translúcidas donde se almacenan los acilfloroglucinoles, estas son moléculas diméricas formados por restos de ácido filicínico y floroglucinol unidos por un puente de metileno, componente exclusivo del género *Hypericum*, *Brathys* y *Trigynobrathys*. (26)

En el 2018, un estudio realizado en nuestra región se determinó los principales componentes del *Hypericum silenoides Juss*, y se concluyó que el floroglucinol identificado en mayor abundancia fue la Uliginosina B. (27)

Se ha demostrado una variedad de actividades biológicas de los diferentes tipos de *Hypericum*, como antioxidante, antimicrobiano, antiinflamatorio, citotóxico, propiedades analgésicas y antidepresivas. (8)

La presencia de abundantes compuestos bioactivos especializados hace de este género una valiosa fuente de terapias naturales. La especie más conocida es *Hypericum perforatum L.* (hierba de San Juan común), ampliamente investigada con respecto a la actividad antidepresiva. Esta actividad, asociada a varias clases de metabolitos



especializados, que muestran efectos aditivos, sinérgicos y en parte antagonistas, es la razón principal del interés del público en general en esta medicina herbal. (26)

Se vienen desarrollando diferentes estudios sobre su efecto hipoglucemiante, que demuestran efectos importantes en la reducción de la hiperglicemia posprandial, hiperinsulinemia y disminución de estrés oxidativo con la consecuente reducción del riesgo de enfermedades cardiovasculares; dentro de los mecanismos de acción se mencionan, su actividad mediante la inhibición de las enzimas metabolizadoras de carbohidratos, la mejora de la sensibilidad a la insulina y la regeneración de las células β de los islotes pancreáticos. (8)

Los flavonoides son una clase de compuestos fenólicos naturales distribuidos en el reino vegetal, estos compuestos son agentes potenciales antidiabéticos debido a que ejercen múltiples acciones como hipoglucemiante (acción insulinomimético) y antihiper glucémico (secretagogo de insulina). Se ha demostrado que el kaempferol-3, 7-O-(α)-dirhamnosido (kaempferitrina) y kaempferol-3-neohesperidosido actúan a través de múltiples mecanismos, constituyendo su rol insulinomimético en la homeostasis de la glucosa. La apigenina-6-C- (2"-O- α -Lrhamnopiranosil) - β -L-fucopiranosido y apigenina-6-C- β -fucopiranosido actúan como secretagogos de insulina o como agentes insulinomiméticos. (29)

En el 2019, un estudio publicado concluye que el *Hypericum attenuatum choisy* (HaC) mejoró la tolerancia a la glucosa en ratones y hombres sanos, demostró que el HaC podría disminuir los valores de glucosa en sangre y aumentar la sensibilidad a la insulina, esto tras demostrar en sus resultados que la administración de dosis de HaC mejoró la tolerancia oral a la glucosa en ratones con diabetes mellitus II, los resultados también mostraron que los ratones exhibieron que el nivel de hemoglobina glicosilada (HbA1c) tuvo una disminución significativa después del tratamiento con HaC. (8)

Estudios demuestran a nivel molecular su intervención sobre el mecanismo de regulación de gluconeogénesis y la glucogénesis por la vía IRS1 / PI3K / AKT, disminuye la síntesis de lípidos y promueve la conversión de colesterol. Además, el tratamiento con HaC podría modular la composición de la flora intestinal y sus metabolitos, que inversamente representa un rol positivo en la terapia de la Diabetes Mellitus 2, a esto se suma el efecto sobre el GLP-1 (hormona incretina liberada en el intestino después de una comida), que podría incitar la secreción endógena de insulina dependiente de glucosa y la supresión de la secreción de glucagón, el estudio revela que a diferentes dosis de HaC aumentaron la expresión de ARNm y proteínas de GLP-1, desempeñando un papel esencial en una amplia gama de funciones metabólicas; tales como, la regulación de la absorción de alimentos, el apetito y la homeostasis de la glucosa. (8)

2.1.2. Diabetes Mellitus

Definición

La diabetes mellitus abarca un conjunto de trastornos metabólicos frecuentes que tienen en global el fenotipo de la hiperglucemia. Existen varios tipos diferentes de DM resultado de una interacción compleja entre genética y factores ambientales. Acorde con el origen de la DM, los factores que contribuyen a la hiperglucemia pueden ser insuficiencia de la secreción de insulina, descenso del uso de glucosa o acrecentamiento de la producción de ésta. El desorden de la regulación metabólica provoca alteraciones fisiopatológicas secundarias en diversos sistemas orgánicos, y causa una tediosa carga para el individuo que padece el trastorno y para el sistema sanitario. (16)

Clasificación

La DM se clasifica en base a la sucesión patogénica que culmina en hiperglucemia, a diferencia de criterios previos como edad que comenzó o tipo de terapéutica. Las dos



condiciones amplias de la DM se designan tipo 1 y tipo 2; sin embargo, cada vez se reconocen más otras formas de diabetes cuya patogenia se comprende mejor. Estas otras formas de diabetes pueden compartir características de la DM tipo 1 ó 2. (16)

El reporte del ADA 2020 clasifica la Diabetes en las siguientes categorías:

1. Diabetes tipo 1 generada por devastación autoinmune de células beta liderada por deficiencia absoluta de insulina.
2. Diabetes tipo 2 generada por una pérdida progresiva de una secreción adecuada de insulina por las células beta generalmente ocasionada por resistencia a la insulina.
3. Diabetes mellitus gestacional diagnosticada en el segundo y tercer trimestre de la gestación que no era claramente evidente la diabetes previa a la gestación.
4. Tipos específicos de diabetes por otras causas por ejemplo diabetes sindrómicas monogénicas (como la diabetes neonatal y diabetes del inicio de la madurez en jóvenes), trastornos del páncreas exocrino (como fibrosis cística y pancreatitis) y diabetes inducida por químicos y drogas (como uso de glucocorticoide, en el tratamiento de VIH/SIDA y después de trasplante de órganos). (22)

Ambas la DM tipo 1 y tipo 2 van precedidas por un estado de homeostasis afectada de la glucosa conforme se desarrollan los procesos patogénicos. (16, 22)

La diabetes tipo 1 es resultado del perjuicio completo o casi total de insulina, y tipo 2 es una congregación heterogénea de trastornos que se caracterizan por niveles variables de resistencia a la insulina, pequeña secreción de dicha hormona y una mayor producción de glucosa. Diferentes defectos genéticos y metabólicos en la acción, secreción o ambas funciones de la insulina causan el fenotipo común de hiperglucemia en la DM tipo 2 y tienen grandes posibilidades terapéuticas en el periodo actual, en que se dispone de



fármacos para corregir trastornos metabólicos específicos. La DM tipo 2 es precedida por una fase de homeostasis alterada de la glucosa determinado como intolerancia a la glucosa en ayuno (IFG, impaired fasting glucose) o intolerancia a la glucosa (IGT, impaired glucose tolerance). (16, 22)

Otros tipos de diabetes mellitus

Otras causas de DM son defectos genéticos específicos de la segregación o acción de la insulina, alteraciones metabólicas que trastornan la segregación de insulina, trastornos mitocondriales e innumerables situaciones que alteran la tolerancia a la glucosa. La diabetes hereditaria juvenil de tipo 2 (MODY, maturity onset diabetes of the young) y la diabetes monogénica son un subgrupo de DM que se caracteriza por transmitirse por herencia autosómica dominante, comienzo adelantado de la hiperglucemia (por lo común antes de los 25 años de edad; incluso en el periodo neonatal) y trastorno de la segregación de insulina. Las mutaciones del receptor de insulina causan un grupo de trastornos poco conocidos caracterizados por resistencia importante a la misma. (16)

La DM puede resultar del trastorno del páncreas exocrino cuando se elimina gran fracción de los islotes pancreáticos. La DM relacionada con fibrosis quística es de consideración importante en este grupo de pacientes.

Existen hormonas que se oponen a la actividad de la insulina que pueden causar DM. Por tal punto, la DM es a menudo un principio de ciertas endocrinopatías, como acromegalia y síndrome de Cushing. La desolación de los islotes pancreáticos se ha atribuido a infecciones virales, no obstante, son un proceso muy poco popular de DM. En Japón se ha observado una condición de diabetes tipo 1 de inicio agudo llamada fulminante y pudiera vincularse con una infección de los islotes de Langerhans por un virus. (16)



Epidemiología y consideraciones mundiales

La prevalencia global de la diabetes mellitus ha incrementado de manera muy elevada en los últimos 20 años; en 1985 se calculaba que había 30 millones de casos, en partida que en el año 2013 se calculó en 382 millones. Con condición a las tendencias actuales, la Federación internacional de Diabetes predice que para el año 2035 tendrán diabetes 592 millones de personas. La prevalencia de diabetes tipos 1 y 2 aumenta a nivel global, empero la del tipo 2 lo hace con máxima celeridad, al parecer por la ampliación en la frecuencia de obesidad y la disminución de actividad física a medida que se industrializa un número cada vez mayor de países, y por el envejecimiento de la población.

En 2013, la prevalencia de diabetes en personas de 20 a 79 años de edad varió entre 23 y 37% en los 10 países con la prevalencia más elevada (Tuvalu, Estados Federados de Micronesia, Islas Marshall, Kiribati, Vanuatu, Islas Cook, Arabia Saudita, Nauru, Kuwait y Qatar, en organización usual de prevalencia). Los países con el máximo signo de personas con diabetes en 2013 fueron China (98.4 millones), India (65.1 millones), Estados Unidos (24.4 millones), Brasil (11.9 millones) y la Federación Rusa (10.9 millones). (16)

El 80% de los individuos con diabetes viven en países con acervos bajos o intermedios. En la estimación más actual para Estados Unidos (2012), los centros de adiestramiento de enfermedades y prevención calcularon que 9.3% de la población tenía diabetes (28% de los individuos diabéticos no estaban diagnosticados; se calcula que en toda la tierra más de 50% de los diabéticos no se ha diagnosticado). Los CDC estimaron que la incidencia y prevalencia de diabetes se duplicó entre 1990 y 2008, empero parece que se estabilizaron entre 2008 y 2012. La DM aumenta con el paso de los años. En 2012, la prevalencia calculada de DM en Estados Unidos era de 0.2% entre personas <20 años de edad y de 12% entre los mayores de esa edad. En personas >65 años de edad, la



prevalencia de DM fue 26.9%. La prevalencia es similar en varones y mujeres en más de la mitad de los intervalos de edad (14 y 11%, respectivamente, en personas >20 años). En todo el mundo, la universalidad de los individuos con diabetes tiene entre 40 y 59 años de edad. (16)

Diagnostico

La Diabetes debe ser diagnosticada basada en el criterio de glucosa plasmática, ya sea el valor de glucosa en ayunas o el valor de glucosa plasmática en 2 horas, el valor de tolerancia oral de glucosa tras 75g de glucosa o criterios A1C. (22) La diagnosis de DM comprenden uno de los siguientes criterios:

- Glucosa plasmática en ayuno: 7.0 mmol/L ($\geq 126\text{mg}/100\text{mL}$) el ayuno se determina como la no ingesta calórica por al menos 8 horas.
- Síntomas clásicos de hiperglicemia o crisis hiperglicémica más una glucemia aleatoria: 11.1 mmol/L ($\geq 200\text{mg}/100\text{ mL}$).
- Glucosa plasmática en 2 h: 11.1 mmol/L ($\geq 200\text{mg}/100\text{mL}$) en una evidencia de tolerancia a la glucosa oral con una dosis de 75g de glucosa anhidra disuelta en agua.
- Hemoglobina A1c $\geq 6.5\%$ (48mmol/mol) la prueba debe realizarse en un laboratorio utilizando un método que este certificado por NGSP y estandarizado por el control de diabetes y prueba de complicaciones. (22)

Estos criterios deben confirmarse con pruebas repetidas en días distintos, salvo que haya una hiperglucemia inequívoca.

Asimismo, se han catalogado dos categorías intermedias:

- Trastorno de la glucosa en ayunas (IFG) para una densidad plasmática de glucosa en ayunas de 5.6 a 6.9 mmol/L (100 a 125mg/100mL).
- Alteración de la tolerancia a la glucosa (IGT) para las densidades plasmáticas de glucosa de 7.8 a 11.1 mmol/L (140 a 199mg/100mL) 2 h después de una carga de glucosa oral de 75 g.

Los individuos con IFG o IGT no tienen diabetes mellitus, empero si un riesgo cardinal de desarrollar en el futuro DM tipo 2 y enfermedades cardiovasculares. (16, 22)

El síndrome metabólico (así mismo llamado síndrome de resistencia a la insulina o síndrome X) es una denominación que se utiliza para describir una condición frecuente de trastornos metabólicos que comprenden resistencia a la insulina (con o sin diabetes), hipertensión, dislipidemia, obesidad central o visceral y disfunción endotelial, y se asocia a dolencia cardiovascular acelerada.

Se recomienda la detección sistemática a través de la determinación de la glucemia en ayunas cada tres años en personas mayores de 45 años de edad, lo mismo que para los jóvenes con pre obesidad (índice de masa corporal 25 kg/m²) y que tienen uno o más factores de riesgo adicionales. (16, 22)

Manifestaciones clínicas

Los síntomas más frecuentes de la diabetes mellitus son poliuria, polidipsia, pérdida de peso, fatiga, cansancio, visión alterada, infecciones frecuentes y mala cicatrización de las heridas. En la DM tipo 2 temprana, los síntomas pueden ser más sutiles y consistir de fatiga, mala cicatrización de heridas y parestesias. La falta de síntomas es el principal motivo para la dilatación en el diagnóstico de dicho trastorno. Se deben enfatizar los antecedentes personales patológicos completos con determinación especial en el peso, el



ejercicio, el tabaquismo, el consumo de alcohol, las referencias familiares de diabetes mellitus y los factores de riesgo para padecimientos cardiovasculares. En una persona con diabetes mellitus documentada es importante valorar el cuidado anterior que ha estado recibiendo, determinar las concentraciones de HbA1C, recabar los resultados de la glucemia vigilada por el propio enfermo y de la frecuencia de hipoglucemia, así como evaluar el conocimiento que tiene el paciente de la dolencia. En el examen físico se prestará especial atención a la evaluación de la retina, la presión arterial ortostática, la verificación de los pies (lo que incluye sensibilidad a la vibración y pruebas con monofilamentos), pulsos periféricos y sitios de inyección de la insulina.

Pueden observarse complicaciones en corto tiempo de la diabetes mellitus cuando el paciente acude a que lo atiendan, como cetoacidosis diabética (DKA) (DM tipo 1) y un estado hiperosmolar hiperglucémico (DM tipo 2).

Las complicaciones crónicas de la diabetes mellitus son las siguientes:

- Oftalmológicas: retinopatía diabética no proliferativa o proliferativa, edema macular, rubeosis del iris, glaucoma y cataratas.
- Neurológicas: polineuropatía simétrica distal, polirradiculopatía, mononeuropatía y neuropatía autonómica.
- Gastrointestinales: gastroparesia, diarrea y constipación.
- Cardiovasculares: enfermedad de las arterias coronarias, insuficiencia cardiaca congestiva, vasculopatía periférica y enfermedad cerebrovascular.
- Renales: proteinuria, nefropatía en fase tardía y acidosis tubular nefrítico de nivel IV.
- Genitourinarias: cistopatía, disfunción eréctil, disfunción sexual en la mujer y candidiasis vaginal.



- Extremidades inferiores: malformaciones de los pies (dedo en martillo, dedo en garra y pie de Charcot), úlceras y amputación.
- Dermatológicas: infecciones (foliculitis, furunculosis, celulitis), necrobiosis, mala cicatrización, úlceras y desintegración.
- Dental: alteración periodontal. (16, 17)

Tratamiento

La terapia óptima de la diabetes mellitus consiste en poco más que el control de la glucosa plasmática. La intervención integral de la diabetes comprende la detección y el tratamiento de complicaciones específicas del padecimiento, así como la modificación de los factores de riesgo para alteraciones relacionadas con ella. El paciente con diabetes mellitus tipo 1 o tipo 2 debe recibir notificaciones sobre su nutrición, ejercicio, atención de la diabetes durante la inestabilidad de la enfermedad y terapia farmacológica que disminuye la glucosa plasmática.

La densidad de HbA1C fijada como objetivo debe ser $<7.0\%$, aunque también deben tenerse en perla aspectos individuales (edad, posibilidad de seguir un esquema de tratamiento complejo y la presencia de otros trastornos médicos). La medicación reduce las complicaciones a largo plazo, empero lleva a episodios hipoglucémicos más frecuentes y más severos. Las concentraciones plasmáticas de glucosa en sangre capilar preprandiales fijadas como objeto deben ser de 3.9 a 7.2 mmol/L (70 a 130 mg/100 mL) y las concentraciones posprandiales serán <10.0 mmol/L (<180 mg/100 mL) 1 a 2 h después de la ingesta de alimentos.

Los pacientes con DM tipo 1 requieren 0.5 a 1.0 U de insulina/kg de peso al día fraccionadas en dosis múltiples. Deben administrarse mezclas de preparados de insulina con diferentes periodos de comienzo y duración de sus efectos. Los esquemas de



terapéutica más usados consisten en la inyección de glargina antes de dormir con lispro, glulisina o insulina asparta preprandiales o insulina subcutánea continua con un artefacto de infusión. La pramlintida, un inyectable parecido de amilina, se puede utilizar como tratamiento yuxtapuesto para controlar los picos de glucosa posprandial.

Pacientes diagnosticados con DM tipo 2 pueden tratarse con nutrición y ejercicio solos o yuxtapuesto con hipoglucemiantes orales, insulina o una combinación de fármacos orales e insulina. Se describen las clases de hipoglucemiantes orales y los esquemas posológicos. (ver Anexo 3)

También, la exenatida y la liraglutida son péptidos 1 similares al glucagón (GLP, una incretina) inyectables que puede disponerse combinado con la metformina o la sulfonilurea. Un esquema de tratamiento adecuado para la supervisión inicial propone la metformina como primer fármaco por su eficacia (disminución del 1 al 2% de la HbA1C), efectos secundarios conocidos y un costo relativamente bajo (Anexo 4). La metformina ofrece la virtud de que favorece la disminución de peso, aminora las concentraciones de insulina, rectifica el perfil de lípidos, disminuye el riesgo de cáncer y no ocasiona hipoglucemia cuando se administra como monoterapia, aunque está contraindicada en la insuficiencia renal, la insuficiencia cardiaca congestiva, cualquier manera de acidosis, hepatopatía o hipoxia grave y debe eliminarse de manera temporal en los pacientes con enfermedades graves o que reciben material de contraste radiográfico. La metformina puede permanecer con la adición de un segundo fármaco oral (secretagogo de insulina, inhibidor de DPP-IV, tiazolidinediona o inhibidor de α -glucosidasa). Se pueden rendir combinaciones de dos fármacos orales con efectos aditivos; se añade de manera gradual insulina a la hora de dormir o un tercer fármaco oral si no se logra una revisión continua y adecuada. A medida que descende la producción endógena de insulina, pueden necesitarse diversas inyecciones de insulina de larga y corta influencia, como en la



diabetes mellitus tipo 1. En los pacientes que necesitan >1 U/kg/día de insulina de acción prolongada debe considerarse la terapia combinada con un medicamento sensibilizante a la insulina como la metformina o una tiazolidinediona. Los pacientes con DM tipo 2 que requieren insulina además pueden mejorar con la suma de pramlintida.

La morbilidad y la mortalidad de las complicaciones relacionadas con la diabetes mellitus pueden reducirse altamente con procedimientos de exploración oportunos y constantes. Se puede ejecutar un análisis de orina sistemático como testigo de detección inicial de nefropatía diabética. Si es verdadero para proteínas se debe cuantificar la proteína en una porción de orina de 24 h; si es negativo para proteínas, se lleva a cabo una especificación puntual de microalbuminuria (que se presenta si hay 30 a 300 $\mu\text{g}/\text{mg}$ de creatinina en dos de tres estudios realizados en una fase de tres a seis meses). Es necesario realizar un electrocardiograma de reposo en los adultos y estudios cardiacos más complejos en los individuos de alto riesgo. Las metas terapéuticas para alertar las complicaciones de la DM son verificar la proteinuria con la administración de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o con tratamiento de antagonistas de los receptores de angiotensina, controlar la presión arterial ($<130/80$ mmHg si no hay proteinuria, $<125/75$ en caso de proteinuria) y controlar la dislipidemia (lipoproteínas de baja densidad <2.6 mmol/L [<100 mg/100 mL], lipoproteínas de alta densidad >1.1 mmol/L [>40 mg/100 mL] en varones y >1.38 mmol/L [50 mg/100 mL] en mujeres, triglicéridos <1.7 mmol/L [<150 mg/100 mL]). Además, en todo diabético >40 años de edad se administra una estatina, sin tomar en cuenta el nivel de colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL), y en aquellos con trastornos cardiovasculares existentes, el objeto en las LDL es <1.8 mmol/L (70 mg/100 mL). (17)



2.1.3. Inducción química de diabetes mellitus experimental

Para hacer estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la estimulación a un estado diabético, se usan agentes químicos para provocar diabetes. (12) Los compuestos más utilizados son:

Ensayo con Alozano.

El alozano es un resultante de la urea que causa necrosis selectiva de las células β de los islotes pancreáticos. Es uno de los métodos más potentes para inducir diabetes mellitus experimental, se trata de un agente diabetógeno bien conocido que se usa para inducir diabetes en animales experimentales.

El mecanismo subyacente implica la captación selectiva del compuesto debido a su similitud estructural con la glucosa, así como al mecanismo de captación altamente eficiente de las células beta pancreáticas. La acción tóxica del alozano sobre las células beta pancreáticas implica la oxidación de grupos sulfhidrilo (grupos -SH), inhibición de la enzima glucoquinasa, generación de radicales libres y alteraciones en la homeostasis del calcio intracelular. (12)

Etiología

El alozano (2,4,5,6-tetraoxipirimidina; 2,4,5,6-pirimidinetetrona) es un derivado de la pirimidina oxigenada. Brugnatelli originalmente aisló alozano en 1818 y el nombre fue dado por Wohler y Liebig en 1838. (23)

El nombre Alozano resultó de la fusión de dos palabras (alantoína y ácido oxalúrico). La alantoína es un producto que se forma por la excreción de ácido úrico formado en el alantoides del feto y el ácido oxalúrico que es un derivado del ácido oxálico y la urea que



se encuentra en la orina, el modelo de inducción a diabetes con aloxano fue descrito por primera vez en conejos por Dunn, Sheehan y McLetchie en 1943. (23)

Su influencia diabetógena se ha observado cuando se administra por vía parenteral (vía intravenosa, intraperitoneal) o subcutánea. Además, la dosis de aloxano requerida para estimular a diabetes depende de la especie animal, la vía de administración y el estado nutricional. Por otra parte, el aloxano ha demostrado ser no tóxico para las células beta humanas, incluso en dosis muy altas, esto se atribuye a que los mecanismos de captación de glucosa son más complejos en los seres humanos que en los roedores. (23)

Mecanismo de acción de diabetes

En diferentes trabajos experimentales se demuestra que el mecanismo de acción del aloxano produce un incremento repentino en la segregación de insulina en presencia o ausencia de glucosa inmediatamente posterior a la distribución de este compuesto. La fuga particular de insulina inducida por aloxano se produce durante un período momentáneo tras la supresión completa de la respuesta de los islotes a la glucosa, igualmente cuando se usan a altas concentraciones de glucosa; también, la acción del aloxano en el páncreas está precedida por su rápida anexión por parte de las células beta pancreáticas siendo esta una de las características más importantes que determinan la diabetogenicidad del aloxano. Además, en las células beta pancreáticas, el curso de reducción se produce en disposición de diversos agentes reductores, como los grupos glutatión reducido (GSH), cisteína, ascorbato y sulfhidrilo enlazado a proteínas (-SH). El aloxano reacciona con dos grupos -SH en el emplazamiento de acoplamiento al azúcar de la glucoquinasa, lo que resulta en la formación de la unión disulfuro y la inactivación de la enzima. Como resultado de la reducción del aloxano, se forma ácido dialúrico que luego se reoxida a aloxano estableciendo un ciclo redox para la provocación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales superóxido.



Se menciona como otro aparato en diferentes trabajos de investigación la consecuencia de ROS en el ADN de los islotes pancreáticos. La fragmentación del ADN tiene un lado en las células beta expuestas al aloxano que causa destrucción del ADN, estimulando la polirribosilación de ADP, una valoración que participa en la reparación del ADN. (12, 23)

Comúnmente la dosis intravenosa utilizada en ratas es 65mg/kg; sin embargo, cuando se administra por vía intraperitoneal (VIP) o subcutánea su dosis efectiva debe ser mayor. Como ejemplo, VIP a dosis inferior a 150mg/kg puede ser escueto para inducir a diabetes experimental en ratas. Los fenómenos consecutivos a la inyección del aloxano pasan por tres fases y se traducen en oscilaciones del perfil glicémico. En las primeras cuatro horas inmediatas a la inyección, se comprueba un aumento de la glicemia que es seguido en la segunda fase por un descenso progresivo y prolongado de la misma. En la tercera fase se manifiesta los signos de la diabetes: hiperglicemia, glucosuria, cetosis, los cuales se completan después de las 48 horas de la inyección de aloxano. El aloxano afecta directamente y selectivamente las células β y sólo cuando se emplean dosis excesivas o repetidas produce lesiones en otros órganos, especialmente en el hígado y en el riñón. (12, 23)

Ensayo con estreptozotocina

La estreptozotocina es un glucósido nitroso natural separado de *Streptomyces achromogenes* que induce la producción de radicales libres como el óxido nítrico. Ingresa a las células β del páncreas vía transportadores de glucosa, produciendo alquilación del ADN; lo que conlleva a la liquidación de las células β de los islotes de Langerhans del páncreas. Este xenobiótico se ha empleado para producir diabetes con la consiguiente disminución de insulina. La dosis más común para inducir la diabetes experimental en ratas es 60 mg/kg; una sola dosis puede causar en las ratas un modelo experimental de



diabetes mellitus tipo 2. El conflicto potencial con STZ es que sus consecuencias tóxicas no se limitan a las células pancreáticas solamente, pudiendo sembrar daño renal, estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial. (12)

2.1.4. Animales de experimentación

En investigaciones biomédicas se precisa el rendimiento de los animales de laboratorio como biomodelos naturales o inducidos a diversas enfermedades, los cuales ayudan a los trabajos de investigación en la comprensión de la patogenia, fisiología y posibilidades de terapéutica de las mismas. En la endocrinología se emplean para investigar aspectos de las patologías de origen autoinmune o no relacionados con este sistema, como la diabetes mellitus, enfermedades tiroideas, trastornos de la reproducción y del metabolismo, entre otras.

Así mismo, nos provee un arma interesante para ahondar las interrelaciones hormonales que ocurren en las personas normales y enfermas.

Aspecto general de la rata Sprague-Dawley

La rata Sprague-Dawley es una cepa híbrida albina con cabezas largas y estrechas que posee una alta tasa de reproducción y una baja incidencia de tumores espontáneos. Poseen un temperamento calmado y fácil manejo que son atributos agradables para el uso en áreas de investigación científica. (25)

Una forma de proporcionar una medida objetiva de los valores fisiológicos de bienestar en estos animales es la apariencia, la cual debe estar de acuerdo con la cepa, la edad y el sexo. Es importante objetivar el pelaje uniforme y no deben presentar ninguna secreción por las orejas, los ojos, la boca o la nariz. La materia fecal y orina deben ser normales en cantidad, frecuencia, color y consistencia. La respiración debe ser tranquila y regular, a través de la nariz con la boca cerrada. Cuando están despiertos, deben estar alerta y



conscientes de los cambios del medio ambiente, moverse libre y cómodamente en la jaula; así como, interactuar con sus compañeros de jaula y el personal que maneja al animal. (25)

Características del páncreas en ratas

El páncreas de la rata es un órgano difuso que no presenta límites bien definidos como el estómago y el hígado, se halla en forma de pequeños agregados naranja-grisáceos insertos en el mesenterio en la primera curvatura del intestino delgado (duodeno). (20)

El páncreas es una glándula mixta, secreta la insulina, glucagón y somatostatina (porción endocrina) al torrente sanguíneo y secreta el jugo pancreático con enzimas digestivas hacia el intestino delgado (porción exocrina). (20)

Valores normales de la glicemia en ratas

La glucosa en sangre de ratas normales sanas varía entre 50 y 135 mg/dl; la glucosa de la sangre depende del tipo de alimento consumido y tiempo desde la última comida. (20, 34)



2.2. Definición de términos básicos

- **Hypericum:** género de plantas herbáceas dispersa en zonas abiertas, arenosas o rocosas húmedas con actividad bioactiva importante. (21)
- **Aloxano:** es un compuesto derivado de la urea, que causa necrosis selectiva de células β de los islotes pancreáticos. (12)
- **Glucemia:** es la cantidad de glucosa contenida en sangre; generalmente se expresa en gramos por decilitro. (1)
- **Hiperglicemia:** La hiperglucemia se define como una distribución poblacional de la glucemia plasmática en ayunas que es superior a la distribución que teóricamente debería minimizar los riesgos para la salud, de acuerdo con los estudios epidemiológicos. (1)
- **Espacio intraperitoneal:** espacio virtual entre las capas visceral y parietal del peritoneo
- **Poliuria:** trastorno urinario caracterizado por el aumento de las cantidades de orina emitidas durante el día, es decir volumen de orina superior a 3 litros en 24 horas en un adulto. (2)
- **Polifagia:** trastorno caracterizado por un hambre exagerada que no cala a pesar de una ingesta importante de alimentos. (2)
- **Polidipsia:** sed excesiva, que se caracteriza por poliuria. (2)
- **Flavonoides:** pigmentos vegetales con marcado poder antioxidante, previene el envejecimiento celular y procesos degenerativos. (27)
- **Floroglucinol:** compuesto biosintético de naturaleza fenólica, encontrado en algunas plantas medicinales. (27)



- **Compuestos fenólicos:** El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias de origen vegetal que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. (27)
- **Insulinomimético:** sustancia que se comporta de forma relativamente semejante a la insulina, con efectos sobre la glicemia. (32)



2.3. Hipótesis

H1: El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss presenta efecto hipoglicémico en ratas con diabetes experimental inducida por aloxano.

H0: El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss no presenta efecto hipoglicémico en ratas con diabetes experimental inducida por aloxano.



2.4. Variables

2.4.1. Variables implicadas

A. Variable independiente

- Concentración del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss.

B. Variable dependiente

- Efecto hipoglicémico del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss en ratas con diabetes experimental inducida con aloxano.

2.5. Definiciones operacionales

A. Concentración del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss.

- Definición conceptual:

Es la cantidad en miligramos (mg) del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss disuelto en agua destilada administrado por vía orogástrica dosificado por kilogramo de peso del animal de experimentación para producir el efecto hipoglucemiante.

- Definición operacional:

- ✓ Tipo de variable: variable independiente
- ✓ Naturaleza: cuantitativa
- ✓ Forma de medición: directa
- ✓ Escala de medición: razón
- ✓ Instrumento de medición: balanza analítica
- ✓ Expresión final de la variable: mg/kg de peso
- ✓ Procedimiento: para expresar la cantidad del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss se pesará en miligramos equivalente a una dosis de 100mg y 200mg de extracto puro por kilogramo de peso de los animales



de experimentación, que se administrará por vía orogástrica a través de cánula orogástrica para producir el efecto hipoglucemiante.

B. Efecto hipoglicémico del extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss en ratas con diabetes experimental inducida con aloxano.

○ Definición conceptual:

Es la disminución de la cantidad de glucosa contenida en la sangre expresada en miligramos por decilitro (mg/dl).

○ Definición operacional:

- ✓ Tipo de variable: variable dependiente
- ✓ Naturaleza: cuantitativa
- ✓ Forma de medición: directa
- ✓ Escala de medición: razón
- ✓ Instrumento de medición: glucómetro con tiras reactivas Accu – Check Active
- ✓ Expresión final de la variable: miligramos por decilitro (mg/dl)
- ✓ Procedimiento: para expresar la concentración de glucosa en sangre, se realizará mediante una pequeña punción en la punta de la cola del animal para poder sacar una gota de sangre y ponerla en la tira reactiva que será insertada en el glucómetro marca Accu-check. Se realizarán dos mediciones por animal para poder obtener un promedio.

2.5.1. Variables no implicadas

A. Variables intervinientes:

- Con respecto a la muestra vegetal:
 - Estadio de crecimiento: se determinará el estado de crecimiento mediante inspección organoléptica.



- Altitud de la colección: 2875 m.s.n.m.
- Temporada de colección: invierno
- Tipo de recolección: con guantes
- Tipo de extracción: por solvente (ciclohexano)
- Tiempo de extracción: 2 semanas
- Con respecto a ratas Sprague-Dawley:
 - Edad de las ratas: tienen 8 a 9 semanas de edad y pertenecen al Bioterio automatizado de la Facultad de Ciencias de la salud de la Universidad Andina del Cusco.
 - Peso: el peso promedio oscila entre 250 a 350 gramos, se determinó pesando los animales en una balanza analítica en gramos.

TABLA N° 1: OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTE Y DEPENDIENTE

| TIPO DE VARIABLE | VARIABLES | INDICADORES | NATURALEZA | FORMA DE MEDICIÓN | ESCALA DE MEDICIÓN | INSTRUMENTO | EXPRESIÓN FINAL |
|-------------------------------|---|--|--------------|-------------------|--------------------|--|--------------------------------|
| VARIABLE INDEPENDIENTE | Extracto ciclohexánico de <i>Hypericum silenoides Juss</i> | Concentración del extracto ciclohexánico de <i>Hypericum silenoides Juss</i> | Cuantitativa | Directa | Razón | Balanza analítica | mg/kg de peso |
| VARIABLE DEPENDIENTE | Efecto hipoglicémico del extracto ciclohexánico de <i>Hypericum silenoides Juss</i> en ratas con diabetes experimental inducida con aloxano | Disminución de la cantidad de la glucosa en sangre tras la administración del extracto | Cuantitativa | Directa | Razón | Glucómetro con tiras reactivas Accu-Check Active | mg/dl de glicemia en la sangre |

CAPITULO III: MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

La determinación del efecto hipoglicémico del extracto de *Hypericum silenoides Juss* en ratas inducidas a diabetes experimental constituye una investigación experimental puesto que la asignación de los sujetos de experimentación se realizó aleatoriamente.

3.2. Diseño de la investigación

Las ratas incluidas en el estudio previa semana de adaptación y medición de glucosa basal fueron separadas aleatoriamente en dos grupos; un grupo control sano (n = 6) y un grupo diabético (n = 24), el último grupo mencionado se subdividió en 4 subgrupos de 6 (agua, *H.s.* 1, *H.s.* 2, glibenclamida); en total se obtuvo 05 subgrupos.

Tabla N° 02: Distribución de grupos de trabajo

| | | | | | |
|----------|---|---|-------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| DIA | ANIMALES DE EXPERIMENTACION | | | | |
| 1 – 7 | Semana de adaptación (n=30) | | | | |
| 7 | Pesado de animales y toma de glucosa (n=30) | | | | |
| 8 | GRUPO CONTROL n=6 | GRUPO DIABÉTICO (inducción con aloxano) n=24 | | | |
| 8, 9, 10 | Control de glucosa | Control de glucosa tras inducción con aloxano * | | | |
| 11 | Pesado y separación de animales por subgrupo (n=6) | | | | |
| | Subgrupo sano | DM + AGUA | DM + <i>H.s.</i> 1 (100mg/kg) | DM + <i>H.s.</i> 2 (200mg/kg) | DM + Glibenclamida |
| 11 | Administración de extracto y de tratamiento | | | | |
| 12 | Medición de glucosa y pesado de animales de manera interdiaria | | | | |
| 17 – 18 | Último día de tratamiento, medición de glucosa, pesado de animales, y sacrificio de animales. | | | | |

* Se realiza la medición de glicemia en sangre y confirmación de patología (glicemia >200mg/dl) Fuente: Elaboración propia

3.3. Población y muestra

3.3.1. Descripción de la población

En relación a los sujetos experimentales; se empleó 36 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley con pesos entre 250 a 350 gr., los cuales se distribuyeron en dos grupos: el grupo control sano (n=6) y el número restante de 30 ratas fueron inducidas a diabetes con aloxano, del cual se incluyeron aquellas ratas con glicemia > 200mg tras 48 horas de inducción (n=24), a su vez este último se subdividió (4 subgrupos de seis ratas cada uno) administrando el extracto de *Hypericum silenoides* Juss a los subgrupos correspondientes por vía oral con ayuda de una sonda orogástrica durante 7 días. (30)

Los sujetos experimentales estuvieron en un ambiente a temperatura constante (25°C) con ciclos alternados de 12 horas luz/oscuridad, dentro de las instalaciones del bioterio automatizado de las Universidad Andina Del Cusco, contaron con alimento balanceado y agua ad libitum (Ver anexo 7).

Para el manejo de los animales se utilizó protección mecánica (ropa protectora, guantes, gorros y botas) evitando así posibles focos de infección o lesiones por parte de los animales, siendo supervisadas durante la parte experimental por el Médico Veterinario Christian Roberto Pitot Alvarez encargado de la supervisión sanitaria, manejo y cuidado de los animales y Licenciado Daniel Arroyo Vargas (ambos personales que laboran en el área de Bioterio automatizado de la Universidad Andina del Cusco).

3.3.2. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión:

- Rata macho cepa Sprague-Dawley
- Ratas de 8 a 9 semanas de edad.

- Ratas que tengan un promedio entre 250 a 350g.
- Animales con certificación de sanidad. (ver anexo 6)

Criterios de exclusión:

- Animales que hayan participado de otros estudios de investigación.
- Animales con patología aparente.

3.3.3. Muestra, tamaño y método de muestreo**De la muestra vegetal:**

Las partes aéreas en floración de *Hypericum silenoides* Juss se recolectaron de los alrededores del centro poblado de Paqchaq, faldas de la montaña Pumahuanca, distrito y provincia de Urubamba, durante los meses de enero - febrero del 2020, el tamaño de muestra recolectada fue de 2 kg.

De los animales de experimentación:

El presente estudio trabajó con 36 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión antes mencionados.

3.4. Técnicas, instrumentos y procedimiento de recolección de datos**Distribución de la muestra:**

- 1) Subgrupo control sano: conformado por 6 unidades experimentales quienes recibieron una dieta habitual y agua.
- 2) Subgrupo control diabético: conformado por 6 unidades experimentales con patología diabética con dieta habitual y agua.
- 3) Subgrupo experimental 1: conformado por 6 unidades experimentales con patología diabética a las que se les administró 100mg/kg/día de extracto de



Hypericum silenoides Juss por vía orogástrica antes de recibir la dieta habitual y agua.

4) Subgrupo experimental 2: conformado por 6 unidades experimentales con patología diabética a las que se les administró 200mg/kg/día de extracto de *Hypericum silenoides* Juss por vía orogástrica antes de recibir la dieta habitual y agua.

5) Subgrupo experimental 3: conformado por 6 unidades experimentales con patología diabética a las que se les administró 10mg/kg/día de glibenclamida por vía orogástrica. (30)

3.4.1. Técnica de recolección de datos

Se trabajó con metodología cuantitativa, con una muestra adecuada bajo criterios de inclusión y exclusión, se usó datos estadísticos para determinar el valor de la prueba y el nivel de significancia elegido. Además, se usó instrumentos para la recolección de datos en el laboratorio.

3.4.2. Instrumentos

- El glucómetro "Accu-Check Performa Nano"

Dicho glucómetro utiliza la muestra de sangre de 0.6 micro litros, permite dar los resultados en un tiempo de 5 segundos mide aproximadamente 4,3 x 6,9 x 2 cm.

Cumple con el 100% de los requisitos en cuanto a precisión como lo indica la norma ISO DIN EN 15197:2003.

El principio de medición que utiliza el glucómetro es la variable mutante de la Quinoproteína glucosa deshidrogenasa (Mut. Q-GDH), método electroquímico.



- Balanza de Laboratorio

La balanza de serie Bat300 con capacidades 200g a 3000g con calibración externa, carcasa en ABS y plato en acero inoxidable.

Se colocó la balanza en un lugar nivelado, tarando antes de cada medición de peso.

3.4.3. Procedimiento de la parte experimental

3.4.3.1. Identificación y preparación del extracto de *Hypericum silenoides* Juss

El extracto utilizado en el siguiente trabajo se realizó a partir de la especie vegetal *Hypericum silenoides* Juss del piso ecológico 2875 m.s.n.m. alrededores del centro poblado de Paqchaq, faldas de la montaña Pumahuanca, distrito y provincia de Urubamba.

Una vez recolectadas las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss se procedió a la identificación taxonómica. (ver Anexo 2)

Posterior a la recolección de la muestra se realizó la selección y limpieza, excluyendo las muestras que poseían daño observable. Se dejó secar las plantas en un espacio ventilado y protegido de la luz, tras ello se pulverizaron en un molino artesanal de granos, la planta pulverizada se almacenó en un lugar al abrigo de la luz.

Luego se pesó 300 gramos de *Hypericum silenoides* Juss (partes aéreas) pulverizados, los que fueron sometidos a un proceso de maceración estática con 1.5 litros de solvente ciclohexano durante 07 días. El macerado se procesó en el Laboratorio Multiusos de Cromatografía y Espectrometría de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, a cargo del Quim. Jorge Choquenaira Pari.

El extracto sólido resultante fue de 7.6g del cual se diluyó 4.5g en 80 ml de agua destilada con Tween 80 (polisorbato 80) bajo baño maría y agitación mecánica en las instalaciones del laboratorio de Farmacotecnia de la Facultad de Bioquímica y Farmacia de la



Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco con el apoyo y supervisión del Mg. Q. F. Ricardo Sánchez Garrafa.

Para la dosificación de los tratamientos utilizamos antecedentes experimentales; las dosis de 100mg/kg y 200mg/kg del extracto de *Hypericum silenoides Juss* se basó en el trabajo de Arokiyaraj S. (2011) y la dosis de 10m/kg de glibenclamida en el estudio de Justil C. (2014). Se utilizó los promedios de los pesos de cada subgrupo para hallar la concentración de los tratamientos, los cuales fueron administrados por 7 días.

3.4.3.2. Protocolo de inducción a diabetes experimental

Se usó el protocolo de diabetes experimental inducida por aloxano (Tabla 6) vía intraperitoneal según Kameswara Rao (1999) con variación en la dosificación para obtener mejores resultados en la inducción a diabetes experimental. (23) La diabetes se indujo en ratas mediante inyección intraperitoneal con aloxano monohidrato (ver Anexo 1) a dosis única de 150mg/kg peso bajo la supervisión del Mg. Q. F. Ricardo Sánchez Garrafa.

3.4.3.3. Determinación de la actividad hipoglicemiante del extracto de *Hypericum silenoides Juss* en las ratas

Se realizó la toma de glucosa entre 9 y 10 de la mañana con el glucómetro "Accu-Check Performa Nano", durante 7 días seguidos tras la división de los subgrupos de trabajo, la primera toma de muestra sanguínea se realizó previo ayuno de 12 horas.

La medición de glucosa en sangre se obtuvo mediante una pequeña punción en la punta de la cola del animal, se descartó la primera gota y la segunda se colocó en la tira reactiva ya insertada en el glucómetro marca Accu-Check.



3.5. Plan de análisis de datos

Los datos obtenidos fueron registrados y procesados mediante un software estadístico. Para la evaluación se usó pruebas no paramétricas, en las cuales comparamos medianas, el estadístico Kruskal Wallis nos permitió determinar si existe significancia estadística emparejando los subgrupos, considerando significativo un $p < 0.05$.

Se usó T de student para comparar medias iniciales y finales pero no influyen en las conclusiones.

Se analizó el efecto del extracto de *Hypericum silenoides Juss* a diferentes concentraciones sobre las diferentes mediciones (peso, glucosa).



CAPITULO IV: RESULTADOS, DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

4.1. Resultados y discusión

4.1.1. Resultados

Se trabajó con 36 ratas machos de la cepa Sprague-Dawley de 8 a 9 semanas de edad con un peso entre 250 y 350g, 30 de estas fueron inducidas a diabetes experimental con aloxano monohidrato dosis única de 150mg/kg. Tras ello se formó 5 grupos, un grupo control sano y 04 subgrupos de ratas con diabetes experimental.

Los resultados obtenidos con los cinco subgrupos de trabajo se muestran en el presente capítulo, bajo las diversas condiciones estudiadas. Tanto los gráficos y las tablas se estructuraron resaltando el nivel de significancia en cada caso.

Tabla N° 03: Modelo de inducción a Diabetes experimental con aloxano

| Número de caja | Marcaje de animales | Glucosa ayunas | Inducción con aloxano |
|----------------|---------------------|----------------|-----------------------|
| | | 24.02.2020 | 25.02.2020 |
| 7 A | • | 70 mg/dl | 185 mg/dl |
| 7 A | •• | 72 mg/dl | 578 mg/dl |
| 7 A | ••• | 78 mg/dl | ≥600 mg/dl |
| 7B | • | 91 mg/dl | 110 mg/dl |
| 7B | •• | 77 mg/dl | 196 mg/dl |
| 7B | ••• | 89 mg/dl | 121 mg/dl |
| 7C | • | 88 mg/dl | 231mg/dl |
| 7C | •• | 73 mg/dl | 114 mg/dl |
| 7C | ••• | 87 mg/dl | 462 mg/dl |
| 7D | • | 88 mg/dl | 442 mg/dl |
| 7D | •• | 77 mg/dl | 190 mg/dl |
| 7D | ••• | 69 mg/dl | 133 mg/dl |
| 6 A | • | 92 mg/dl | 113 mg/dl |
| 6 A | •• | 75 mg/dl | 154 mg/dl |
| 6 A | ••• | 81 mg/dl | 128 mg/dl |
| 6B | • | 82mg/dl | 154 mg/dl |
| 6B | •• | 62 mg/dl | 70 mg/dl |
| 6B | ••• | 72 mg/dl | 87 mg/dl |
| 6C | • | 104 mg/dl | 120 mg/dl |
| 6C | •• | 87 mg/dl | 314 mg/dl |
| 6C | ••• | 86 mg/dl | 131 mg/dl |
| 6D | • | 79 mg/dl | 99 mg/dl |
| 6D | •• | 65 mg/dl | 117 mg/dl |
| 6D | ••• | 72 mg/dl | 98 mg/dl |
| 5 A | • | 73 mg/dl | 86mg/dl |
| 5 A | •• | 79 mg/dl | 91mg/dl |
| 5 A | ••• | 59 mg/dl | 89 mg/dl |
| 5B | • | 100 mg/dl | 102 mg/dl |
| 5B | •• | 80 mg/dl | 110 mg/dl |
| 5B | ••• | 94 mg/dl | 105 mg/dl |
| 5C | • | 74 mg/dl | 143 mg/dl |
| 5C | •• | 82 mg/dl | 180 mg/dl |
| 5C | ••• | 86 mg/dl | 178 mg/dl |
| 5D | • | 72 mg/dl | 153 mg/dl |
| 5D | •• | 78 mg/dl | 103 mg/dl |
| 5D | ••• | 68 mg/dl | 112 mg/dl |
| 4 ^a | • | 113 mg/dl | 115 mg/dl |
| 4 ^a | •• | 120 mg/dl | 184 mg/dl |
| 4 ^a | ••• | 103 mg/dl | 138 mg/dl |
| 4B | • | 109 mg/dl | 143 mg/dl |
| 4B | •• | 108 mg/dl | 113 mg/dl |
| 4B | ••• | 116 mg/dl | 118 mg/dl |

| 26.02.2020 | 27.02.2020 | 28.02.2020 | |
|------------|------------|------------|-----------------|
| 132 mg/dl | 206 mg/dl | 207 mg/dl | GRUPO DIABÉTICO |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| 144 mg/dl | 252 mg/dl | 250 mg/dl | |
| 389 mg/dl | 200 mg/dl | 210 mg/dl | |
| 171 mg/dl | 238 mg/dl | 230 mg/dl | |
| 300 mg/dl | 222 mg/dl | 230 mg/dl | |
| 256 mg/dl | 220 mg/dl | 244mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| 286 mg/dl | 267 mg/dl | 213 mg/dl | |
| 135 mg/dl | 232 mg/dl | 222 mg/dl | |
| 142 mg/dl | 258 mg/dl | 300 mg/dl | |
| 111 mg/dl | 219 mg/dl | 221 mg/dl | |
| 132 mg/dl | 215 mg/dl | 240 mg/dl | |
| 180 mg/dl | 202 mg/dl | 210 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | 468 mg/dl | 469 mg/dl | |
| 105 mg/dl | 236 mg/dl | 220 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | GRUPO SANO |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| 150 mg/dl | 345 mg/dl | 340 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | |
| 111 mg/dl | 213 mg/dl | 230 mg/dl | |
| 88 mg/dl | 90 mg/dl | 91 mg/dl | |
| 95 mg/dl | 96 mg/dl | 102 mg/dl | |
| 92 mg/dl | 89 mg/dl | 100 mg/dl | NO DIABÉTICOS |
| 108 mg/dl | 106 mg/dl | 97 mg/dl | |
| 112 mg/dl | 109 mg/dl | 112 mg/dl | |
| 107 mg/dl | 104 mg/dl | 99 mg/dl | |
| 113 mg/dl | 123 mg/dl | 138 mg/dl | |
| 183 mg/dl | 178 mg/dl | 184 mg/dl | |
| 167 mg/dl | 160 mg/dl | 173 mg/dl | HEMBRAS |
| 143 mg/dl | 142 mg/dl | 151 mg/dl | |
| 118 mg/dl | 105 mg/dl | 102 mg/dl | |
| 120 mg/dl | 100 mg/dl | 98 mg/dl | |
| 121 mg/dl | 118 mg/dl | 120 mg/dl | |
| 153 mg/dl | 163 mg/dl | 154 mg/dl | |
| 123 mg/dl | 126 mg/dl | 121 mg/dl | |
| 134 mg/dl | 136 mg/dl | 141 mg/dl | |
| 124 mg/dl | 128 mg/dl | 124 mg/dl | |
| 122 mg/dl | 124 mg/dl | 132 mg/dl | |

Interpretación:

En la tabla N° 03 se evidencia la modelización de diabetes experimental tras la inyección vía intraperitoneal de 150 mg/kg de aloxano monohidrato, considerando ratas diabéticas a todas aquellas que presentaron glucosa > 200mg/dl dos días consecutivos.

Tabla N° 04: Glicemias diarias de subgrupos de trabajo

| SUBGRUPOS DE TRABAJO | | | | |
|----------------------|----------------|---------------------|------------|------------|
| SUBGRUPOS | Número de caja | Marcaje de animales | 28.02.2020 | 29.02.2020 |
| <i>H.s.</i> 100mg/kg | 7 A | ● | 207 mg/dl | 154 mg/dl |
| | 7 A | ●● | ≥600 mg/dl | 561 mg/dl |
| | 7 A | ●●● | ≥600 mg/dl | 550 mg/dl |
| | 7B | ● | 250 mg/dl | 167 mg/dl |
| | 7B | ●● | 210 mg/dl | 127 mg/dl |
| | 7B | ●●● | 230 mg/dl | 128 mg/dl |
| <i>H.s.</i> 200mg/kg | 7C | ● | 244 mg/dl | 123 mg/dl |
| | 7C | ●● | ≥600 mg/dl | 441 mg/dl |
| | 7C | ●●● | ≥600 mg/dl | 413 mg/dl |
| | 7D | ● | 213 mg/dl | 146 mg/dl |
| | 7D | ●● | 222 mg/dl | 170 mg/dl |
| | 7D | ●●● | 240 mg/dl | 131 mg/dl |
| Glibenclamida | 6 A | ● | 210 mg/dl | 151 mg/dl |
| | 6 A | ●● | 469 mg/dl | 477 mg/dl |
| | 6 A | ●●● | ≥600 mg/dl | 555 mg/dl |
| | 6B | ● | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl |
| | 6B | ●● | 340 mg/dl | 131 mg/dl |
| | 6B | ●●● | ≥600 mg/dl | 242 mg/dl |
| Control diabético | 6C | ● | 230 mg/dl | 245 mg/dl |
| | 6C | ●● | 300 mg/dl | 310 mg/dl |
| | 6C | ●●● | 221 mg/dl | 210 mg/dl |
| | 6D | ● | 220 mg/dl | 300 mg/dl |
| | 6D | ●● | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl |
| | 6D | ●●● | 230 mg/dl | 200 mg/dl |
| Control sano | 5 A | ● | 91 mg/dl | 88 mg/dl |
| | 5 A | ●● | 102 mg/dl | 115 mg/dl |
| | 5 A | ●●● | 100 mg/dl | 95 mg/dl |
| | 5B | ● | 97 mg/dl | 101 mg/dl |
| | 5B | ●● | 112 mg/dl | 120 mg/dl |
| | 5B | ●●● | 99 mg/dl | 112 mg/dl |

Tabla N° 04: Glicemias diarias de subgrupos de trabajo (...continuación)

| SUBGRUPOS DE TRABAJO | | | | | |
|----------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| 01.03.2020 | 02.03.2020 | 03.03.2020 | 04.03.2020 | 05.03.2020 | 06.03.2020 |
| 152 mg/dl | 130 mg/dl | 148 mg/dl | 112 mg/dl | 136 mg/dl | 110 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 386 mg/dl | ≥600 mg/dl | 316 mg/dl | ≥600 mg/dl | 453 mg/dl |
| 520 mg/dl | 427 mg/dl | 400 mg/dl | 332 mg/dl | 298 mg/dl | 290 mg/dl |
| 132 mg/dl | 111 mg/dl | 154 mg/dl | 111 mg/dl | 128 mg/dl | 116 mg/dl |
| 111 mg/dl | 147 mg/dl | 106 mg/dl | 98 mg/dl | 125 mg/dl | 105 mg/dl |
| 108 mg/dl | 136 mg/dl | 114 mg/dl | 125 mg/dl | 155 mg/dl | 132 mg/dl |
| 107 mg/dl | 180 mg/dl | 121 mg/dl | 164 mg/dl | 170 mg/dl | 155 mg/dl |
| 589 mg/dl | 506 mg/dl | 399 mg/dl | 422 mg/dl | 192 mg/dl | 190 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 451 mg/dl | 429 mg/dl | 453 mg/dl | 519 mg/dl | 480 mg/dl |
| 118 mg/dl | 103 mg/dl | 115 mg/dl | 119 mg/dl | 100 mg/dl | 97 mg/dl |
| 150 mg/dl | 133 mg/dl | 112 mg/dl | 115 mg/dl | 98 mg/dl | 96 mg/dl |
| 129 mg/dl | 134 mg/dl | 127 mg/dl | 132 mg/dl | 125 mg/dl | 130 mg/dl |
| 150 mg/dl | 149 mg/dl | 142mg/dl | 151 mg/dl | 150 mg/dl | 146 mg/dl |
| 434 mg/dl | 402 mg/dl | 495 mg/dl | 305 mg/dl | 467 mg/dl | 460 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 477 mg/dl | ≥600 mg/dl | 455 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 338 mg/dl | 514 mg/dl | 306 mg/dl | 581 mg/dl | 570 mg/dl |
| 226 mg/dl | 107 mg/dl | 134 mg/dl | 143 mg/dl | 324 mg/dl | 313 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 339 mg/dl | 391 mg/dl | 289 mg/dl | 436 mg/dl | 416 mg/dl |
| 300 mg/dl | 248 mg/dl | 262mg/dl | 260 mg/dl | 273 mg/dl | 285 mg/dl |
| 350 mg/dl | 363 mg/dl | 371 mg/dl | 386 mg/dl | 380 mg/dl | 376 mg/dl |
| 253 mg/dl | 287 mg/dl | 270 mg/dl | 300 mg/dl | 316 mg/dl | 380 mg/dl |
| 314 mg/dl | 530mg/dl | 546 mg/dl | 551 mg/dl | 530mg/dl | 349 mg/dl |
| ≥600 mg/dl | 574 mg/dl | 569 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl | ≥600 mg/dl |
| 213 mg/dl | 215 mg/dl | 252 mg/dl | 268 mg/dl | 252 mg/dl | 269 mg/dl |
| 98 mg/dl | 94 mg/dl | 92 mg/dl | 96 mg/dl | 89 mg/dl | 92 mg/dl |
| 116 mg/dl | 105 mg/dl | 110 mg/dl | 107 mg/dl | 105 mg/dl | 107 mg/dl |
| 98 mg/dl | 103 mg/dl | 94 mg/dl | 105 mg/dl | 114 mg/dl | 116 mg/dl |
| 99 mg/dl | 100 mg/dl | 97 mg/dl | 102 mg/dl | 124 mg/dl | 114 mg/dl |
| 111 mg/dl | 115 mg/dl | 104 mg/dl | 117 mg/dl | 112 mg/dl | 106 mg/dl |
| 101 mg/dl | 102 mg/dl | 96 mg/dl | 104 mg/dl | 95 mg/dl | 98 mg/dl |

Interpretación:

En la tabla N° 04 se evidencian las glicemias diarias de los subgrupos de trabajo conformados por 6 ratas machos cepa Sprague-Dawley cada uno.

Tabla N° 05: Pesos interdiarios de los subgrupos de trabajo

| SUBGRUPOS | Número de caja | marcaje de animales | 28.02.2020 | 29.02.2020 |
|----------------------|----------------|---------------------|------------|------------|
| <i>H.s.</i> 100mg/kg | 7 ^a | ● | 250 | |
| | 7 ^a | ●● | 250 | |
| | 7 ^a | ●●● | 250 | |
| | 7B | ● | 270 | |
| | 7B | ●● | 260 | |
| | 7B | ●●● | 280 | |
| <i>H.s.</i> 200mg/kg | 7C | ● | 250 | |
| | 7C | ●● | 290 | |
| | 7C | ●●● | 250 | |
| | 7D | ● | 250 | |
| | 7D | ●● | 280 | |
| | 7D | ●●● | 280 | |
| Glibenclamida | 6 ^a | ● | 270 | |
| | 6 ^a | ●● | 310 | |
| | 6 ^a | ●●● | 260 | |
| | 6B | ● | 280 | |
| | 6B | ●● | 330 | |
| | 6B | ●●● | 350 | |
| Control diabético | 6C | ● | 300 | |
| | 6C | ●● | 330 | |
| | 6C | ●●● | 310 | |
| | 6D | ● | 320 | |
| | 6D | ●● | 330 | |
| | 6D | ●●● | 350 | |
| Control sano | 5 ^a | ● | 300 | |
| | 5 ^a | ●● | 335 | |
| | 5 ^a | ●●● | 320 | |
| | 5B | ● | 310 | |
| | 5B | ●● | 310 | |
| | 5B | ●●● | 300 | |



Tabla N° 05: Pesos interdiarios de los subgrupos de trabajo (... continuación)

| 02.03.2020 | 03.03.2020 | 04.03.2020 | 05.03.2020 | 06.03.2020 |
|------------|------------|------------|------------|------------|
| 250 | | 270 | | 260 |
| 240 | | 250 | | 240 |
| 270 | | 270 | | 260 |
| 250 | | 230 | | 230 |
| 260 | | 250 | | 230 |
| 270 | | 260 | | 260 |
| 235 | | 230 | | 220 |
| 300 | | 310 | | 280 |
| 220 | | 210 | | 200 |
| 250 | | 280 | | 250 |
| 260 | | 270 | | 260 |
| 270 | | 270 | | 250 |
| 250 | | 250 | | 240 |
| 310 | | 310 | | 300 |
| 270 | | 260 | | 260 |
| 280 | | 250 | | 250 |
| 320 | | 320 | | 310 |
| 350 | | 340 | | 340 |
| 300 | | 290 | | 300 |
| 320 | | 320 | | 320 |
| 300 | | 300 | | 290 |
| 310 | | 300 | | 300 |
| 320 | | 310 | | 310 |
| 340 | | 330 | | 320 |
| 300 | | 320 | | 340 |
| 330 | | 330 | | 340 |
| 310 | | 340 | | 380 |
| 300 | | 330 | | 330 |
| 310 | | 320 | | 350 |
| 300 | | 340 | | 380 |

Interpretación:

En la tabla N° 06 se describen los pesos tomados de manera interdiaria tras división de los subgrupos, la selección de color amarillo resalta los pesos iniciales.

Gráfico N° 01: Piloto de inducción a diabetes experimental con aloxano en ratas machos y hembras

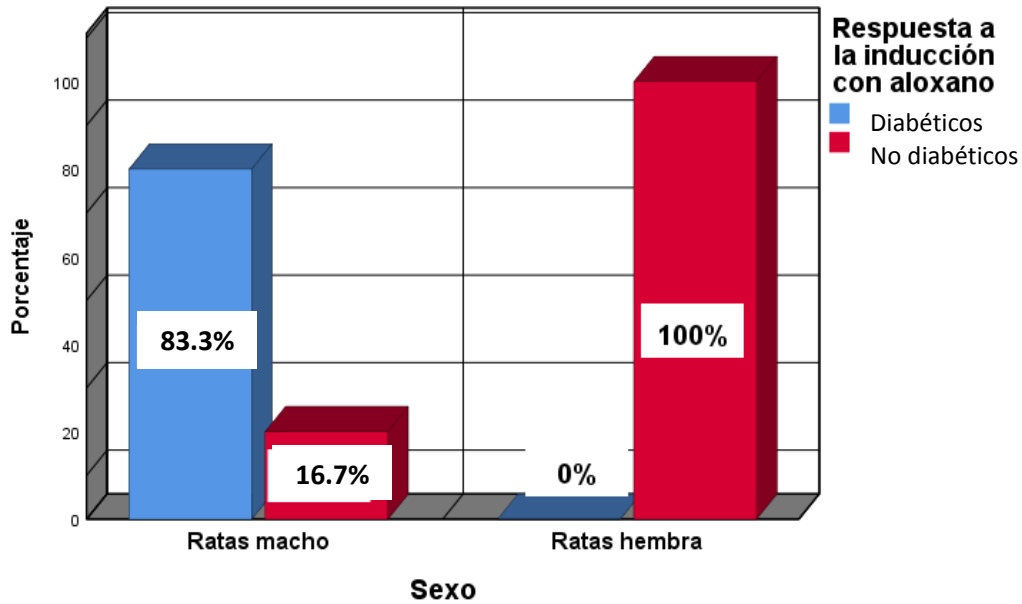


Tabla N° 06: Piloto de inducción con aloxano en ratas machos y hembras

| Tabla cruzada sexo y respuesta a la inducción con aloxano | | | | | |
|--|-------------|----------|--------------------------------------|---------------|--------|
| | | | Respuesta a la inducción con aloxano | | Total |
| | | | Con respuesta | Sin respuesta | |
| Sexo | Ratas macho | Recuento | 5 | 1 | 6 |
| | | % | 83,3% | 16,7% | 100,0% |
| Ratas hembras | Recuento | 0 | 6 | 6 | |
| | % | 0,0% | 100,0% | 100,0% | |
| Total | | Recuento | 5 | 7 | 12 |
| | | % | 41,7% | 58,3% | 100,0% |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación: En el gráfico N° 01 y la tabla N° 06 se incluyen a ratas machos y hembras de la cepa Sprague-Dawley inducidas con aloxano (150mg/kg) como prueba piloto evidenciándose que el 83.3% de ratas machos presentaron hiperglucemias mantenidas en rango de diabetes. El 100% de las ratas hembras no presentan rangos de hiperglicemias mantenidas.

Grafico N° 02: Respuesta a la inducción de Diabetes experimental con aloxano
ratas machos

Respuesta a la inducción con aloxano

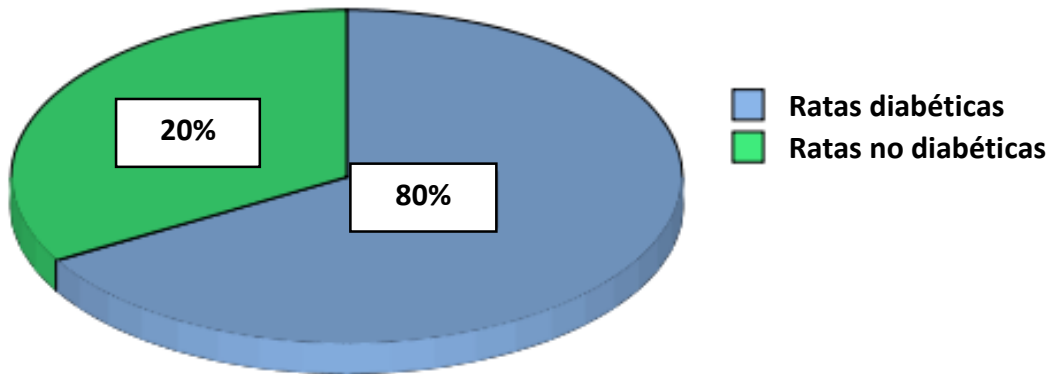


Tabla N° 07: Respuesta a la inducción de Diabetes experimental con aloxano ratas
machos

| Respuesta a la inducción de Diabetes experimental con aloxano ratas macho | | | | | |
|--|---------------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| | | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
| Válido | Con respuesta | 24 | 80 | 80,0 | 80,0 |
| | Sin respuesta | 06 | 20 | 20,0 | 100,0 |
| | Total | 30 | 100,0 | 100,0 | |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Como se muestra en el gráfico N° 02 y en la tabla N° 07 del 100% de ratas machos de cepa Sprague-Dawley inducidas con aloxano el 80% obtuvo una glicemia > 200 mg/dl mantenida durante 02 días continuos las cuales fueron consideradas dentro del grupo diabético. El 20% restante obtuvo glicemias menores de 200 mg/dl.

| | Prueba | H de Kruskal Wallis | Grados de libertad | Sig. asintótica |
|---|---|---------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes | 21,656 | 4 | 0,000 |

Se muestran significaciones asintóticas. El nivel de significación es de 0,05.

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

Las hipótesis estadísticas para el procedimiento estadístico H de Kruskal Wallis fueron:

- H0: Los niveles de glucosa al final del tratamiento en mg/dl son los mismos entre los subgrupos.
- H1: Los niveles de glucosa al final del tratamiento en mg/dl no son los mismos entre los subgrupos.

Para esto utilizamos un nivel de confianza del 95% y un nivel de significancia $\alpha = 0,05$.

Entonces, deberemos aceptar H0 si: p valor (Sig.) $\geq \alpha$, y rechazar H0 si: p valor (Sig.) $< \alpha$.

Luego apreciamos que el valor sig. es menor a 0,05.

Concluimos que los niveles de glucosa al final del tratamiento en mg/dl no son los mismos entre los subgrupos de estudio. Existen diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de los subgrupos analizados.

Tabla 09: Comparaciones de la glucosa al final del tratamiento en mg/dl

| Muestra 1-Muestra 2 | Estadístico de contraste | Error Error | Desv. Estadístico de contraste | Sig. | Sig. ajust. |
|---------------------------------|--------------------------|-------------|--------------------------------|------|-------------|
| Control sano-H.s. 200mg/kg | 10,167 | 5,065 | 2,007 | ,045 | ,447 |
| Control sano-H.s. 100mg/kg | 10,583 | 5,065 | 2,090 | ,037 | ,366 |
| Control sano-Glibenclamida | 17,167 | 5,065 | 3,390 | ,001 | ,007 |
| Control sano-Control diabético | 22,083 | 5,065 | 4,360 | ,000 | ,000 |
| H.s. 200mg/kg-H.s. 100mg/kg | ,417 | 5,065 | ,082 | ,934 | 1,000 |
| H.s. 200mg/kg-Glibenclamida | -7,000 | 5,065 | -1,382 | ,167 | 1,000 |
| H.s. 200mg/kg-Control diabético | -11,917 | 5,065 | -2,353 | ,019 | ,186 |
| H.s. 100mg/kg-Glibenclamida | -6,583 | 5,065 | -1,300 | ,194 | 1,000 |
| H.s. 100mg/kg-Control diabético | -11,500 | 5,065 | -2,271 | ,023 | ,232 |
| Glibenclamida-Control diabético | -4,917 | 5,065 | -,971 | ,332 | 1,000 |

Cada fila prueba la hipótesis nula de que las distribuciones de la Muestra 1 y la Muestra 2 son las mismas. Se muestran las significaciones asintóticas (pruebas bilaterales). El nivel de significación es ,05. Los valores de significación se han ajustado mediante la corrección de Bonferroni para varias pruebas.

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

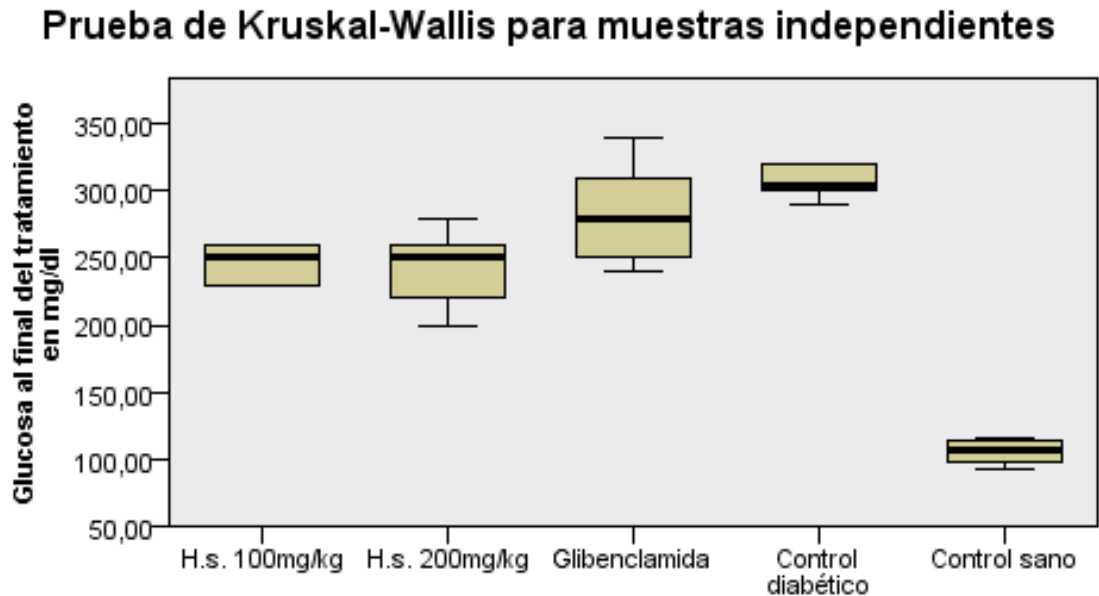
En la presente tabla se muestran las comparaciones múltiples entre los subgrupos de tratamientos aplicados para evaluar la glucosa al final del tratamiento en mg/dl, así podemos ver que:

- Existen diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos control sano – glibenclamida (sig.= 0,007) y el subgrupo control sano- control diabético (sig.= 0,000).
- No existen diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos *H.s.* 100 mg/kg - *H.s.* 200 mg/kg (sig. = 1,000), tampoco entre los subgrupos *H.s.* 100



mg/kg – glibenclamida (sig. = 1,000), ni entre los subgrupos *H.s.* 200 mg/kg – glibenclamida (sig. = 1,000).

- No existen diferencias estadísticamente significativas entre los subgrupos glibenclamida - control diabético (sig. = 1,000).

Grafico N°03: Distribución de medianas entre los distintos subgrupos

Interpretación:

En el presente gráfico de cajas y bigotes se observa la distribución de las medianas entre los distintos subgrupos:

- Las medianas de los tratamientos *H.s.* 100 mg/kg y *H.s.* 200 mg/kg se encuentran prácticamente a la misma altura; si se proyectan una sobre la otra caen dentro de la misma caja, lo cual significa que ambos subgrupos son iguales.
- Las medianas de los tratamientos *H.s.* 100 mg/kg, *H.s.* 200 mg/kg y glibenclamida se encuentran muy próximas, lo cual nos indica que los tres tratamientos tienen una efectividad similar.
- La mediana del subgrupo control sano difiere notablemente de los demás subgrupos.

Tabla N° 10: Diferencias de peso inicial y final por subgrupos

| Estadísticas de muestras emparejadas | | | | | | | |
|--------------------------------------|--------------|----------|---|------------------|----------------------|---------|-------|
| Subgrupos | | Media | N | Desv. Desviación | Desv. Error promedio | Valor t | Sig. |
| <i>H.s.</i> 100mg/kg | Peso inicial | 260,0000 | 6 | 12,64911 | 5,16398 | 1,581 | 0,175 |
| | Peso final | 246,6667 | 6 | 15,05545 | 6,14636 | | |
| <i>H.s.</i> 200mg/kg | Peso inicial | 266,6667 | 6 | 18,61899 | 7,60117 | 3,264 | 0,022 |
| | Peso final | 243,3333 | 6 | 28,75181 | 11,73788 | | |
| Glibenclamida | Peso inicial | 300,0000 | 6 | 35,77709 | 14,60593 | 3,371 | 0,020 |
| | Peso final | 283,3333 | 6 | 39,32768 | 16,05546 | | |
| Control diabético | Peso inicial | 323,3333 | 6 | 17,51190 | 7,14920 | 3,953 | 0,011 |
| | Peso final | 306,6667 | 6 | 12,11060 | 4,94413 | | |
| Control sano | Peso inicial | 312,5000 | 6 | 13,32291 | 5,43906 | -3,717 | 0,014 |
| | Peso final | 353,3333 | 6 | 21,60247 | 8,81917 | | |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla N° 11 apreciamos las medias de los pesos al inicio y al final de los distintos subgrupos de tratamiento durante los 7 días de trabajo experimental, se observaron diferencias estadísticamente significativas de los siguientes subgrupos:

- *H.s.* 200mg/kg (sig. = 0,022), Glibenclamida (sig. = 0,020), Control diabético (sig. = 0,011) y Control sano (sig. = 0,014) cuyos valores son menores al valor de significancia (sig. = 0.05).

Tabla N° 11: T de student de glicemia inicial y final de los subgrupos de trabajo

| Estadísticas de muestras emparejadas | | | | | | | |
|--------------------------------------|------------------|----------|---|------------------|----------------------|---------|-------|
| | | Media | N | Desv. Desviación | Desv. Error promedio | Valor t | Sig. |
| <i>H.s.</i> 100mg/kg | Glucemia inicial | 349,5000 | 6 | 194,65225 | 79,46645 | 4,451 | 0,007 |
| | Glucemia final | 201,0000 | 6 | 142,06196 | 57,99655 | | |
| <i>H.s.</i> 200mg/kg | Glucemia inicial | 353,1667 | 6 | 191,53529 | 78,19395 | 3,243 | 0,023 |
| | Glucemia final | 191,3333 | 6 | 145,87620 | 59,55371 | | |
| Glibenclamida | Glucemia inicial | 469,8333 | 6 | 164,43895 | 67,13192 | 1,881 | 0,119 |
| | Glucemia final | 417,5000 | 6 | 169,11741 | 69,04190 | | |
| Control diabético | Glucemia inicial | 300,1667 | 6 | 149,96055 | 61,22114 | - 3,180 | 0,025 |
| | Glucemia final | 376,5000 | 6 | 118,86926 | 48,52817 | | |
| Control sano | Glucemia inicial | 100,1667 | 6 | 6,91134 | 2,82154 | - 1,397 | 0,221 |
| | Glucemia final | 105,5000 | 6 | 9,20326 | 3,75722 | | |

Fuente: Elaboración propia

Interpretación:

En la tabla N° 12 evidenciamos las medias de la glucemia del inicio y del final de los distintos subgrupos de tratamiento donde:

- Los subgrupos *H.s.*100 mg/kg (sig. = 0,007) y *H.s.*200 mg/kg (sig. = 0,023) presentan una disminución estadísticamente significativa entre la glucemia inicial y final del tratamiento con el extracto.



- El subgrupo control diabético (sig. = 0,025) presenta un aumento estadísticamente significativo entre la glucemia inicial y final del estudio.
- Los subgrupos glibenclamida (sig. = 0,119) y control sano (sig. = 0,221) no presentan variación estadísticamente significativa entre la glucemia inicial y final de dichos tratamientos.



4.1.2. Discusión

En este apartado se analizó el efecto hipoglicémico del extracto ciclohexánico del *Hypericum silenoides* Juss a concentraciones de 100 y 200mg/kg en ratas machos de la cepa Sprague-Dawley inducidas a diabetes experimental. En la actualidad se dispone de modelos de diabetes experimental, que asemejan algunas anormalidades metabólicas propias de esta patologías; tales como, procedimientos quirúrgicos que suelen presentar alta mortalidad, los modelos dietéticos que sólo desarrollan grados de obesidad, la manipulación genética que se asemeja a un síndrome diabético humano pero es de alto costo y de difícil mantenimiento; por último los métodos farmacológicos, dentro del cual se incluyen el aloxano y la estreptozotocina que son convenientes, accesibles y permiten el uso racional y ético de los modelos animales. (33)

Se seleccionó aloxano para la inducción de diabetes en lugar de estreptozotocina por su alta afinidad a las células beta del páncreas, teniendo como mecanismo principal la desintegración de las células β del páncreas aumentando el calcio citosólico y originando la suscitación de radicales libres, con rol en la patogénesis de la diabetes mellitus del ser humano. Se ha demostrado que el aloxano induce la obtención de peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido (O_2^-) y el hidroxilo (OH^-), que produce daño, seguido de muerte celular (29).

En nuestro estudio, el gráfico N° 2 y la tabla N° 7 muestran el porcentaje de ratas machos de la cepa Sprague-Dawley inducidas con aloxano a monodosis de 150mg/kg vía intraperitoneal a diabetes experimental, evidenciándose que en un 80% las ratas machos presentaron hiperglucemias mantenidas mayor a 48 horas en rango de diabetes (glicemias >200 mg/dl), siendo así catalogadas como ratas con diabetes experimental y el 20% de ratas machos presentaron hiperglicemias que no llegaron a rangos de diabetes.



Esto concuerda con lo encontrado en el estudio publicado por Rohilla (2012) donde mencionan que la hiperglicemia permanente final se produce dentro de las 24 - 48h posteriores a la administración del aloxano. Es importante mencionar que, las células no beta y otros tipos de células de los islotes endocrinos y no endocrinos, junto con el parénquima extrapancreático permanecen intactos, lo que proporciona evidencia de la acción tóxica selectiva del aloxano. (23)

La dosis efectiva o mortal del aloxano varía considerablemente entre las especies y son en extremo sensibles a la edad, sexo y situación nutricional de los animales (Gold et al., 1981; Masson, 2003), en nuestro estudio realizamos una prueba piloto donde se evidencia una diferencia marcada entre la dosis efectiva de inducción a diabetes experimental entre ambos sexos, siendo así que el 100 % de ratas hembras no presentaron glicemias superiores a 200mg/dl o no mantuvieron esos rangos por más de 48 horas en comparación con las ratas machos.

Los animales inducidos a diabetes experimental presentaron altos niveles de glucosa mantenidos (Tabla 04), otras características importantes que se observaron durante el estudio fue el aumento de la diuresis y el olor fuerte en la orina del subgrupo control diabético, heces con mayor pigmentación en ambos subgrupos de *Hypericum silenoides* *Juss* de 100 y 200mg/kg y la pérdida de peso fue mayor en el subgrupo de *Hypericum silenoides* *Juss* 200mg/kg (sig = 0,022); sin embargo, no se encontró caída de pelos ni debilidad general visible, características que fueron reportados por otros autores. (31) Las ratas del grupo control sano presentaron niveles de glucosa normal, adecuado incremento de peso (sig = 0.014), la ingesta de agua y la diuresis fue menor respecto a los grupos diabéticos.

En nuestro estudio, la diferencia entre los niveles de glucosa en plasma en ayunas inicial y final de los diferentes subgrupos de estudio (Tabla 11) reveló una diferencia



significativa en comparación con el control sano al final del período experimental de 07 días. Nuestra investigación indica que la eficacia del extracto ciclohexánico de *H. silenoides Juss* redujo significativamente los niveles de glucosa en sangre en ratas diabéticas inducidas a diabetes experimental con aloxano en comparación con el subgrupo control diabético.

Cabe mencionar que entre los subgrupos de tratamiento con extracto de *H. silenoides Juss* a dosis de 100 y 200 mg/kg no se encontró diferencia significativa en comparación con la glibenclamida; por lo que podemos deducir de nuestro trabajo, que el efecto hipoglicemiante que tuvo durante los 07 días de tratamiento entre el *H. silenoides Juss* a diferentes dosis y glibenclamida fueron similares. Estudios que dosaron insulina plasmática tras la administración de extracto de *Hypericum perforatum* demuestran que el posible mecanismo por el cual *Hypericum* provoca su acción hipoglucémica en ratas diabéticas puede ser debido a que potencian el efecto de la insulina plasmática al aumentar la secreción pancreática de insulina por parte de las células beta existentes. (7)

Dentro de nuestro trabajo se realiza una comparación independiente de cada subgrupo de estudio entre los niveles de glicemia iniciales y finales (Tabla 11) donde se aprecia que los niveles de glucosa disminuyen durante los siete días de tratamiento significativamente ($p < 0.05$) para los subgrupos *H. silenoides Juss* 100mg/kg (sig. =0.007), *H. silenoides Juss* 200 mg/kg (sig. =0.023). Nuestro estudio concuerda con el potente el efecto hipoglicemiante de otros estudios sobre *Hypericum*, donde atribuyen este efecto a la presencia de varios fitoconstituyentes detectados en estudios previos de cribado fitoquímico que solo o en sinergia pueden impartir efecto terapéutico. (7) Estudios demuestran que el extracto de *Hypericum* posee abundantes flavonoides los cuales ejercen una acción insulinomimetica y antihiperglicémico como secretagogo de insulina que deben ser analizados en posteriores estudios. (29)



Es importante resaltar que en anteriores estudios se concluye que el *Hypericum perforatum* aumenta la cantidad de serotonina presente dentro de los sinaptosomas al inhibir la captación sinaptosómica de serotonina. (6) Este aumento de serotonina reduce la ingesta de alimentos ricos en carbohidratos y suprime el apetito, este vínculo podría ser la conexión entre el efecto antidepresivo y anti obesidad del *Hypericum*, que en futuros estudios deberían ser relacionados. (6, 27)

En el estudio de Mohammed G (2011), se describe que el extracto de *Hypericum perforatum* muestra una inhibición significativa en el aumento de peso en ratas, inducido por una dieta alta en grasas o alimentación con fructosa, a pesar de que en nuestro estudio el alimento y agua de los animales de experimentación fueron normales y a libertad, en la tabla N° 10 se evidencia las diferencias de peso inicial y final donde el subgrupo *Hypericum silenoides Juss* a 100mg/kg muestra una disminución de peso no significativa (sig. = 0,175) en comparación a los subgrupos *Hypericum silenoides Juss* a 200mg/dl (sig. = 0.022), glibenclamida (sig. = 0.020) y subgrupo control diabético (sig. = 0.011) cuya disminución es significativa ($p < 0.05$). La pérdida de peso evidenciada se considera como un signo agudo de diabetes experimental. (33, 34)



4.2. Conclusiones

- El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss posee efecto hipoglicémico en ratas diabéticas inducidas con aloxano, los flavonoides juegan un rol importante dentro de este mecanismo, se necesitan más estudios para identificar los compuestos específicos responsables de su actividad antidiabética.
- De los 2 kg de muestra de partes aéreas en floración de *Hypericum silenoides* Juss, tras secado y pulverizado resultaron 300 gramos de muestra del cual se obtuvieron 7.6 gramos de extracto sólido de *Hypericum silenoides* Juss.
- La diabetes experimental se modelizó en ratas machos con aloxano en condiciones de altura a dosis única de 150 mg/kg vía intraperitoneal diluido en agua destilada; sin embargo, este modelo no imita en su totalidad al síndrome diabético humano siendo necesario estructurar diseños experimentales que permitan una supervivencia a largo plazo para establecer analogía con esta patología en humanos.
- El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss a dosis de 100mg/kg y 200mg/kg mostro efecto hipoglicémico similar al de la glibenclamida, usando el nivel de significancia menor a 0,05.
- El extracto ciclohexánico de *Hypericum silenoides* Juss a dosis de 100 mg/kg presentó una disminución de glicemia llegando a valores normales en un 66% tras siete días de tratamiento y a dosis de 200mg/kg la glicemia se normalizo en un 50%. No se observó la normalización de glicemia en el subgrupo de glibenclamida.
- Los tres tratamientos (*Hypericum silenoides* Juss 100mg/dl, 200mg/dl y glibenclamida) tienen la misma eficacia hipoglicémica ya que no se encontraron diferencia significativa entre sus respectivas medianas.



4.3. Sugerencias

- Investigar más propiedades terapéuticas del extracto de *Hypericum silenoides Juss* que se encuentra en nuestra región, como sus efectos en el perfil lipídico, actividad cicatrizante entre otros que fueron estudiadas en otras especies de *Hypericum*.
- Relacionar las propiedades antidepresivas e hipoglicemiantes del extracto de *Hypericum silenoides Juss* en modelos diabéticos con un tratamiento más prolongado.
- Sugerimos introducir el extracto de *Hypericum silenoides Juss* en estudios en personas diabéticas con terapia convencional por sus efectos resultantes sobre la glucosa tras modelar un diseño experimental más cercano a la diabetes humana.
- Difundir las propiedades terapéuticas de los productos naturales como del extracto de *Hypericum silenoides Juss* para ser considerados como hipoglucémicos potenciales con un bajo costo, alta eficacia y baja toxicidad validado por más estudios posteriores.
- Fomentar estudios experimentales dentro de la Escuela Profesional de Medicina Humana.
- Sugerimos dosar insulina plasmática al inicio y al final del tratamiento con extracto de *Hypericum silenoides Juss* en animales con diabetes experimental para analizar su posible efecto secretagogo.



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Informe mundial sobre la diabetes [internet]. Organización mundial de la salud; 2016 [actualizado abr 2016; citado 20 ener 2020] Disponible en: <http://www.who.int/diabetes/global-report/es/>
2. Diabetes [internet]. World Health Organization. [actualizado 30 oct 2018; citado 20 ener 2020] Disponible en: <http://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>
3. Montenegro FJ, Rios K. Manejo de bioterio para roedores (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*) y lagomorfos (*Oryctolagus cuniculus*) [pregrado]. Universidad Nacional Agraria Nicaragua; 2014.
4. Wachtel-Galor S, Benzie FF. Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects. An introduction to its history, usage, regulation, current trends, and research needs 2da ed. Boca Raton (FL): CRC Press. 2011.
5. Aghajanyan A, Ginovyan M, Trchounian A. Herbs Extracts in the Treatment and Prevention of Experimental Metabolic Disorders: Synergistic Hypoglycemic Activity of Ethanol Extracts of *Hypericum alpestre* and *Rumex obtusifolius*. MDPI. 2019; 11,2.
6. Mohammed G, Sunder S, Nath P, Kumar V. Hypolipidemic and Antiobesity-Like Activity of Standardised Extract of *Hypericum perforatum* L. in Rats. ISRN Pharmacology. 2011; Article ID 505247.1-7.
7. Arokiraraj S, Balamurugan R, Augustian P. Antihyperglycemic effect of *Hypericum perforatum* ethyl acetate extract on streptozotocin-induced diabetic rats. APJTB. 2011. 386-390.
8. Jin D, He J, Luo X, Zhang T. Hypoglycemic effect of *Hypericum attenuatum* Choisy extracts on type 2 diabetes by regulating glucolipid metabolism and modulating gut microbiota. JFF 52. 2019. 479-491.
9. Kang W, Song Y, Zhang L. α -Glucosidase inhibitory and antioxidant properties and antidiabetic activity of *Hypericum ascyron* L. MCR. 2011. 20; 809-816.
10. Kabiri N, Asgary S, Setorki M. The effects of concurrent hydroalcoholic extract of *Amaranthus caudatus* L. and *Hypericum perforatum* L. of fatty streak formation in hypercholesterolemic animals. AJPP. 2011. Vol5(16): 1911-1919.
11. Roostaie A, Roshanaei K, Reza M, Akbar A. The Effects of *Hypericum* Extract on Blood Factors in Diabetic Rats. JMMC. 2014. 2: 10-13.



12. Sharma K. In vitro and in silico evaluation of antidiabetic effect of Hydroalcoholic leaf extract of *Hypericum Perforatum* Linn [posgrado]. Universidad de Información Tecnológica Waknaghat. India; 2014.
13. Senthil M, Kavimani S. Evaluation of Anti Hyperglycemic Studies on *Hypericum hookerianum* in Streptozotocin(STZ) and Nicotinamide Induced Diabetic Rats. IJPPR. 2015. 7(2): 370-373.
14. Ghosian M, Ansari I, Roghani M, Ghanem A, Mehdizade N. The Effect of Oral Administration of *Hypericum Perforatum* on Serum Glucose and Lipids, Hepatic Enzymes and Lipid Peroxidation in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. GMJ. 2017. 6(4): 319-329.
15. Maldonado COI. Efecto del tratamiento con tres diferentes dosis de maca negra y metformina en ratas machos con diabetes inducida con nicotinamida – estreptozotocina. [pregrado]. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2015.
16. Powers AC. Diabetes Mellitus: diagnóstico, clasificación y fisiopatología. En: Barnes PJ, Fauci AS, Kasper DL, Braunwald E, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Harrison Principios de Medicina Interna. Vol 2. 19 ed. New York: McGraw Hill; 2016
17. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J. HARRISON Manual de Medicina. 19.^a ed. México: McGRAW Hill Interamericana; 2016.
18. Florez Machacca CA, Huarcaya Pizarro VF. Determinación del efecto hipoglucemiante del extracto seco hidroalcoholico al 70% de *Leucheria daucifolia* (D. Don) Crisci "Sasawi" en ratas con diabetes inducida experimentalmente con aloxano y determinación de la toxicidad aguda [pregrado]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2009.
19. Huaranca E. Elaboración de liposomas del extracto seco etanólico de *Urtica urens* Linneo "Ortiga" y evaluación de su efecto hipoglicemiante en Diabetes experimental inducida en ratas [pregrado]. Universidad San Antonio Abad del Cusco; 2009.
20. Aymachoque Quispe K. Efecto hipoglicemiante de *Baccharis tricunesta* var. *Robusta* Cuatrecasas (tayanca) en ratas albinas con hiperglucemia inducida por aloxano y evaluación de toxicidad aguda en ratones albinos [pregrado]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2017.



21. Ccana-Ccpatinta, G.V.; Serrano Flores, C.; Urrunaga Soria, E.J.; Choquenaira Pari, J.; Galiano Sánchez, W.; Crockett, S.L.; Von Poser G.L.; Del Carpio-Jiménez, C. Assessing the phytochemical profiles and antidepressant-like activity of four Peruvian *Hypericum* species using the murine forced swimming test. *Phytochemistry Letters*. 2011; v. 10, p. 107-112.
22. Riddle MC. American Diabetes Association STANDARDS OF MEDICAL CARE IN DIABETES 2020. *Diabetes Care The journal of clinical and applied research and education*. 2020;43(Supplement 1): S14–S27.
23. Rohilla, A, Ali, S. Alloxan induced diabetes: mechanisms and effects. *journal of research in pharmaceutical and biomedical sciences*. 2012, 3(2), 819-823.
24. Sánchez Cruzado MT. EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DEL ZUMO DEL FRUTO DE Averrhoa carambola (CARAMBOLA) EN *Rattus norvegicus* var. *albinus* CON DIABETES MELLITUS INDUCIDA [pregrado]. Universidad Católica Los Ángeles Chimbote; 2019.
25. Agustin Carbajal. Ratones y ratas de laboratorio. Synatom Research, Princeton, New Jersey, United States: fecha: 2018-05-25; original versión: 2012-10-05 [consultado el 07/03/10]. Disponible en: <http://www.labome.es/method/Laboratory-Mice-and-Rats.html>, [//dx.doi.org/10.13070/mm.es.2.113](http://dx.doi.org/10.13070/mm.es.2.113).
26. Henrique Bridi¹, Gabriela de Carvalho Meirelles¹, Gilsane Lino von Poser. Structural diversity and biological activities of phloroglucinol derivatives from *Hypericum* species. *Phytochemistry* 155(2018); 203-232.
27. Sánchez R., Actividad antidepressiva y determinación por HPLC de los principales componentes del extracto ciclohexánico de las partes aéreas de *Hypericum silenoides* Juss [posgrado]. Universidad San Antonio Abad del Cusco; 2018.
28. Campuzano-Bublitz MA, Rolón LE, Vera LM, Kennedy ML. Efecto del consumo de pulpa de *Carica papaya* sobre la glicemia y peso de ratones normo e hiperglicémicos por aloxano. *ARCHIVOS LATINOAMERICANOS DE NUTRICIÓN* [Internet]. 2018 [citado 6 marzo 2020];68(2):132–140. Disponible en: <http://docs.bvsalud.org/biblioref/2019/09/1016669/art-4.pdf>
29. Herrera-Calderon O, Chinchay-Salazar R, Palomino-Ormeño E, Arango-Valencia E, Arroyo J. Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de *Geranium ruizii* Hieron. (pasuchaca) en la hiperglucemia inducida por aloxano en ratas. *Anales de*



- la Facultad de Medicina [Internet]. 2015 [citado 5 marzo 2020];(2):117–122. Disponible en: <http://dx.doi.org/dx.doi.org/10.15381/anales.v76i2.11135>
30. Justil C, Angulo P, Justil H, Arroyo J. Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Alozano. *Rev Inv Vet Perú* [Internet]. 2015 [citado 6 marzo 2020];26(02):206–212. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v26i2.11008>
31. Vilchez C. H, Pineda M, Pulido C. V. Actividad hipoglucemiante de los extractos de *Smallanthus sonchifolius* "yacón" y *Vitis vinífera* "uva" en ratas con diabetes inducida por alozano [Internet]. Lima: versión impresa ISSN 1815-8242; 2018 [citado 3 marzo 2020]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2413-32992018000200013.
32. insulinomimético in *Dicionário infopédia da Língua Portuguesa* [em linha]. Porto: Porto Editora, 2003-2020. [consult. 2020-03-26 23:25:04]. Disponível na Internet: <https://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/insulinomimético>
33. Moreno-Cortés, M. L., Gutiérrez-García, A. G., & Contreras, C. M. (2020). ¿Los protocolos experimentales son un símil real de la diabetes humana? *Ciencia UAT*, 14(2), 51–61. <https://doi.org/doi.org/10.29059/cienciauat.v14i2.1289>
34. Nitz de Carvalho, E., Schmidt de Carvalho, N. A., & Masako Ferreira, L. (2003). Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. *Acta Cirurgica Brasileira*, 18, 60–64. <https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S0102-86502003001100009>