



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD HIPOGLICEMIANTE Y EVALUACIÓN DE
LA CAPACIDAD DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA
SEMILLA DE *Persea americana* Mill “Palto” PARA
REDUCIR EL DAÑO HISTOLOGICO EN CELULAS β
PANCREATICAS.**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br.: García Chávez Yelson Néstor.

Br.: Ortega Ponce Dany Lizbeth.

Asesora:

Dra. Chávez Flores, Juana Elvira.

Lima – Perú
2019

Esta tesis está dedicado en primer lugar a nuestro creador, el que me ha dado fortaleza para continuar en momentos difíciles, al que me proporciono sabiduría para poder llevar por buen camino mis estudios, el encargado de ponerme a buenos amigos y profesionales en mi camino los cuales ayudaron a formarme profesionalmente. De igual forma, es dedicado para las personas más especiales que son mi familia a mis padres que han sabido formarme con buenos hábitos y valores, por inculcarme a salir adelante y ser mejor que ellos a mi hermana por el apoyo incondicional.

Br.: García Chávez Yelson Néstor.

Este trabajo está dedicado principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi abuela y mi madre, por ser los pilares más importantes y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones. A mi padre, a pesar de nuestra distancia física, siento que estás conmigo siempre, sé que este momento es tan especial para ti como lo es para mí. A mi tíos (as), a quienes quiero mucho, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuesta a escucharme y ayudarme en cualquier momento.

Br.: Ortega Ponce Dany Lizbeth.

AGRADECIMIENTO

Nuestro agradecimiento infinito y cariño mutuo a nuestra asesora de tesis Dra. Juana Elvira Chávez Flores, gracias por compartir sus conocimientos, consejos durante nuestra etapa de estudiante y para el desarrollo de nuestra tesis, gracias por la paciencia y dedicación que tiene para los trabajos de investigación por el compromiso que tiene tanto con la universidad y con sus alumnos.

A nuestra alma mater Universidad Privada Norbert Wiener por recibirnos en sus aulas desde el primer día que decidimos convertirnos en Químicos Farmacéuticos, por acogernos en sus instalaciones y poder realizar nuestros estudios con las comodidades del caso, por brindarnos sus instalaciones para la realización de esta tesis brindándonos todas las facilidades y haciéndonos sentir nuestra segunda casa.

A todas las personas que de una manera u otra estuvieron comprometidos con esta tesis al Dr. José Ernesto Raez Gonzales patólogo de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos pese a su estado de salud comprometido con la realización de la investigación.

Al Lic. Pedro Yvan Sáenz Rivera por proporcionarnos su ayuda en el análisis estadístico.

Br.: García Chávez Yelson Néstor.

Br.: Ortega Ponce Dany Lizbeth.

INDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

	Pág.
I. INTRODUCCION.	1
1.1. Situación problemática.	3
1.2. Formulación del problema.	3
1.3. Justificación.	3
1.4. Objetivos.	4
1.4.1. Objetivo general.	4
1.4.2. Objetivo específico.	4
1.5. Variables.	4
1.6. Hipótesis.	4
1.7. Límites de la investigación.	4
II. MARCO TEORICO.	5
2.1. Antecedentes de la investigación.	5
2.1.1. Antecedentes internacionales.	5
2.1.2. Antecedentes nacionales.	7
2.2. Bases teóricas.	9
2.2.1 <i>Persea americana</i> Mill “Palto”.	9
2.2.1.1 Historia de la <i>especie Persea americana</i> Mill “Palto”	9
2.2.1.2 Descripción botánica del Palto.	9
2.2.1.3 Clases de Palta.	10
2.2.1.4 Clasificación Botánica de <i>Persea americana</i> Mill “Palto”.	10
2.2.1.5 Beneficios de la Palta.	10
2.2.2 Diabetes mellitus.	11
2.2.2.1 Tipos de diabetes.	11
2.2.2.2 Criterios de diagnóstico de la diabetes.	14
2.2.2.3 Síntomas de la diabetes mellitus.	15
2.2.2.4 Tratamiento de la diabetes mellitus.	15
2.2.2.5 Descripción de los grupos farmacológicos.	19
2.2.2.6 Hiperglucemia.	26
2.2.3 Páncreas.	27
2.2.4 Glucómetro Accucheck Active.	29
2.2.4.1 Tiras reactivas.	30
III. MATERIALES Y METODOS.	31
3.1. Tipo y diseño.	32
3.2. Población y muestra.	34
3.2.1 Población de estudios.	34

3.2.2 Muestra de estudios.	34
3.3. Criterios de inclusión y exclusión.	34
3.3.1 Criterios de inclusión.	34
3.3.2 Criterios de exclusión.	34
3.4. Metodología.	34
3.4.1 Recolección.	34
3.4.2 troceado.	34
3.4.3 Secado.	34
3.4.4 Preparación del extracto etanólico de las semillas de la especie <i>Persea americana</i> Mill “Palto”.	35
3.4.5. Descripción del método.	35
3.5. Instrumentos y procedimientos de recolección de datos.	35
3.5.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de la especie <i>Persea americana</i> Mill “Palto”.	35
3.5.2. Procedimiento experimental para evaluar la actividad hipoglicemiante.	35
3.5.3. Estudio histopatológico del páncreas.	36
3.6. Análisis de datos.	36
IV. RESULTADOS.	37
V. DISCUSION.	48
VI. CONCLUSIONES.	50
VII. RECOMENDACIONES.	51
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	52
ANEXOS.	60

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadísticas descriptivas del nivel de glucosa sanguínea en ratones diabéticos inducidos con aloxano.	37
Tabla 2. Estadísticas descriptivas del efecto hipoglucemiante (Disminución porcentual de glucosa).	39
Tabla 3. Estadísticas descriptivas del nivel de glucosa sanguínea mg/dL en ratones normales.	44
Tabla 4. Pruebas de normalidad del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano según tratamiento.	64
Tabla 5. Prueba ANOVA del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano.	65
Tabla 6. Comparaciones múltiples diferencias mínimas significativas.	66
Tabla 7. Estadísticas descriptivas del peso de ratones diabéticos inducidos con aloxano.	67
Tabla 8. Prueba ANOVA del peso de ratones diabéticos inducidos con aloxano.	69
Tabla 9. Estadísticas descriptivas del efecto hipoglucemiante (disminución porcentual de glucosa) en ratones normales.	70
Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis del efecto hipoglucemiante (disminución porcentual de glucosa) en ratones normales por horas.	72
Tabla 11. Comparaciones múltiples Games-Howell efecto hipoglicemiante.	73

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Clasificación de la diabetes mellitus.	Pág. 12
---	-------------------

Figura 2. Criterios de diagnóstico de la diabetes según la OMS.	14
Figura 3. Esquema de la insulina.	16
Figura 4. Valores para un tratamiento farmacológico combinado inicial.	18
Figura 5. Combinaciones de terapias farmacológicas múltiples.	19
Figura 6. Mecanismo de acción de la metformina.	20
Figura 7. Mecanismo de acción de la glibenclamida.	21
Figura 8. Esquema de acción de los antidiabéticos orales.	22
Figura 9. Mecanismo de acción de los inhibidores de DPP-4.	23
Figura 10. Mecanismo de acción de Los agonistas del GLP-1.	24
Figura 11. Mecanismo de acción de Los inhibidores SGLT-2.	25
Figura 12. Mecanismo de acción de la insulina.	26
Figura 13. Anatomía e histología pancreática.	28
Figura 14. Glucómetro Accucheck Active.	30
Figura 15. Grupos blancos que recibieron tratamiento por vía intragástrica.	33
Figura 16. Grupos inducidos a hiperglucemia con Aloxano 150 mg/kg.	33
Figura 17. Promedio de glucosa sanguínea mg/dL en ratones con aloxano.	38
Figura 18. Efecto hipoglucemiante promedio en ratones con aloxano.	40
Figura 19. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 2h de iniciado el tratamiento.	41
Figura 20. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 14h de iniciado el tratamiento.	42
Figura 21. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 25h de iniciado el tratamiento.	43
Figura 22. Nivel promedio de glucosa sanguínea mg/dL en ratones normales	45
Figura 23. Microfotografías de páncreas de ratones en grupos blancos	46
Figura 24. Microfotografías de páncreas de ratones inducidos a hiperglucemia con aloxano a dosis de 150 mg/kg.	47
Figura 25. Peso promedio inicial y final de ratones diabéticos inducidos con aloxano según tratamiento.	68
Figura 26. Efecto hipoglucemiante % promedio en ratones normales.	71

INDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Clasificación taxonómica.	60
Anexo 2. Procesamiento de muestras taxonómicas.	61

Anexo 3. Operacionalización de varianza.

62

Anexo 4. Estadística de los resultados obtenidos

64

ABREVIATURAS

Dr: Doctor

Lic: Licenciado

Glucemia: Medida de concentración de glucosa libre en la sangre, suero o plasma sanguíneo.

mg: Miligramos

kg: Kilogramos

g: Gramos

DM: Diabetes mellitus

DM1: Diabetes mellitus tipo 1

DM2: Diabetes mellitus tipo 2

Hiperglucemia: Aumento del azúcar en sangre.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

msnm: Metros sobre el nivel del mar

dL: Decilitros

LDL: Colesterol malo o lipoproteínas de baja densidad.

HDL: Colesterol bueno o lipoproteínas de alta densidad.

ADA: Asociación Americana de Diabetes.

ALAD: Asociación Latinoamericana de Diabetes.

ATG: Alteración de la tolerancia a la glucosa.

AGA: Alteración de la glucosa en ayunas.

POTG: Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa.

DIURESIS: Excreción de orina.

NICTURIA: Diuresis nocturna.

HbA1c: Hemoglobina glicosilada

AMP: Adenosín monofosfato.

ATP: Adenosín trifosfato.

RCV: Riesgo cardiovascular.

FGe: Filtrado Glomerular.

mL: Mililitros.

DPP-4: Inhibidores de la dipeptidilpeptidasa tipo 4.

GLP-1: Glucagón like peptide-1.

GIP: Gastric inhibitory polypeptide.

mmHg: Milímetro de mercurio.

SGLT2: Inhibidores del cotransportador sodio-glucosa tipo 2.

IMC: Índice de masa corporal.

UI: Unidades Internacionales.

EHH: Estado hiperosmolar hiperglucémico.

CAD: Cetoacidosis diabética.

β: Beta.

α: Alfa

GAD65: Ácido glutámico descarboxilasa.

ICA-69: Antígeno de los islotes pancreáticos.

VIP: Polipéptido intestinal vasoactivo.

EC: Enterocromafines.

CNPB: Centro Nacional de Producción Biológicos.

NGS: Niveles de glucosa en sangre.

PP: Polipéptido pancreático.

RESUMEN

Los ácidos grasos insaturados presentes en la semilla de la especie estudiada son beneficiosos para la salud. Estos van a ayudar a reducir los niveles de glucemia en los pacientes

con diabetes. Los objetivos principales fueron determinar la actividad hipoglucemiante y evaluar la capacidad del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” para reducir el daño histológico en células β pancreáticas. La metodología para obtener el extracto etanólico fue mediante la recolección, troceado y secado de la semilla. La maceración etanólico se realizó por 7 días para luego secarlo y así obtener el extracto seco de la especie vegetal. Se utilizó el método Szkudelski (2001) la cual se basa en la inducción de la diabetes con aloxano y su evaluación hipoglucémica se realizó mediante tiras reactivas de marca accucheck active, una vez terminado se sacrificó a los animales y se realizó los cortes histológicos del páncreas para su estudio. Resultados. El extracto de la semilla presenta mayor solubilidad en agua. El tratamiento con la dosis de 200 mg/kg fue el que presento mayor efectividad en la disminución de la glucosa en sangre. Los cortes histológicos del páncreas muestran que el daño producido por aloxano fueron menores en las células pancreáticas de los ratones con el tratamiento del extracto de la especie en estudio. Conclusión: Se logró obtener el extracto etanólico de la semilla en estudio y se realizó la prueba de solubilidad siendo el agua el más adecuado. El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” aplicado en ratones presenta actividad hipoglicemiante en ratones mediante el método de Szkudelski y se determinó que el extracto de la semilla de la especie en estudio presenta capacidad para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

Palabras clave: Glucosa, *Persea americana*, actividad hipoglucémica, ácidos grasos, flavonoides.

ABSTRACT

The unsaturated fatty acids present in the seed of the species studied are beneficial for health. These will help reduce blood sugar levels in patients with diabetes. The main objectives were to determine the hypoglycemic activity and to evaluate the capacity of the ethanolic extract

of the seed of *Persea americana* Mill "Palto" to reduce the histological damage in pancreatic β cells. The methodology to obtain the ethanolic extract was through the collection, cutting and drying of the seed. The ethanolic maceration was carried out for 7 days and then dried to obtain the dry extract of the plant species. The szkudelski method (2001) was used, which is based on the induction of diabetes with aloxane, and its hypoglycemic evaluation was performed with accucheck active brand test strips. Once finished, the animals were sacrificed and the histological sections of the pancreas were made. For your study. Results The extract of the seed presents greater solubility in water. The treatment with the dose of 200 mg / kg was the one that presented greater effectiveness in the reduction of blood glucose. The histological sections of the pancreas show that the damage produced by alloxan was lower in the pancreatic cells of the mice with the treatment of the extract of the species under study. Conclusion: The ethanolic extract of the seed under study was obtained and the solubility test was carried out, with water being the most suitable. The ethanolic extract of the seed of *Persea americana* Mill "Palto" applied in mice shows hypoglycemic activity in mice by the Szkudelski method and it was determined that the seed extract of the species under study has the capacity to reduce the histological damage in pancreatic β cells.

Keywords: Glucose, *Persea americana*, hypoglycemic activity, fatty acids, flavonoids.

I. INTRODUCCION.

La diabetes es un trastorno metabólico que se desencadena cuando el páncreas no produce suficiente insulina.¹ La cual va provocar la elevación de la glucosa en sangre que es conocida como hiperglucemia esta es la característica principal de la diabetes. Estos trastornos metabólicos se caracterizan por la hiperglucemia crónica y trastornos del metabolismo de los carbohidratos, las grasas y las proteínas,² las cuales al no tratarse a tiempo va provocar daños en varios órganos del cuerpo y va llevar a complicaciones sanitarias discapacitantes y peligrosas para la supervivencia.³

Diversos organismos como la declaración de las Américas sobre la diabetes (DOTA), federación internacional de la diabetes (IDF), organización panamericana de la salud (OPS), asociación latinoamericana de diabetes (ALAD) y la organización mundial para la salud (OMS) indican que la diabetes mellitus es una enfermedad de primera importancia a nivel de salud pública en todo el mundo, debido que no es transmisible sin embargo es la más frecuente por la severidad y diversidad de sus complicaciones crónicas.⁴

Uno de los obstáculos en la medicación de la diabetes es la falta de acceso a insulina y demás fármacos a precios asequibles impidiendo el tratamiento adecuado lo cual conlleva a complicaciones innecesarias y muertes prematuras. Se tiene disponibilidad de insulina y de hipoglucemiantes orales de forma generalizada como la metformina y glibenclamida que es una minoría.⁵

La cantidad de personas con diabetes ha aumentado de 108 millones en 1980 a 422 millones en 2014. La prevalencia mundial de la diabetes en adultos (mayores de 18 años) ha ido aumentando del 4,7% en 1980 al 8,5% en 2014. Se estima que en el 2015 la diabetes fue la causa directa de 1,6 millones de muertes. Otros 2,2 millones de muertes fueron atribuibles a la hiperglucemia en 2012.⁵ Se calcula que este número va ir en aumento hasta 552 millones en el año 2030. Según federación internacional de diabetes (2017).⁶

La medicina tradicional hace referencia al conjunto de conocimientos, aptitudes y prácticas basadas en teorías, creencias y experiencias indígenas de las diferentes culturas las cuales pueden ser o no explicables todo ello con el fin de mantener la salud mediante la prevención, diagnóstico, mejora o tratamiento de diversas enfermedades físicas o mentales, estas medicinas abarcan hierbas, preparaciones herbarias que contengan partes

de la planta como en este caso la semilla para ayudar en la mejora de la hiperglucemia de la diabetes patología que se está dando actualmente, y es uno de los causantes de mortalidad y morbilidad en la población. Según Tomio Yamassaki F. (2010).⁷

El Palto cuyo nombre científico es *Persea americana* Mill. Es un árbol frutal el cual puede lograr alcanzar una altura de 12 metros y 14 metros de diámetro de copa, es nativo de la parte central de México y de algunas partes altas de Guatemala, esta especie pertenece a las familia laurácea, tiene un fruto llamado Palta, El fruto es de textura suave y es considerado como un producto perenne dado que se puede cultivar durante todo el año, sus principales usos tradicionales son : antibacterianos, controla los niveles de la glucosa, regula la presión sanguínea, refuerza el corazón y antihelmíntica.⁸

El fruto de la *Persea americana* Mill “Palto”, se caracteriza por el alto contenido de metabolitos como el ácido oleico el cual es el principal componente de la fracción lipídica con un 71% del total de ácidos grasos, fitoesteroles, carotenoides, vitaminas, flavonoides. Este fruto tiene una importancia económica y nutricional a nivel mundial debido que posee alto valor energético y bajo porcentaje de carbohidratos el aceite es lo que actualmente es usado en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética.⁹

Diversos estudios clínicos revelan que la especie *Persea americana* Mill “Palto” contribuye a disminuir los niveles de triglicéridos y de lipoproteínas de baja densidad, incrementa la biodisponibilidad de vitaminas liposolubles, mejora el tratamiento de la osteoartritis, ayuda en la prevención de la falla renal por el consumo de medicamentos, tratamientos de cardiopatías y la falta de apetito.⁸

El Perú, actualmente se ubica en el 6^{to} lugar del ranking mundial de países con mayores áreas cosechadas de Palta (20 mil hectáreas). En el 2015, los principales destino de las exportaciones peruanas de Palta fueron: Holanda y Estados Unidos que captaron el 65% del total de nuestros envíos. Sin embargo nuestros envíos llegan a un total de 20 países.¹⁰ Por ello esta tesis se realizó con muestras de la semilla de la especie de *Persea americana* Mill “Palto”, ubicada en el departamento Lima, provincia Huarochirí, distrito de San Mateo de Otao, anexo San Francisco de Puruhuay que se encuentra a 1252 msnm teniendo como objetivos determinar la actividad hipoglucemiante y evaluar la capacidad del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

1.1. Situación problemática.

La proporción creciente de la diabetes mellitus (DM) a nivel mundial ha llevado a una situación en que aproximadamente 360 millones de personas tenían DM en 2011 y de ellas, más del 95% tendrían DM tipo 2 (DM2). Se calcula que este número va a aumentar hasta 552 millones en el año 2030 y que alrededor de la mitad de ellos desconocerán su diagnóstico. Según federación Internacional de diabetes (2011).⁶ La hiperglucemia es el principal signo de la diabetes, la cual provoca daños en diversos órganos, sistema nervioso y vasos sanguíneos. Los fármacos como la insulina e hipoglucémicos orales son inaccesibles para toda las personas por su alto costo y en los centros médicos son escasos y solo tenemos la glibenclamida y metformina. La especie *Persea americana* Mill “Palto” se cultiva en grandes cantidades en nuestro país y estos son exportados a otros países debido a su alto valor nutricional, estos productos naturales sería una alternativa adecuada para aportar en la disminución de estos porcentajes de morbilidad y mortalidad.

1.2. Formulación del problema.

¿El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” Tendrá actividad hipoglucemiante y podrá reducir el daño histológico en las células β pancreáticas?

1.3. Justificación.

El uso de medicinas alternativas hoy en día es una buena opción para la ayuda con el tratamiento, recuperación, diagnóstico y cura de los pacientes debido que no presenta efectos adversos como los fármacos, el fruto de la especie *Persea americana* Mill “Palto” es altamente comercializada en los hogares de todo nivel social debido al bajo costo y por su alto valor nutricional. Según proyecciones de la OMS, la diabetes será la séptima causa de mortalidad en el 2030.⁵ La presente tesis, de tipo experimental tiene como principal aporte contribuir con la mejora de los tratamientos de la hiperglucemia en pacientes con diabetes, utilizando como alternativa el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto”, también se desea ampliar el conocimiento de la capacidad del extracto para poder reducir daños histológicos en las células β pancreáticas.

1.4. Objetivos.

1.4.1. Objetivo general:

Determinar la actividad hipoglucemiante y evaluar la capacidad del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

1.4.2. Objetivos específicos:

1. Obtener el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” y realizar la prueba de solubilidad.
2. Evaluar la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en ratones mediante el método de Szkudelski.
3. Determinar la capacidad del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

1.5. Variables.

1.5.1. Variable dependiente.

- Actividad hipoglucemiante y capacidad del extracto para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

1.5.2. Variable Independiente.

- Extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto”.

1.6. Hipótesis.

1. El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” presenta efectos hipoglucémicos en los ratones.
2. El extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” tiene la capacidad para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

1.7. Límites de la investigación.

Nuestra investigación se limita por la escasas de referencias específicamente de la actividad hipoglicemiante en la especie ya que esta tiene estudios clínicos y preclínicos pero con otras actividades.

II. MARCO TEORICO.

2.1. Antecedentes de la investigación.

2.1.1. Antecedentes internacionales.

Torrigo M, Ramos K, Morales A, *et al*, Venezuela (2013).¹¹ Evaluación de la toxicidad aguda, actividad analgésica e hipoglicemiante del extracto acuoso de *Croton pungens* en animales experimentales. **Objetivos:** Evaluar la toxicidad aguda del extracto acuoso de *Croton pungens*, evaluar la actividad antinociceptiva e hipoglicemiante y verificar la seguridad de utilizar dicha especie como terapia alternativa. **Metodología:** Se utilizó dosis de 0.51 g/kg del extracto acuoso de *Croton pungens* en frecuencia de tiempo de 10, 30, 60, 90 minutos y a las 24 horas por vía oral para la evaluación de la toxicidad. Los animales de experimentación para la evaluación hipoglicémico se dividieron en 4 grupos: Grupo I: Ratones sanos, solo agua por 13 días; Grupo II: Ratones inducidos con aloxano; Grupo III: Ratones sanos tratados con *Croton pungens* por 10 días y Grupo IV: Ratones inducidos con aloxano junto con ½ DT50 de *Croton pungens* por 10 días. Finalizado el tratamiento se extrajo diferentes tejidos para su análisis histológico. **Resultados:** Los niveles de glucemia disminuyeron significativamente luego de los 10 días de tratamiento ya que al compararlos con los valores de post aloxano ($p < 0,01$), los niveles de colesterol no tuvieron diferencias significativas. **Conclusiones:** El extracto acuoso de las hojas de *Croton pungens* a dosis de 0,51 g/kg, administrado por vía oral, no genera efectos tóxicos agudos en órganos blandos, no posee actividad antinociceptiva pero sí presenta actividad hipoglicemiante ($p < 0,01$) en la hiperglucemia inducida por aloxano a dosis de 400 mg/kg por vía intraperitoneal.

Lemus M, Ramos Y, Liscano A, *et al*. Venezuela (2013).¹² Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de *Phyllanthus niruri* (Chancapiedra), en ratas diabéticas. **Objetivo:** Evaluar el efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de la planta sobre los parámetros químico-sanguíneos. **Metodología:** Se utilizaron ratas machos de la especie *Rattus norvegicus* (cepa Sprague Dawley) de 6 semanas de edad, divididas en 5 grupos: normal con agua (NA: control), normal con extracto (NE), diabetes con agua (DA), diabetes con extracto (DE) y diabetes con insulina (DI). Para inducir la condición diabética las ratas fueron tratadas con una inyección intraperitoneal de aloxano de 100 mg/kg. El extracto de la planta fue suministrado a una dosis diaria de 200 mg/kg, durante 45 días. **Resultados:** Los componentes fitoquímicos de la planta en el extracto acuoso produjeron

una disminución de los niveles de glicemia durante el periodo de tratamiento similar a las ratas tratadas con insulina. También se determinó una disminución de triglicéridos y colesterol en ratas diabéticas durante los primeros 30 días, en relación a las ratas diabéticas no tratadas. **Conclusión:** El extracto acuoso de *Phyllanthus niruri* (Chancapiedra) en dosis de 200 mg/kg, administrados por vía oral, presenta efecto hipoglicemiante en ratas con hiperglucemia inducida con aloxano en dosis de 100 mg/kg administradas.

Cárdenas E. Chile (2008).¹³ Química y evaluación del efecto hipoglicemiante de própolis en ratones diabéticos inducidos con aloxano. **Objetivos:** Caracterizar químicamente própolis del Sur de Chile, determinar su capacidad atrapadora de radicales libres y evaluar su efecto sobre los niveles sanguíneos de glucosa en ratones normoglicémicos y en ratones diabéticos inducidos con aloxano. **Metodología:** Se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para el análisis del extracto crudo de própolis y la fracción diclorometano. Para la inducción a hiperglucemia se utilizó aloxano en dosis de 250 mg/kg. El tratamiento se realizó con el extracto etanólico a dosis de 100 y 200 mg/kg por vía intragástrica por 8 semanas. La medida de la glicemia se realizó semanalmente. **Resultados:** El radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) presente en el extracto de própolis es la que otorga la actividad antioxidante. Los flavonoides aislados por la fracción diclorometano fueron pinocembrina, pinobanksina, crisina y galangina. Los animales de experimentación inducidos con aloxano a dosis de 250 mg/kg fueron tratados con extracto de própolis en dosis de 100 y 200 mg/kg el cual pasaron de la hiperglicemia ($p=0,0008$ y $p=0,0012$) a valores de glicemia semejante al grupo control ($p=0,4630$ y $p=0,0786$). El análisis histopatológico al riñón revela que el extracto de própolis administrado en dosis de 100 y 200 mg/kg fue capaz de mejorar el daño tubular agudo en ratones inducidos a diabetes. **Conclusiones:** La caracterización química del própolis del Sur de Chile identificó flavonoides, pinocembrina, pinobanksina, crisina y galangina. Se determinó la capacidad antioxidante del própolis en el test de DPPH demostrando que es un antioxidante natural. El extracto de própolis en dosis de presentan actividad hipoglicemiante ($p=0,4630$ y $p=0,0786$) en ratones hiperglicémicos inducidos con aloxano en dosis de 250 mg/kg.

2.1.2 Antecedentes Nacionales:

Giraldo L. (2014).¹⁴ Efecto del extracto etanólico del fruto de *physalis peruviana* “aguaymanto” sobre la glucemia en animales de experimentación. **Objetivo:** Demostrar el efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de frutos de *Physalis peruviana* “Aguaymanto”. **Metodología:** Los animales de experimentación fueron aclimatados por 2 semanas para luego dividirlos en 7 grupos al azar (Normal, aloxano, aloxano y glibenclamida, Insulina y tres concentraciones de extracto); se indujo a hiperglicemia con aloxano a dosis de 130 mg/kg y sobre carga de glucosa hasta obtener un nivel de glucosa > 250 mg/dL para poder realizar el procedimiento experimental y al final realizar los cortes histopatológicos del páncreas para el respectivo estudio. **Resultados:** Las 3 concentraciones del extracto de *Physalis peruviana* “Aguaymanto” en dosis de 200, 400 y 600 mg/kg presentan efecto hipoglicemiante llegando a disminuir hasta en 41.5% la glucemia en ratas con sobre carga de glucosa. A las 2 horas del tratamiento con el extracto a 600 mg/kg presenta disminución de 4,38% de la hiperglicemia, mediante el estudio histológico se observó daño menor del páncreas en el grupo con aloxano. **Conclusión:** El extracto etanólico de frutos de *Physalis peruviana* “Aguaymanto” demostró poseer actividad hipoglicemiante en dosis de 200, 400 y 600 mg/kg en ratas con sobre carga de glucosa y aloxanizadas en dosis de 130 mg/kg por vía intragástrica.

Justil C, Angulo P, Justil H. (2014).¹⁵ Evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Aloaxano. **Objetivo:** Evaluar la eficacia reductora de la glicemia plasmática del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* en ratas con diabetes inducida por aloxano. **Metodología:** Se usaron 30 ratas machos de tres meses de edad, cepa Sprague Dawley con peso de 240 ± 10 g. Los animales fueron distribuidos en seis grupos (control negativo, control positivo, tratados con tres dosis del extracto acuoso 100, 250 y 500 mg/kg y tratados con glibenclamida 10 mg/kg). La diabetes fue inducida por inyección intraperitoneal de aloxano (100 mg/kg). Los niveles de glucosa en sangre fueron determinados usando un glucómetro electrónico (AccuChek Active). **Resultados:** La glibenclamida y los extracto acuoso de *Abuta grandifolia* en dosis de 100 y 250 mg/kg tuvieron efecto hipoglicemiante; sin embargo, la dosis de 250 mg/kg tuvo mejor efecto a partir de las 6 horas y hasta las 72 horas de su administración. **Conclusión:** El extracto acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en dosis oral de 250 mg/kg disminuye la glicemia ($p < 0,05$) en ratas con diabetes inducida por aloxano en dosis de 100mg/kg por vía intragástrica.

Rengifo P. (2014).¹⁶Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. **Objetivo:** Caracterizar al aceite de la semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte y medir su actividad antioxidante. **Metodología:** El aceite obtenido por el método de Soxhlet se le caracterizó sus propiedades físicas químicas usando las normas AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite) y el análisis químico de contenido de fitoconstituyentes a través de un tamizaje fitoquímico y el perfil ácidos grasos mediante el método cromatográfico de gases. **Resultado:** La caracterización fisicoquímica reportó valores promedios y desviación estándar de $2,12\pm 0,015$; $1,40\pm 0,047$; $242,30\pm 5,449$; $70,62\pm 0,04$ y $0,919\pm 0,024$ para índice de acidez, índice de peróxido, índice de saponificación, índice de iodo y gravedad específica, respectivamente; con una significación $p < 0,05$; se identificaron triterpenos, quinonas y trazas de lactonas, flavonoides, aminoácidos y compuestos fenólicos. El perfil de ácidos grasos permitió identificar dos ácidos grasos esenciales: ácido linoleico (48,77%) y ácido linoleico (12,17%), omega-6 y omega-3, respectivamente. Finalmente, se determinó la actividad antioxidante mediante el método de DPPH (α , α -difeníl- β -picrilhidrazilo) encontrándose una actividad antioxidante total del aceite de $9,676\pm 0,260$ $\mu\text{mol TE/kg}$. Mientras la fracción saponificable tuvo una actividad antioxidante de $8,700\pm 0,26$ $\mu\text{mol TE/kg}$; y la no saponificable fue de $7,37\pm 0,169$ $\mu\text{mol TE/kg}$. **Conclusiones:** La caracterización fisicoquímica del aceite de semilla se *Persea americana* Mill. Var. Hass, mediante los parámetros de la AOCS (Sociedad Americana de la Química del Aceite), demostró que la calidad del aceite extraído es comparable a la calidad del aceite de oliva extra virgen. Asimismo el tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de la semilla permitió identificar: triterpenos y esteroides en cantidad abundante, quinonas en cantidad moderada y trazas de lactonas, flavonoides, aminoácidos y compuestos fenólicos y la actividad antioxidante total del aceite de semilla de *Persea americana* Mill. Var. Hass fuerte demostró ser muy elevada cuando se evaluó con el radical hidrofílico DPPH. Asimismo se comprobó que la actividad antioxidante total del aceite que alcanzó valores equivalentes al mostrado por el patrón de Vitamina E (α -Tocoferol).

2.2. Bases teóricas.

2.2.1. *Persea americana* Mill “Palto”.

2.2.1.1. Historia de la especie *Persea americana* Mill “Palto”.

El fruto de la especie *Persea americana* Mill “Palto” tiene unos 7000 a 8000 años de antigüedad las evidencias muestran que México es el país de origen exactamente en Coaxcatlan. Los tipos principales son aoácatl, quilaoácatl y tlacacoloácatl especies más conocidas en México, Guatemala y Antillas. Otras bibliografías indican la importancia del cucata nombre totonaca del aguacate el cual representa un jeroglífico que indicaba el pueblo de Ahuacatlán. El nombre de esta especie era tan conocida que ahora existen lugares ligados al nombre de la especie en estudio como Ahuacatenango, Chiapas, “en el recinto de los aguatecas”, Ahuacatepec, Veracruz o Aguacatitlán, Guerrero, Jalisco y estado de México, lugar de los aguacates. En 1600 el árbol de *Persea americana* Mill fue introducida a España desde ahí se diseminó a todo el mundo donde las condiciones eran las más idóneas para su desarrollo como Cuba en 1700, Brasil en 1809, África en 1870, India en 1892, Nueva Zelanda en 1910 y a Israel en 1931.¹⁷

Nuestro trabajo de investigación se tomó la muestra de especie *Persea americana* Mill “Palto” del anexo de San Francisco de Puruhuay, distrito de San Mateo de Otao que se encuentra en la provincia de Huarochirí, Departamento de Lima. A la comunidad se ingresa por Cupiche, antiguo tambo inca que permitía el ingreso a la quebrada, y al que hora se accede por un puente carrozable a la altura del kilómetro 44,5 de la carretera central, cerca de la estación de control de Corcona situado a 1500 msnm. El tambo Cupiche es un lugar conocido a través de las fuentes históricas debido que fue un importante punto en la ruta de comunicación entre los valles de la costa y sierra central, es de aquí donde se dirigían hacia el Noroeste del Perú.¹⁸

2.2.1.2. Descripción botánica del palto.

El Palto cuyo nombre científico es *Persea americana* Mill. Este árbol frutal puede lograr alcanzar una altura de 12 metros y 14 metros de diámetro de copa, especie perteneciente a las familias lauráceas.¹⁶ Produce un fruto conocido como aguacate o palta cuyo nombre deriva del náhuatl Ahuácatl, que significa testículo. El fruto es de textura suave y es considerado como un producto perenne debido que se puede cultivar todo año.¹⁸

2.2.1.3. Clases de Palta.

La clasificación más importante es¹⁹:

1. **HASS:** Este tipo de Palta proviene de la mezcla de diferentes variedades de Paltas desarrolladas por Rudolph Hass, es una de las más comercializadas mundialmente, se caracteriza por tener piel gruesa y rugosa, presenta mayor facilidad para su pelado, su peso oscila entre 170 g a 350 g y el porcentaje de aceites es de 23,7%.
2. **FUERTE:** Este tipo de Palta es originaria de Puebla-México, se caracteriza por presentar la cascara gruesa y ligeramente áspera. Es peso promedio de esta variedad es 300 g y el porcentaje de aceite varía entre 18% - 26%.
3. **BACON:** Este tipo de Palta es originaria de California fue estudiada por James Bacon. Se caracteriza por tener su cascara de color verde oscuro, delgada y lisa y su fruto puede pesar entre 198 g a 340 g.

2.2.1.4. Clasificación botánica de *Persea americana* Mill "Palto".²⁰

Según el sistema de clasificación de Cronquist (1988), la especie estudiada ha sido clasificada en el museo de historia natural, de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos como *Persea americana* Mill "Palto" ver anexo 1.

2.2.1.5. Beneficios de la Palta.

Por su alto contenido de potasio, magnesio, hidratos de carbono, grasas, proteínas, vitaminas(A, C, D, B6 y E), fibras, agua y minerales es considerada un fruto con alto valor nutricional. La mayoría de las partes de esta planta frutal ha sido investigada, con mayor realce los aceites esenciales, el aceite fijo, las hojas y frutos en especial la pulpa por sus magníficas cualidades alimenticias y la calidad de su aceite fijo además del epicarpio y la semilla, detallamos algunas propiedades⁸:

1. **Antibacterianos:** El aceite esencial presenta propiedades antibacterianas.
2. **Controla los niveles de colesterol:** Reduce los niveles de colesterol malo (LDL) ocasionando el aumento del colesterol bueno (HDL) con lo que evitaremos riesgo de enfermedades cardiovasculares y mantiene el índice de masa muscular. Además el ácido oleico monoinsaturado controla los niveles de colesterol en el cuerpo.

3. **Regula la presión sanguínea:** La Palta por contener altos niveles de potasio el cual ayuda a regular la presión sanguínea del cuerpo evitando que estos pacientes sean menos propensas a sufrir un ataque cardiaco, un paro o enfermedades que afectan los riñones.
4. **Refuerza el corazón:** Este fruto por su alto contenido de vitamina B6 ayuda la regulación de los niveles de homocisteína y así evita las enfermedades relacionadas al corazón, también gracias a poseer glutatión y grasas monosaturadas que van a permitir mantener al corazón saludable.
5. **Otros usos:** La corteza es utilizado por sus propiedades vermífugas, la semilla como antihelmínticos. Anteriormente la semilla era empleada como tinta indeleble para marcar la ropa.

2.2.2. Diabetes mellitus.

La diabetes mellitus (DM) etimológicamente significa dulzura o miel (mellitus) que pasa a través (diabetes), es un conjunto de trastornos metabólicos la cual se produce porque el páncreas no produce la hormona insulina o la cantidad que produce no está siendo utilizada eficazmente.²¹ La insulina es la encargada de regular el azúcar en la sangre. Esta hormona tan esencial es secretada por las células beta de los islotes de Langerhans del páncreas endocrino, la cual va repercutir en el metabolismo de lípidos, proteínas y carbohidratos.⁵

2.2.2.1. Tipos de diabetes.

Esta clasificación se basa en su etiología y características fisiopatológicas, y es propuesta por la Asociación Americana de Diabetes (ADA), por el comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y acogida por la Asociación Latinoamericana de Diabetes (ALAD).²² (Ver figura 1)

CLASIFICACION DE LA DIABETES MELLITUS

1. Diabetes mellitus tipo 1
 - A. Autoinmune
 - B. Idiopática
 2. Diabetes mellitus tipo 2
 1. Predomina la resistencia a la insulina sobre los defectos relativos en la secreción de la hormona.
 2. Predominan los defectos en la secreción de insulina frente a la presencia de resistencia a la insulina.
 3. Otros tipos específicos de diabetes mellitus
 - A. Defectos genéticos de la función de la célula β .
 1. Cromosoma 12 HNF-1 α (MODY 3)
 2. Cromosoma 7, glucocinasa (MODY 1)
 3. Cromosoma 20. HNF-4 α (MODY 1)
 4. ADN mitocondrial
 5. Otros
 - B. Defectos genéticos en la acción de la insulina
 1. Resistencia a la insulina tipo A.
 2. Leprechaunismo
 3. Síndrome de Rabson- Mendenhall
 4. Diabetes lipoatrófica
 5. Otros
 - C. Enfermedades del páncreas exocrino
 1. Pancreatitis
 2. Pancreatectomía/ traumatismo
 3. Neoplasia
 4. Fibrosis quística
 5. Hemocromatosis
 6. Pancreatopatía fibrocalculosa
 7. Otros
 - D. Endocrinopatías
 1. Acromegalia
 2. Síndrome de Cushing
 3. Glucagonoma
 4. Feocromocitoma
 5. Hipertiroidismo
 6. Somatostatina
 7. Aldosteronoma
 8. Otros
 - E. Inducidas por fármacos o sustancias químicas
 1. Vacor
 2. Pentamidina
 3. Acido nicotínico
 4. Glucocorticoides
 5. Hormonas tiroideas
 6. Diazóxido
 7. Agonistas β adrenérgicos
 8. Tiazidas
 9. Dilantín
 10. Interferon α)
 11. Otros
 - F. Infecciones
 1. Rubéola congénita
 2. Citomegalovirus
 3. Otros
 - G. Formas infrecuentes de diabetes autoinmunes
 1. Síndrome del hombre rígido (stiff man syndrome)
 2. Anticuerpos contra el receptor de la insulina
 3. Otros
 - H. Otros síndromes en ocasiones asociados a diabetes.
 1. Síndrome de Down
 2. Síndrome de Klinefelter
 3. Síndrome de Turner
 4. Síndrome de Wolfram
 5. Ataxia de Friedreich
 6. Corea de Huntington
 7. Síndrome de Laurence – Moon – Biedl
 8. Distrofia miotónica
 9. Porfiria
 10. Síndrome de Prader- Willi
 11. Otros
4. Diabetes mellitus gestacional

Figura 1. Clasificación de la diabetes mellitus.²²

1. Diabetes mellitus tipo 1 (DM1).

Esta es causa de la reacción autoinmune, el sistema de defensa del cuerpo ataca las células productoras de insulina en el páncreas (células β productoras) el cual va dar como resultado que el cuerpo no logre producir la insulina que necesite.²³ Esta enfermedad se presenta en forma brusca y en mayor frecuencia en niños y jóvenes. Los pacientes con este tipo de diabetes necesitan insulina todo los días para controlar la glucosa (azúcar) en sangre, ya que sin la insulina una persona con esta enfermedad podría aumentar los valores de glucemia hasta llegar a la hiperglucemia. En la clasificación actual este tipo de diabetes se divide en: DM1 A o autoinmune y DM1 B o ideopatica.²¹

a. DM1 A o autoinmune: Es una patología inmune inflamatoria crónica debida que existe una destrucción selectiva de las células betas del páncreas la cual esta mediada por linfocitos T activado. En ella, y tras un periodo pre clínico de duración variable, en el que el paciente no presentara síntomas, cuando la masa de las células productoras de insulina llega a su valor critico el paciente comenzara a sentir síntomas generados por la insulinopenia y la hiperglucemia y una irrefrenable tendencia a la cetosis si no se comienza con el tratamiento con insulina exógena. Como la mayoría de las patologías autoinmunes, el proceso resulta de la interacción de factores ambientales y genéticos. Este tipo de diabetes lo padece 1 de cada 10 pacientes, los paciente de 10-12 años son los más vulnerables a presentarlos, aunque la mitad de estos pacientes son mayores de 15 años.²¹

b. DM1 B o idiopática: Este tipo de diabetes no fue tan investigada su etiología, evolución y pronóstico, se caracteriza por que los pacientes con insulinopenia inicial, tendencia a la cetosis o cetoacidosis, es importante señalar que la insulinopenia puede ser fluctuante a lo largo de la patología, pero puede tener un carácter fulminante.²¹

2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2):

El 90% de los casos de diabetes representa al tipo de diabetes tipo 2. En la diabetes tipo 2, el signo principal es la hiperglucemia la cual se debe a la incapacidad del organismo en producir insulina por ello se le considera como pacientes con resistencia a la insulina.⁵ Por ello se debe incrementar la insulina con el objetivo de disminuir la glucosa en sangre. Este tipo de diabetes tiene mayores incidencias en adultos mayores, pero con una tasa de incidencias en niños, adolescentes y jóvenes en crecimiento de una forma rápida debido a los altos niveles de obesidad, a la falta de actividad física y la mala alimentación.²⁴

3. Diabetes gestacional.

Este tipo de diabetes se da en el embarazo donde los valores de la hiperglucemia son mayores a los normales en este tipo de pacientes pero no supera los niveles de glucosa para el diagnóstico de diabetes en una persona sana. Los pacientes tienden a tener mayores complicaciones durante el embarazo y el parto, las pruebas prenatales sirven de mucho para diagnosticar a tiempo ya que las pacientes y sus futuros hijos tendrían el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2 en el futuro.⁵

4. Otros tipos de diabetes específicas.

Se tiene en un listado de los tipos de diabetes que tienen una causa conocida, la cual va seguir aumentando según incrementen las investigaciones.

- a. Defectos genéticos de la función de la célula beta y la acción de la insulina.
- b. Enfermedades del páncreas exocrino.
- c. Endocrinopatías.
- d. Drogas.
- e. Infecciones.
- f. Formas no comunes de diabetes mediada por fenómenos inmunes.
- g. Otros síndromes genéticos.

En general, el riesgo de muerte de los diabéticos es el doble de los no diabéticos.²⁵

2.2.2.2. Criterios de diagnósticos de la diabetes.

Al cumplirse 1 o más de los siguientes criterios se debe diagnosticar la diabetes	Al cumplirse los 2 siguientes criterios se debe diagnosticarse como alteración de la tolerancia a la glucosa.	Al cumplirse ambos criterios se debe diagnosticar alteración de glucemia en ayunas.
Glucosa en plasma en ayunas > 7,0mmol/ L (126 mg/dL)	La glucosa en plasma en ayunas < 7,0 mmol/L (126 mg/dL)	La glucosa en plasma en ayunas 6,1 – 6,9 mmol/L (110 – 125 mg/dL)
Glucosa en plasma tras dos horas de ingerir por vía oral una carga de glucosa de 75g.	La glucosa en plasma tras dos horas de ingerir por vía oral una carga de glucosa de 75g <7,8 – 11,1 mmol/L (140-200 mg/dL)	La glucosa en plasma tras dos horas de haber ingerido por vía oral una carga de glucosa de 75g < 7,8 mmol/L (140 mg/dL)
El nivel de glucosa al azar > 11,1 mmol/L (200mg/dL) o la HbA1c > 48 mmol/mol (equivalente a 6,5 %)		

Figura 2. Criterios de diagnóstico de la Diabetes según la Organización Mundial de la Salud (OMS).⁵

2.2.2.3. Síntomas de diabetes mellitus (DM).

1. **Poliuria:** Es el aumento exagerado de la diuresis, cuando la hiperglucemia supera el dintel renal para la glucosa (≈ 180 mg/dL), aparece la glucosuria que puede ocasionar altas pérdidas de glucosa a través de la orina. Se produce una importante diuresis osmótica (3-4 l/día), con eliminación excesiva de orina de elevada densidad durante el día.²¹
2. **Polidipsia:** Es el aumento de sed el cual es un mecanismo para compensar la poliuria y así poder evitar la deshidratación. Puede ser que la intensidad de la poliuria y la polidipsia varíen en relación con el nivel de glucemia, por consecuencia de variaciones en el dintel renal para la glucosa, el cual puede aumentar por la edad.²¹
3. **Polifagia:** Es el aumento del apetito, es el reflejo del "hambre" por glucosa que tienen las células e indica el ineficiente ingreso de esta glucosa en los diferentes tejidos. Además, la glucosuria que es una pérdida de "energía calórica" en forma de glucosa a través de la orina, que es necesario compensar.²¹
4. **Astenia:** Es el cansancio producto de la alteración del metabolismo de la glucosa a nivel de las células musculares. El agotamiento de la persona diabética se debe a la falta de "energía glucosa" en el tejido muscular, la deficiencia de las proteínas y de las grasas y disminución del glucógeno en hígado y músculo.²¹
5. **Pérdida de peso:** El adelgazamiento es la consecuencia de la pérdida de energía debido a la glucosuria. La pérdida de peso del paciente diabético se debe a las manifestaciones de la falta del efecto anabólico de la insulina en los tejidos como la disminución de la lipogénesis y el aumento de la lipólisis en el tejido adiposo, la proteólisis aumentada y la disminución de la síntesis de proteínas.²¹

2.2.2.4. Tratamiento de la diabetes mellitus.

1. Tratamiento no farmacológico.

Los pacientes que recién sean diagnosticados con diabetes y no presenten síntomas y estén estables deben iniciar solamente con cambios en los estilos de vida previos al inicio de tratamiento farmacológico por un periodo de 3 a 4 meses; luego de este periodo, si los niveles de glucemia alcanzan los valores normales, continuará con cambios de estilos de vida y los controles se realizarán cada 3 a 6 meses. De lo contrario iniciará tratamiento farmacológico.²⁶

2. Tratamiento farmacológico de la DM 1.

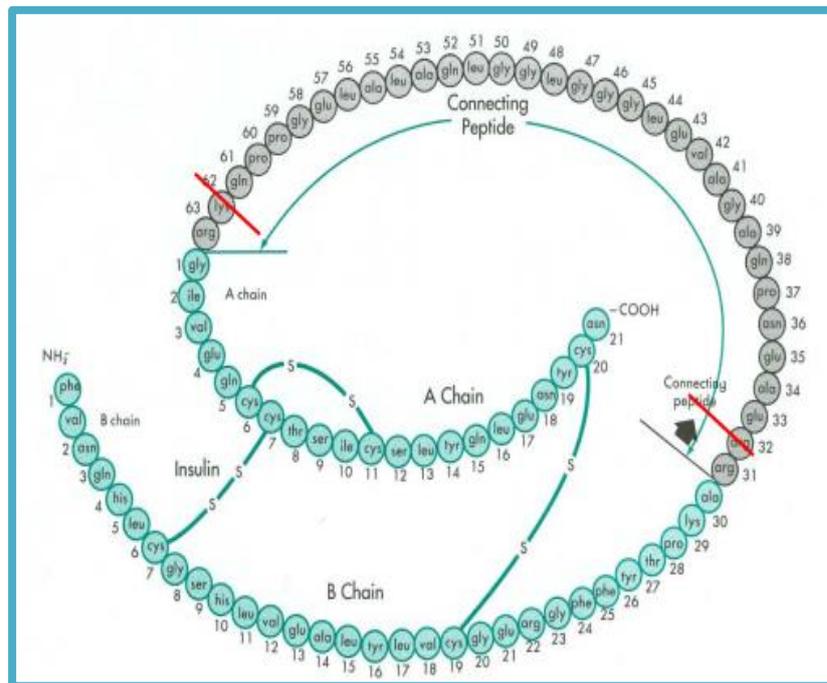


Figura 3. Esquema de la insulina, el péptido C está representado desde los aminoácidos con color negro.²⁷

Las células β pancreáticas sintetizan el polipéptido de 51 aminoácidos (5,8 kD) el cual es la insulina. Este polipéptido presenta 2 cadenas (A: 21 aminoácidos y B: 30 aminoácidos) las cuales se encuentran unidas mediante puentes de disulfuro. La cadena A presenta otro puente disulfuro entre los aminoácidos 6 y 11.

3. Tratamiento farmacológico de la DM 2.

Los tratamientos para la DM 2 deben ser individualizados para el correcto tratamiento. Los nuevos fármacos investigados presentan grandes ventajas para el tratamiento uno de ellos es la reducción de las reacciones adversas (hipoglucemia y aumento de peso) debido que presentan nuevos mecanismos de acción lo cual va ayudar reducir la glucemia sin provocar daño futuro al paciente. La función renal y las respuestas neuroreguladoras son algunas funciones que se evalúan para considerar la efectividad de un fármaco. Los grupos farmacológicos buscan cada vez disminuir las reacciones adversas sin embargo algunos no logran disminuir la totalidad de ellas sin embargo los efectos favorables son más beneficiosas que las anteriores a su tipo el uso concomitante con otros grupos farmacológicos favorecen la disminución de la presión arterial, volumen extravascular y glucemia. Hoy en día existen terapias hasta de 3 y 4 agentes en las cuales

están incluidas los diuréticos, antihipertensivos, insulina e hipoglicemiante. Por ello el tratamiento farmacológico de la diabetes es muy compleja.²⁸

4. Tratamiento inicial y combinaciones iniciales.

El adecuado estilo de vida de los pacientes con diabetes va tener como objetivo principal mantener el control de (HbA1c <6,5%),²⁸ aun este objetivo no es seguro ya que existe un alto grado de adherencias a las recomendaciones por parte de los pacientes. Por ello que la sociedad española de diabetes aconseja el uso de metformina desde el inicio del tratamiento en los pacientes.²⁹ Indica que la metformina debe indicarse antes de los 3 meses de no haber podido controlar los niveles de glicemia en sangre. Las alteraciones del mecanismo de los órganos diversos en los pacientes son debido a la fisiopatología de la diabetes.³⁰ El uso concomitante de 2 a más fármacos pueden un obstáculo para la identificación del causante del efecto secundario presentado por el paciente por ello se recomienda en tratamiento inicial debe ser monoterapia. Sin embargo la necesidad del paciente exige se den tratamiento farmacológicos combinados los cuales van a tener que ser evaluados según criterios desde el diagnostico utilizando puntos de HbA1c de forma consensuada. Estos criterios servirán para valorar el uso del tratamiento farmacológicos combinados desde el inicio del tratamiento para el bienestar del paciente sin dejar de la lado el cuidado de las reacciones adversas que podría presentar (Ver figura 4).²⁸

1. HbA1c > 8,5%.
2. HbA1c > 8,5% en paciente sintomático. Se recomienda usar el tratamiento oral conjuntamente con la insulina, el tratamiento podrá ser suspendido al evaluar la mejoría del control de la glicemia y la situación clínica.

Hoy en día existen múltiples tratamientos combinados como se puede visualizar en la figura 6, de las cuales tenemos disponibilidad en un solo comprimido de uso oral hasta en las presentaciones de inyectables esto se basa según los criterios clínicos y las diversas características las cuales resulten adecuadas para el tratamiento del paciente y lo más importante que este tratamiento debe ser insustituible hasta que el criterio clínico lo indique.²⁸ (Ver figura 5).

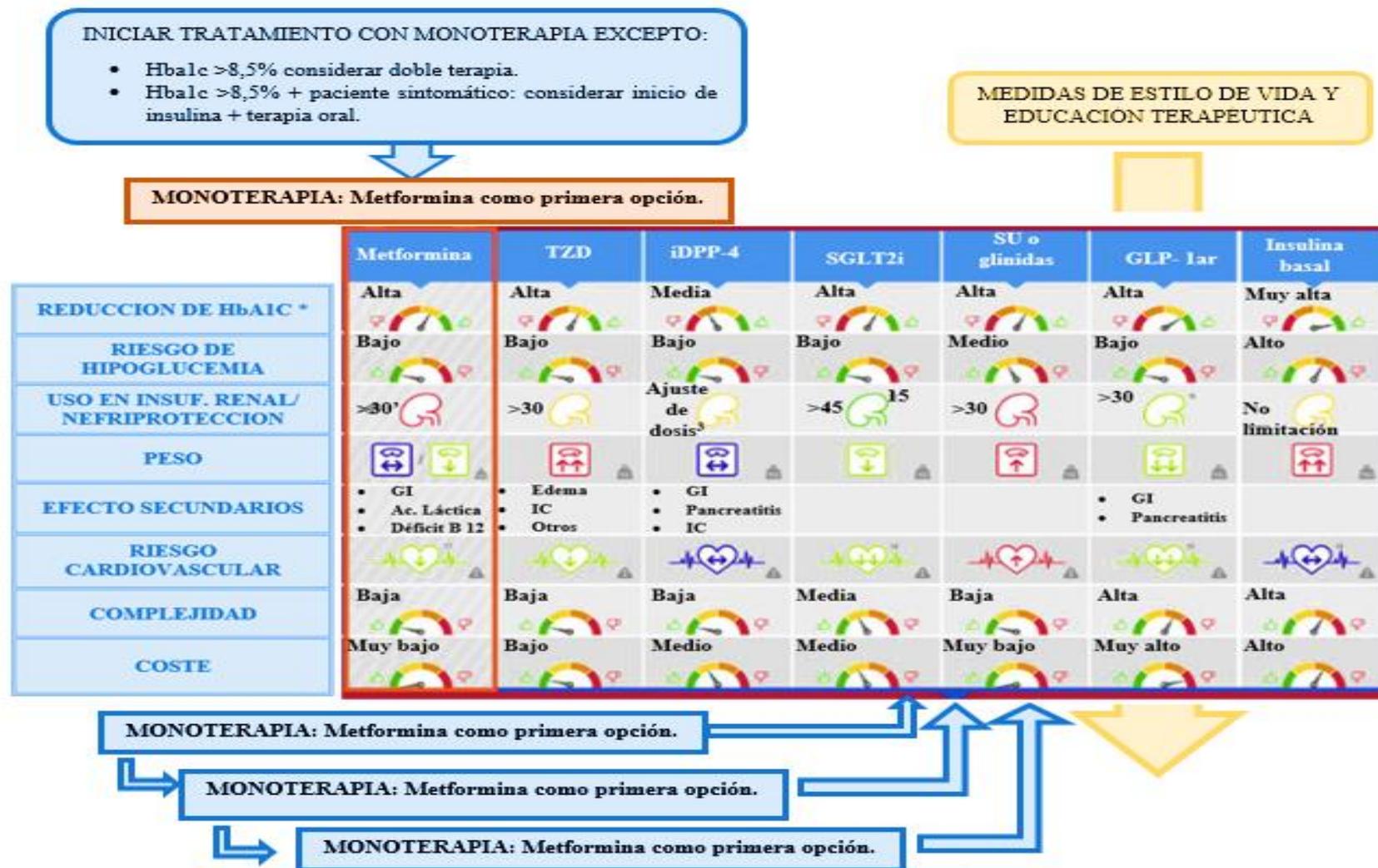


Figura 4. Valores para un tratamiento farmacológico combinado inicial.²⁸

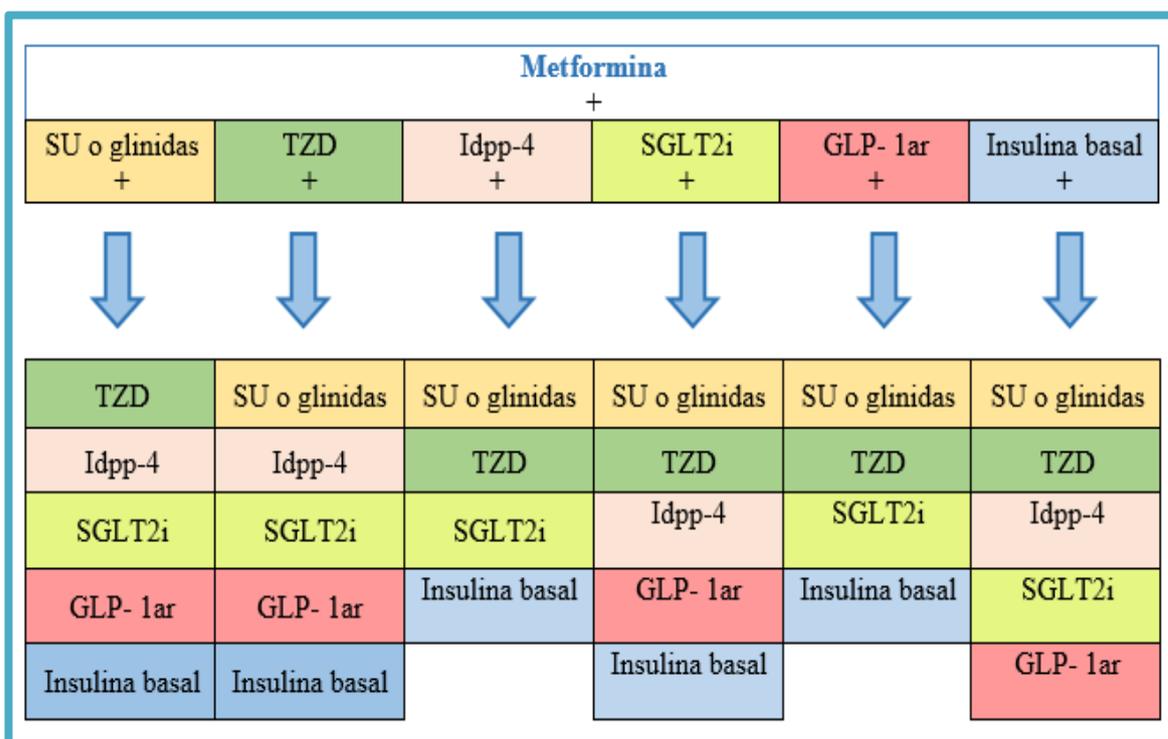


Figura 5. Combinaciones de terapias farmacológicas múltiples.²⁸

2.2.2.5 Descripción de los grupos farmacológicos.

1. Biguanidas (Metformina).

Es el fármaco de primera elección debido que presenta una reducción media de HbA1c de 1,3% a 2,0% y es segura se indica cuando se diagnóstica con DM2 con HbA1c elevadas.³¹ El mecanismo de acción se da mediante la unión a receptores específicos activa la AMP-kinasa, la cual va reducir la glucosa mediante la disminución de la producción hepática de la glucosa y aumentando la captación de la misma en el intestino, la cual va actuar mediante un mecanismo de aclarado de la hiperglucemia en la diabetes. (Ver figura 6). Su efecto va provocar una reducción de peso corporal mínima.³² Las evidencias obtenidas sobre el efecto de disminuir el riesgo cardiovascular es reducida.³³ En pacientes con IR, filtrado glomerular por debajo de 45 mL/min la dosis se debe reducir de lo contrario se debe suspender si estos valores se encuentran por debajo de 30 mL/min. La anemia es una dificultad en este tratamiento debido que el uso de este fármaco es asociado con la deficiencia de la vitamina B12 por ello es necesario monitorizar los niveles de B12 periódicamente para evitar la presencia de anemia o neuropatías periféricas.³⁴ El beneficio para la economía de los pacientes es que estos fármacos se encuentran en el petitorio nacional de medicamentos y es su bajo costo (Ver figura 6).

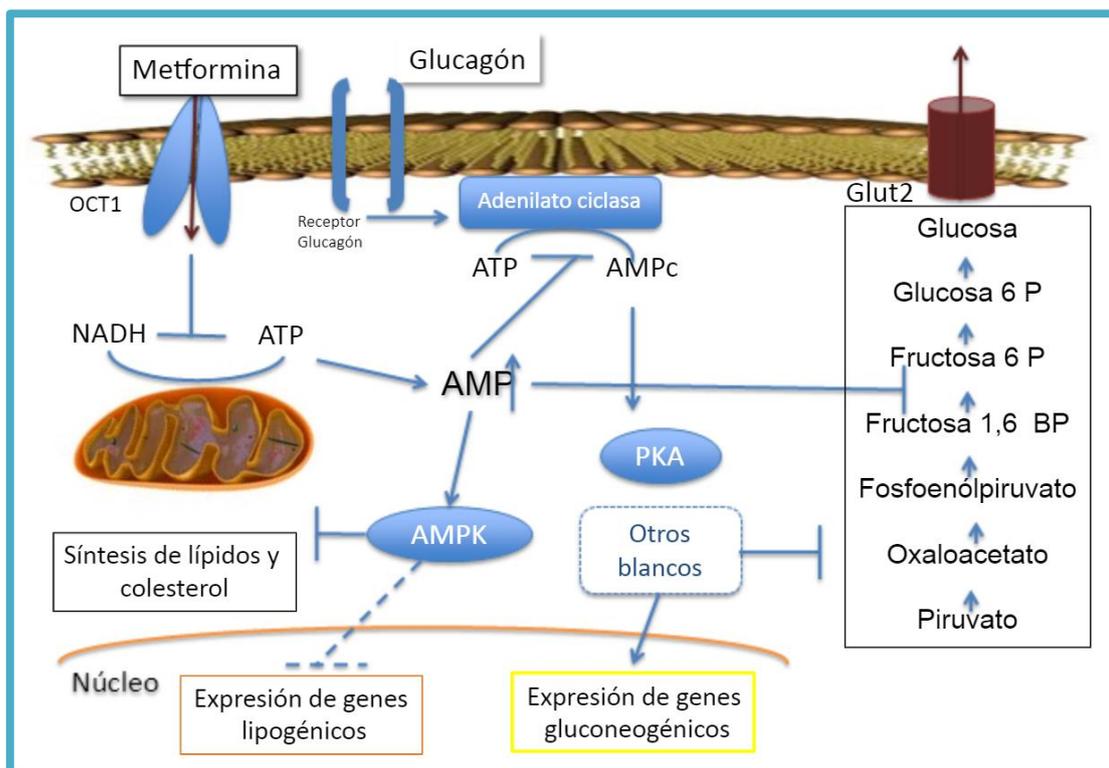


Figura 6. Mecanismo de acción de la metformina.³⁵

2. Sulfonilureas y glinidas. (Glibenclamida)

Es uno de los fármacos más utilizados en la historia de la diabetes por su efectividad, seguridad y la reducción media de la HbA1c esperada junto a la metformina es de 0,79%. El mecanismo de acción se da mediante el cierre de los canales K-ATP en la membrana de las células β la cual va incrementar la secreción de insulina. (Ver figura 7). El peso corporal es una de las reacciones inesperadas debido que se ve incrementada hasta en 2,31 kg según metaanálisis y revisiones clínicas.³⁵ Pacientes con IR deberán usar glimepirida en dosis bajas debido que la glibenclamida no es recomendada. Las glinidas presentan mejor control de glucemia postprandial debido a su biodisponibilidad temprana y la vida media más corta que presenta a diferencia de las Sulfonilurias. Estos fármacos presentan reacciones adversas como la hipoglucemia, aumento de peso e incremento de mortalidad cardiovascular, se continúa considerando medicamento adecuado para los pacientes con bajo riesgo de hipoglucemia por su baja complejidad y por el costo.³⁶ (Ver figura 7).

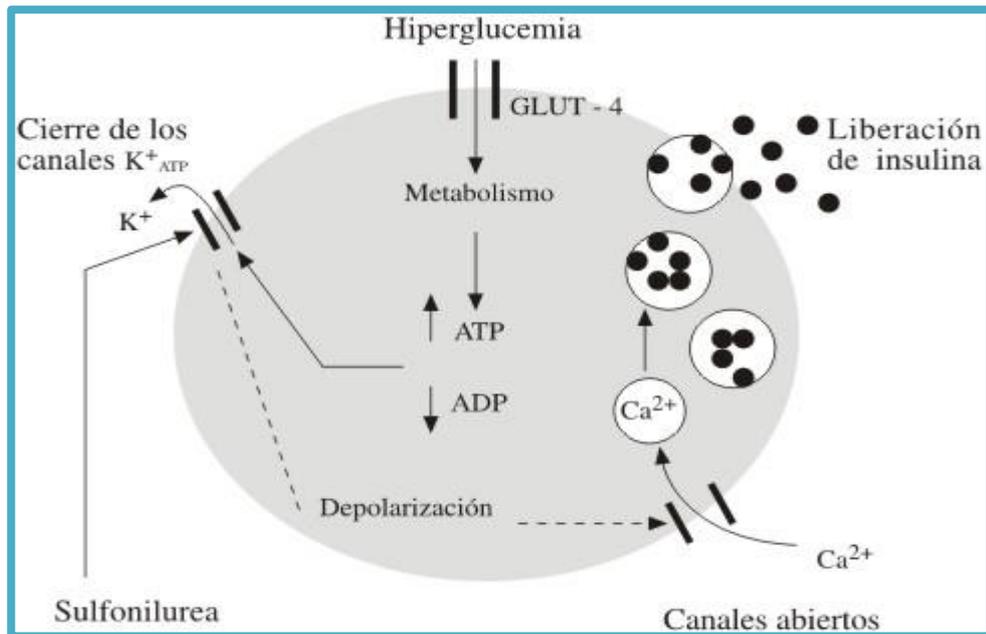


Figura 7. Mecanismo de acción de la glibenclamida.³⁵

3. Inhibidores de α glucosidasas (Acarbosa).

Estos fármacos presentan su mecanismo de acción mediante la inhibición de las α -glucosidasas intestinales, la cual va a reducir la digestión y absorción de los carbohidratos. Las monoterapias no van a provocar hipoglucemia y puede reducir el peso corporal ligeramente. El fármaco a diferencia de otras opciones va a presentar menos potencia por ello la reducción media de HbA1c junto a metformina es de 0,65%, sin dejar de lado que provoca frecuentes efectos adversos a nivel gástrico.³⁷

4. Tiazolidinedionas (Pioglitazona).

Estos fármacos van a aumentar la sensibilidad de la insulina mediante la activación del factor de transcripción nuclear PPAR-gamma. La reducción media de HbA1c esperada juntamente con metformina es de 1%. Pacientes con IR y con FGe por encima de 15 mL/min/1,73 m², se recomienda su uso sin necesidad de ajustar dosis. Las reacciones adversas más usuales son incremento de peso, retención hídrica, fracturas óseas y una supuesta relación con cáncer vesical, debido a esto este tratamiento está catalogado para el tercer escalón del tratamiento de la diabetes ya que actúa de manera positiva en la esteatosis y esteatohepatitis no alcohólica y está considerada como una alternativa para los pacientes que no pueden ser tratados con metformina.³⁸

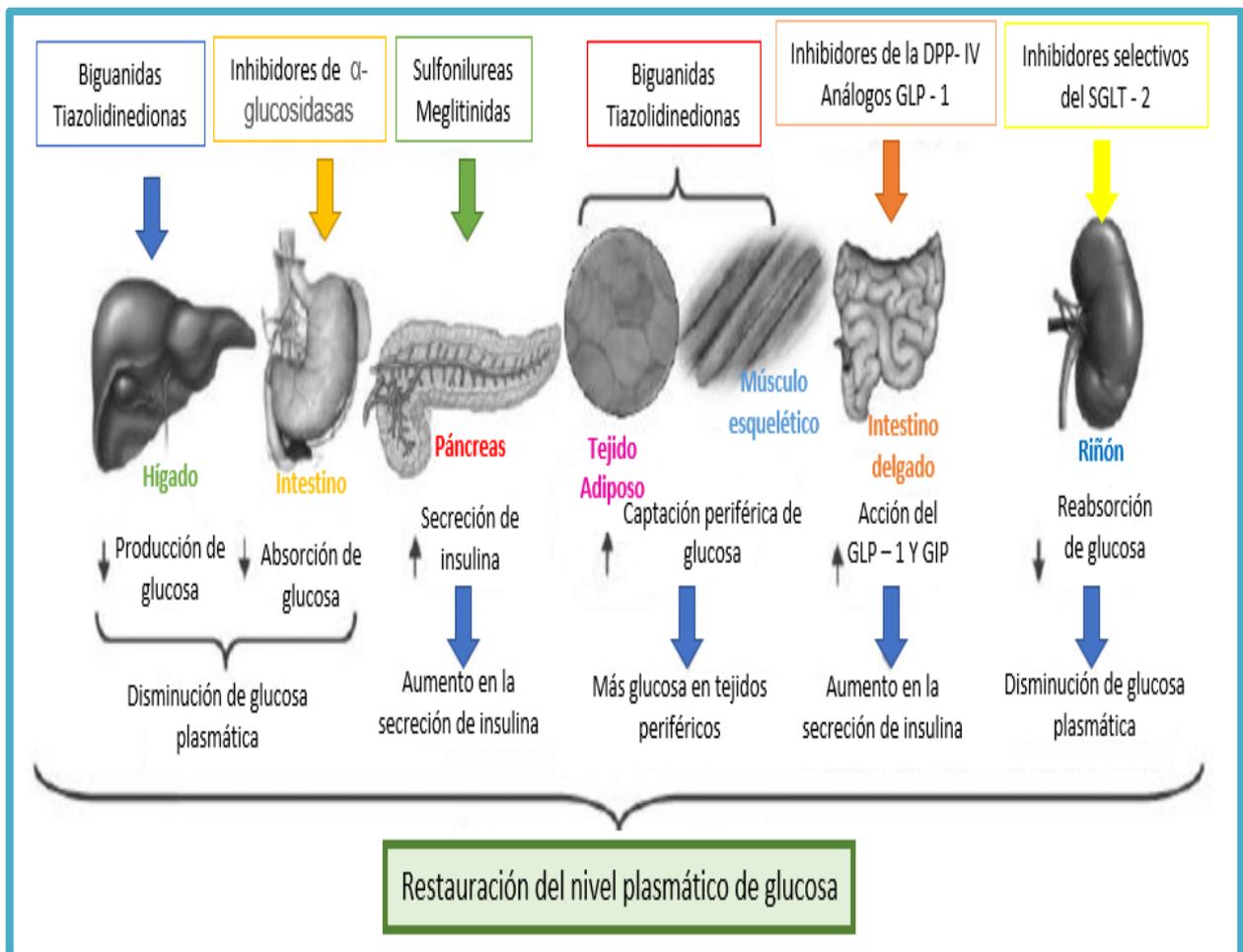


Figura 8. Esquema de acción de los antidiabéticos orales.³⁷

5. Inhibidores de la dipeptidilpeptidasa tipo 4 (DPP-4) (Sitagliptina).

Su mecanismo tiene por objetivo aumentar la secreción de insulina y disminuir el glucagón en forma de glucosa dependiente, esto se va conseguir inhibiendo la enzima DPP-4, la cual incrementa las concentraciones de las hormonas incretinas (glucagón-like peptide-1 [GLP-1] Gastric inhibitory polypeptide [GIP]) postprandial (Ver figura 9). La disminución media de HbA1c juntamente con metformina es de 0,79%. Pacientes con IR pueden usarlo son garantía en cualquier estadio a excepción de la linagliptina, debido que se elimina por vía biliar, ensayos clínicos demuestran la seguridad del uso en pacientes con riesgo cardiovascular elevado.²⁸ La frecuencia de la dosificación es un aspecto importante en este tipo de fármacos ya que por la seguridad y comodidad del paciente las presentaciones es monodosis y se une a la metformina y se dosifica de 1 a 2 veces al día, Es recomendado en uso de ancianos y pacientes con IR en cualquier estadio.³⁹

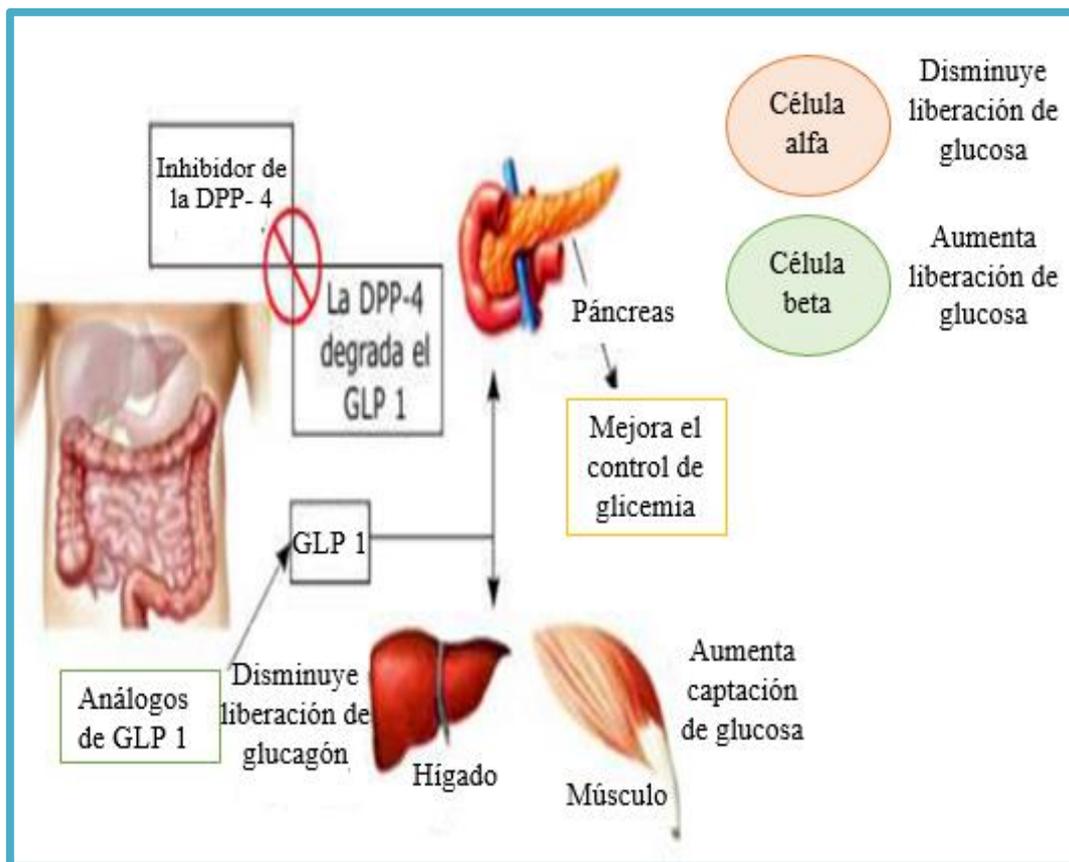


Figura 9. Mecanismo de acción de los inhibidores DPP-4.³¹

9. Agonistas del receptor de glucagón-like peptide-1 (GLP-1) (Exenatida).

El objetivo de estos fármacos es disminuir la secreción del glucagón por medio del incremento de la secreción de insulina ya que estos fármacos se unen a los receptores del GLP-1 (ver figura 10). Estos fármacos pueden lograr la reducción media de HbA1c 0.99% conjuntamente con la metformina.²⁸ Los agonistas del receptor GLP-1(arGLP-1) van a reducir la presión arterial sistólica (-3,57 mmHg) y diastólica (-1,38 mmHg) sin provocar hipoglicemia.⁴⁰ Pacientes con IR y FGe inferior a 30 mL/min, no es recomendable su uso⁴¹. Las reacciones adversas más representativas en estos fármacos son los gastrointestinales con 20% de incidencias (nauseas, vómitos) estos malestares se dan al inicio del tratamiento la cuales van desapareciendo según pasa las semanas con el tratamiento son muy pocos los casos donde se tuvo que suspender el tratamiento por sus efectos adversos (3-8%).²⁸

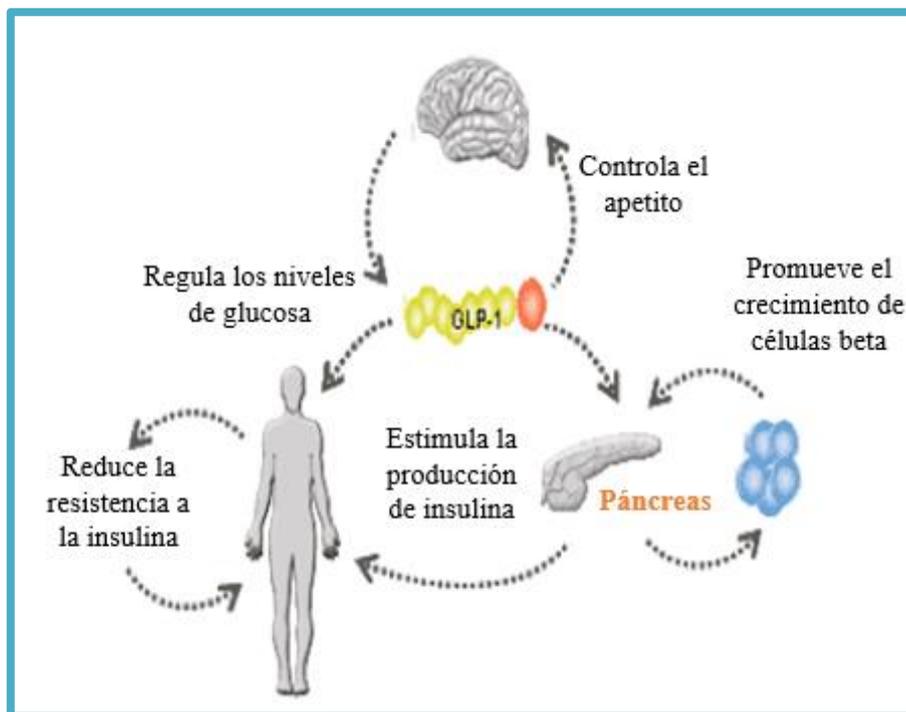


Figura 10. Mecanismo de acción de los agonistas del GLP-1.²⁸

10. Inhibidores del Cotransportador sodio-glucosa tipo 2 (SGLT2) (Dapaglifozina).

El mecanismo de acción de estos fármacos va a provocar la glucosuria mediante el bloqueo del Cotransportador SGLT2 el cual va impedir la reabsorción de la glucosa a nivel del segmento contorneado del túbulo renal proximal (ver figura 11). La disminución media de la HbA1c es de 0,7 y 1%. Estos fármacos no van a producir hipoglucemia y son muy efectivos en el tratamiento de la DM 2. En los pacientes hipertensos estos fármacos ayudaran reduciendo la presión arterial (media: -2,46 mmHg en sistólica y -1,46 mmHg en diastólica).⁴² Entre sus reacciones adversas más significativas esta las infecciones genitourinarias es mayor porcentaje en las mujeres y depleción de volumen. Las hipoglucemias presentes con estos fármacos la mayoría de veces se debe a la unión con Sulfonilureas e insulina. En pocas proporciones se ha visto casos de cetoacidosis euglucémica, esto se da mayormente en pacientes con tratamiento con insulina y como la mayoría de los fármacos estas reacciones adversas se da al inicio del tratamiento por ello se recomienda monitorizar los la presión arterial en dichos pacientes.⁴³

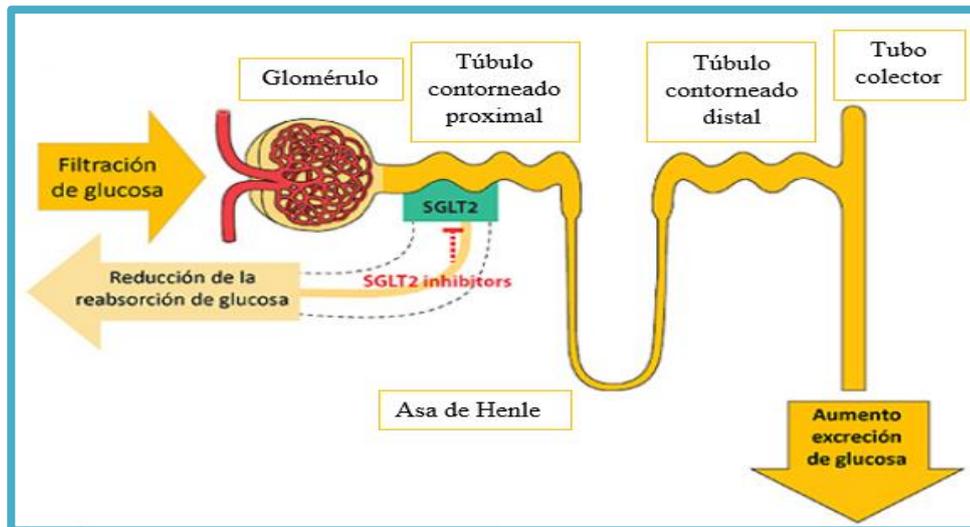


Figura 11. Mecanismo de acción de los inhibidores SGLT-2.⁴²

11. Insulina.

La insulina es la alternativa más potente y eficaz ya que va a presentar una disminución media de HbA1c entre 1 y 2%. Sin embargo tiene mayor asociación con la hipoglucemia debida que se administra directamente. Su mecanismo de acción es mediante la disminución de la producción de glucosa en el hígado la cual favorece el uso periférico de la glucosa. En la figura 4 podemos visualizar el tratamiento de la insulinoterapia la cual puede ser concomitante con otros grupos. Una de las deficiencias para los pacientes con obesidad según estudios clínicos es que podría provocar el aumento de peso de hasta 6 kg en 2 años con el tratamiento.⁴⁴ En el “Consenso sobre tratamiento con insulina en la diabetes tipo 2” indican mantener iDPP4, iSGLT2 y reducir o suspender SU y Pioglitazona. La dosis recomendada para iniciar el tratamiento con la insulina basal es de 0,2 U/kg o 10 UI. Estas dosis se debe reajustar según la necesidad del paciente y de forma progresiva en al menos cada 3-5 días 2-4 UI o 10-15% hasta lograr una adecuada nivel de glucemia en ayunas. Una de las reacciones adversas más destacada es la hipoglucemia si esto sucediera si tendría que reajustar la dosis haciendo una disminución de esta hasta en 4 UI o 10-20%. El tratamiento con insulina es compleja por lo que el paciente debe recibir una educación adecuada sobre el fármaco y su uso.⁴⁵

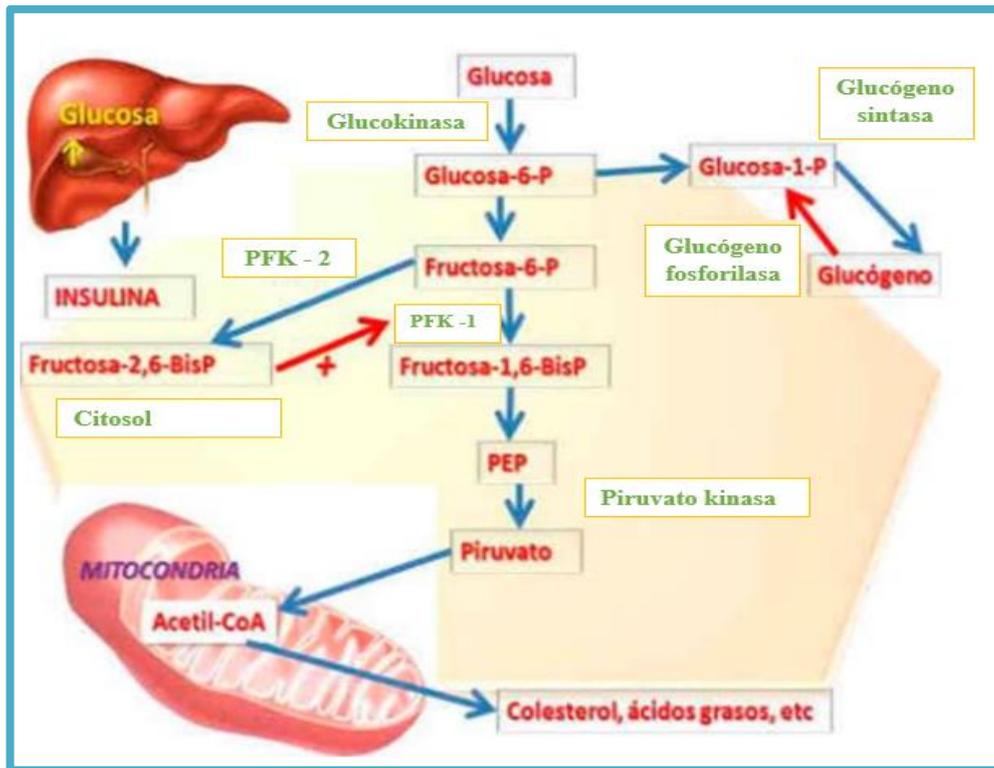


Figura 12. Mecanismo de acción de la insulina.⁴⁴

2.2.2.6 Hiperglucemia.

1. Crisis hiperglucémica.

El paciente con glucemias mayores a 250 mg/dL es considerado como paciente con crisis hiperglucémica debido que esta elevación de la glucosa se debe a una alteración del organismo. Este grado de alteración dependiendo de la gravedad puede ser causa de la hospitalización de emergencia del paciente, la recuperación de esta se basa en la buena hidratación, corrección en la dosificación de la insulina si es que el paciente estaría usándolo. Con todo eso podríamos conseguir una recuperación óptima.²⁶

2. Cuadro clínico de la hiperglucemia.

El estado El estado hiperosmolar hiperglucémica (EHH) y la cetoacidosis diabética (CAD) son las descomposiciones más severas en la hiperglucemia. Presentan signos y síntomas como la polidipsia, poliuria, polipnea, pérdida ponderal, intolerancia oral, debilidad, postración, trastornos del sensorio, deshidratación, coma, taquicardia, hipotensión, respiración de Kussmaul (en la cetoacidosis diabética).²⁶

3. Tratamiento de la hiperglucemia.²⁶

Los tratamientos de la hiperglucemia en gran medida deben ser hospitalarios y especializados por ello los centros de salud de nivel primario proceden de la siguiente manera:

- a. Identificación de los signos y síntomas característicos de la hiperglucemia.
- b. Realizar la determinación de la glucosa ya sea venosa y/o capilar la cual presenta límite superior de detección la cual debe ser 600 mg/dL, valores por encima de estos son signos de alerta.
- c. Realizar la identificación de cuerpos cetónicos en la orina mediante tiras reactivas.
- d. Si podría determinar la creatinina sérica, electrolitos y gases arteriales si para un mejor diagnóstico y por ello el mejor tratamiento.

2.2.3. Páncreas.

1. Daños agudos del páncreas.

La diabetes se desarrolla por consecuencia de la destrucción de las células β del páncreas. Los islotes pancreáticos, estructuras en donde se encuentran las células β , se ven crónicamente atacados por un infiltrado de células inmunológicas autoreactivas (llamado insulinitis) que se sitúa alrededor de éstos y aumenta a medida que progresa la enfermedad. Posteriormente y debido a un cambio homeostático tanto en el componente celular inmunológico como en el endocrino, la insulinitis termina por destruir las células β induciendo así los síntomas clínicos de la diabetes de tipo 1.⁴⁶

La destrucción parcial y/o progresiva de las células β aún no tiene una explicación comprensiva. Una de las teorías explica que existen anticuerpos de forma específica contra distintos componentes de la célula β , linfocitos T con una capacidad regulatoria disminuida o la implicación de algún virus del medio ambiente. Todo esto combinado con una pobre expresión de enzimas antioxidantes pancreáticas, que le confieren una baja resistencia contra insultos oxidativos.⁴⁷ Entre los autoantígenos se encuentran la insulina, ácido glutámico descarboxilasa (GAD65), tirosín fosfato, antígeno de insulinoma (IA)-2 e IA-2 β , carboxipeptidasa H, antígeno de los islotes pancreáticos (ICA-69), gangliósidos GM, autoantígenos 38-kd y Sox-13. Los números de auto antígenos por individuo se relacionan con la gravedad en el desarrollo de la DM1. Esta destrucción directa hacia la masa de células β provoca que su porcentaje sea apenas de 2% en la DM1, a diferencia de 40 a 60% que queda en la DM2, sin embargo, la pérdida es progresiva en el orden de

4 a 10% por año en esta última.⁴⁸ Por tanto, el aumento del estrés es una de las reacciones en los pacientes diabéticos esta se debe a las generación de radicales libres que se genera por el proceso autoinmune y la cronicidad de la enfermedad, ocasionando daños a biomoléculas como los lípidos, carbohidratos, proteínas, ácidos nucleicos y macromoléculas del tejido conectivo, interfiriendo de esta manera con la función celular. Estudios realizados por Rosenberg y Vinik⁴⁹ en 1989, indican que las células pancreáticas presentan capacidad de regeneración de los islotes de Langerhans.

2. Estructura pancreática.

Las células de los islotes de Langerhans componen el tejido endocrino forman el páncreas las cuales van a producir la hormona de la insulina que va mantener la homeostasis de la glucosa. Los islotes de Langerhans representan el 1% del peso de la glándula. El páncreas tiene una cobertura de tejido conectivo que es rico en mesoteliales con finos tabiques que dividen a la glándula en lóbulos. Una capa delgada de tejido conectivo es lo que limitan las células de los islotes. El tejido endocrino adulto contiene cuatro tipos celulares diferentes, con mayor densidad en la zona de la cola, estas células son⁴⁷:

1. Células productoras de insulina o β , que representan 70%.
2. Células productoras de glucagón o α , que representan 20%.
3. Células productoras de somatostatina o δ , que representan entre 5 a 10%.
4. Células productoras del polipéptido pancreático, que abarcan alrededor de 2%.

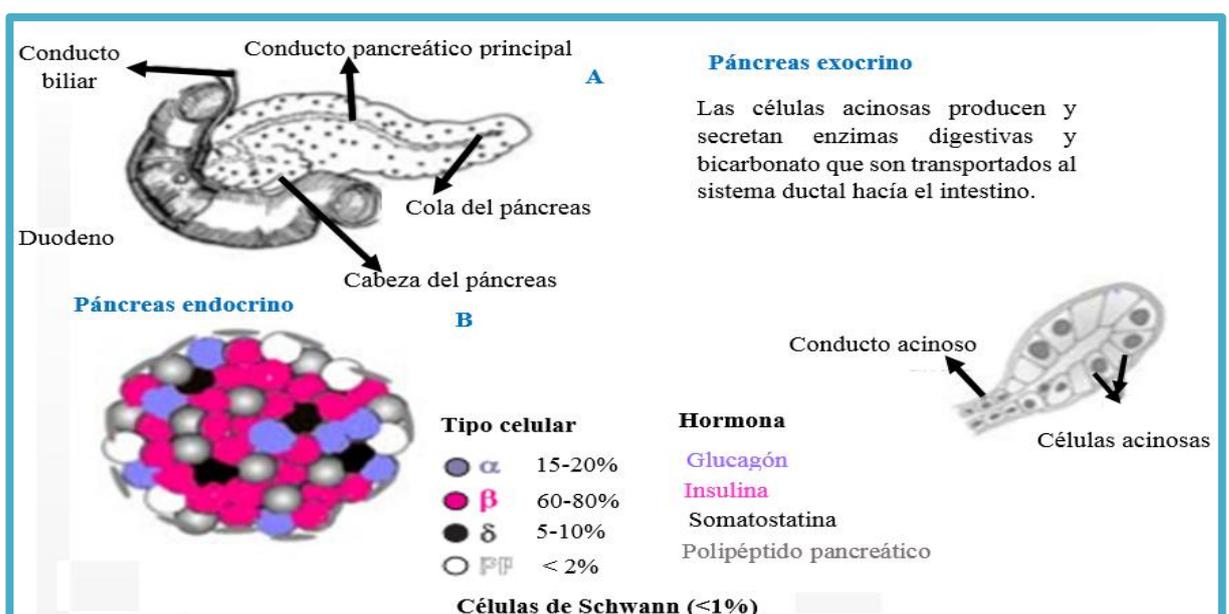


Figura 13. Anatomía e histología pancreática.⁴⁷

En la figura 13, En la figura A las divisiones del páncreas. En B se observan las células acinosas del tejido endocrino y en el esquema inferior se observa un islote de Langerhans en representación esquemática con los respectivos porcentajes de células endocrinas: α productoras de glucagón, β productora de insulina, γ productoras de somatostatina, PP productoras de polipéptidos pancreáticos y más recientemente encontradas las células de Schwann.

4. La fisiología y la fisiopatología de las células β .

Es un tema extenso, donde a pesar de los estudios que se han realizado a la fecha, tanto en humanos como en modelos animales, no se ha logrado comprender del todo los mecanismos por los cuales la célula β se enfrenta al nacimiento, crecimiento, muerte y de cómo el medio externo influye para afectar el funcionamiento de las células β . Tanto la DM tipo 1 como la tipo 2 comparten características durante el progreso de esta enfermedad, por lo que nuevos hallazgos para mejorar la supervivencia y funcionamiento celular podrían aplicarse a ambas entidades. Los modelos de experimentación en roedores, principalmente han servido para conocer la fisiopatología, pero muchos otros estudios han permitido sentar las bases para la utilización de células madre de origen intra o extra islote y su diferenciación hacia células β . Actualmente se trabaja en terapias de regulación para suprimir la respuesta inmune que se presenta en la DM tipo 1, así como también parar o erradicar el daño causado por radicales libres que se generan tanto en la DM tipo 1 como en la DM tipo 2. Es por tal motivo que las terapias antioxidantes promoverían una mejor funcionalidad a la célula β para llevar a cabo la producción de insulina o disminuyendo los efectos lesivos de los radicales libres.⁴⁷

2.2.4. Glucómetro Accu-Chek Active.

El glucómetro marca Accu-Chek Active es usado para la determinación de la glucosa usando sangre capilar fresca. Este equipo solo debe usar tiras reactivas de la misma marca y en buen estado ya que sino no daría el resultado adecuado en la medición. Este tipo de diagnóstico se puede utilizar tanto en autodiagnóstico tanto como para el uso en el ámbito profesional. El beneficio de este equipo por su portabilidad puede llevarlo a zonas recónditas para realizar las medidas de glucosa de los pacientes. No se debe diagnosticar diabetes solo con el uso de este equipo para ello se debe realizar análisis más fiables.⁵⁰

a. Fundamento del Glucómetro Accu-Chek Active.

La glucosa oxidasa es la enzima responsable hoy en día de reaccionar con la sangre capilar para la lectura del nivel de glucosa mediante los glucómetros, estas enzimas se encuentran incorporadas en las tiras reactivas juntamente con otras enzimas pero en menor proporción, la reacción entre la sangre capilar y las tiras reactivas van a provocar la oxidación de la glucosa el cual va generar el cambio de color la cual va depender de la proporción de glucosa que hay en la muestra.⁵¹

Obtención de resultados:

- Por fotometría de reflectancia: Esta verificara el color que va adoptar la sangre en contacto con la enzima mediante la cantidad de luz reflejada por medio de las tiras reactivas.
- Tecnología electroquímica: una vez en contacto la sangre con las tiras reactivas se va producir una oxidación de la glucosa esta tecnología hará pasar corriente eléctrica mediante la tira la cual la concentración va ser proporcional a la concentración de la glucosa en sangre, el resultado se mostrara en la pantalla del glucómetro.⁵¹

2.2.4.1 Tiras reactivas.

Las tiras reactivas poseen un microchip la cual esta estratégicamente insertada en la tira que es de material de plástico, ligero, largo y forma rectangular. Estos sensores que presenta el chip se activan al tener contacto con los sensores del glucómetro las cuales harán encender automáticamente al equipo. En ese instante la glucosa entra en contacto con las tiras reactivas y la luz y realiza la lectura adecuada y dando aviso en la pantalla del valor de la glucosa en una unidad de medida: mg/dL.



Figura 14. Glucómetro Accu-Chek active (1) y envase mediato de las tiras reactivas (2).

III. MATERIALES Y METODOS.

Material vegetal

- Semillas secas de la especie vegetal *Persea americana* Mill “Palto”.

Los materiales metal son:

- Soporte universal de hierro.
- Pinza de hierro.
- Espátula de metal.
- Gradilla.
- Aros de soporte.
- Sonda metálica para ratones N°18 de acero inoxidable.

Los materiales de vidrio son:

- Baguetas de vidrio.
- Beacker marca Pyrex® de 50, 100, 600 y 2000 mL.
- Frascos herméticos x 500 mL y 120 mL.
- Tubos de ensayo Pyrex® 13x100 mL.
- Fuentes de vidrio marca Pyrex®.
- Frasco ámbar marca Pyrex®.
- Pipetas de 5, 10 mL de marca Pyrex®.

Otros materiales:

- Guantes estéril N°6 y N°7 (Alfymedix).
- Gorro estéril (Cegamed).
- Guardapolvos.
- Mascarilla descartable (Cegamed).
- Jeringa de 1, 3, 5 y 10 mL (Rymco).
- Papel filtro (Lab. Munktell).
- Pinza de madera.
- Equipo de disección (Guttek)

Reactivos y otros:

- Metanol (Merck).
- Etanol p.a. (CH₃CH₂OH) (Merck).

- Éter de petróleo p. a. (Merck).
- Suero fisiológico (NaCl 0,9%) (Braun).
- Agua destilada.

Medicamentos e ingredientes Farmacéuticos activos.

- Agua destilada.
- Aloxano monohidrato (Merck).
- Glibenclamida (Farminustria).
- Pentobarbital sódico (HALATAL)

3.1 Tipo y diseño.

3.1.1. Tipo de investigación.

1. **Experimental:** Este trabajo de investigación es de tipo experimental ya que consiste en una variable no comprobada en condiciones controladas, con el objetivo de describir la causa de cómo se produce una situación o acontecimiento particular.
2. **Cualitativo:** Se realizó la prueba de solubilidad ya que gran cantidad de sustancias no son empleadas como productos puros, sino preferentemente en disolución.
3. **Prospectivo:** Es un estudio longitudinal en el tiempo que se diseña y comienza a realizar en el presente, pero los datos se analizan transcurrido un determinado tiempo, en el futuro.

3.1.2. Diseño.

Grupo 1. (n=8): Fueron hidratados con NaCl al 0,9% en dosis de 0,1 mL por cada 10 g de peso corporal por vía oral.

Grupo 2. (n=8): Tratados con extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en dosis de 200 mg/kg vía oral.

Grupo 3. (n=8): Tratados con glibenclamida 2 mg/kg vía oral.



Figura 15. Grupos (1, 2, 3) blancos que recibieron tratamiento por vía intragastrica.

Grupo 4. (n=8): Aloxano 150 mg/kg. + NaCl al 0,9% en dosis de 0,1 mL por cada 10 g de peso corporal por vía oral.

Grupo 5. (n=8): Aloxano 150 mg/kg. + Extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill "Palto" a dosis de 100 mg/kg vía oral.

Grupo 6. (n=8): Aloxano 150 mg/kg. + Extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Mill "Palto" a dosis de 200 mg/kg vía oral.

Grupo 7. (n=8): Aloxano 150 mg/kg. + Glibenclamida 2 mg/kg vía oral.

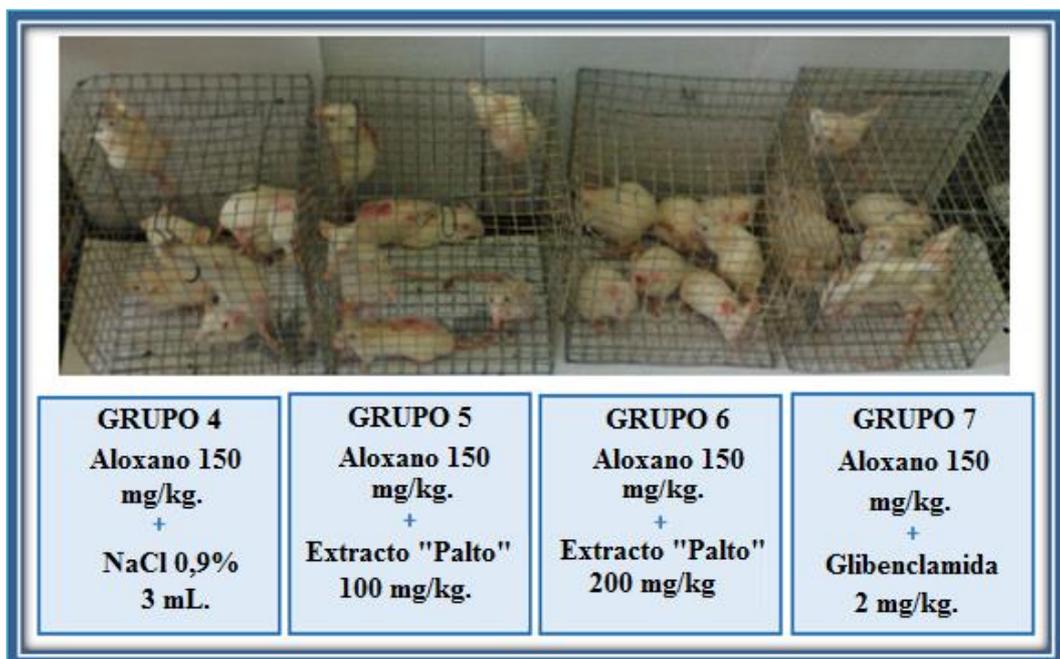


Figura 16. Grupos (4, 5, 6, 7) inducidos a hiperglucemia con Aloxano 150 mg/kg, administrados por vía intraperitoneal.

3.2. Población y muestra.

3.2.1. Población de estudios.

La población de estudios para este trabajo de investigación está constituido por ratones albinos de 2 meses de edad mayor de 30 g de peso corporal de ambos sexos (cepa Balbín/C53/CNPB) del bioterio del Instituto Nacional de Salud en Chorrillos (INC).

3.2.2. Muestra de estudio.

La muestra de estudio está constituido por 56 ratones albinos.

3.3. Criterios de inclusión y exclusión.

3.3.1. Criterio de inclusión.

En este trabajo de investigación se incluirán ratones albinos de 2 meses de edad mayor de 30 g de peso corporal de ambos sexos.

3.3.2. Criterio de exclusión.

En este trabajo de investigación se excluirán ratones grávidos y menores de 30 g de peso corporal de ambos sexos.

3.4. Metodología.

3.4.1. Recolección.

Se recolecto 20 kg del fruto de la especie *Persea americana* Mill "Palto" de las plantaciones del anexo de San Francisco de Puruhuay que se encuentra en la provincia de Huarochirí, Departamento de Lima, se llevó a las instalaciones de laboratorios de productos naturales-Universidad Norbert Wiener donde se separó la pulpa de la semilla y se lavó con agua destilada, de la cual se extrajo 5 kg de semillas de esta especie.

3.4.2. Troceado.

Las semillas de *Persea americana* Mill "Palto" se trozo con la ayuda de un cuchillo doméstico en la cual se obtuvo partículas pequeñas para facilitar el secado y poder pulverizarlo con la ayuda del molino de cuchillas Willwy HillSt Model número 3 hasta obtener el polvo fino.

3.4.3. Secado.

Se usó la estufa (Memmert ®) a 40°C por el periodo de 7 días para el secado uniforme del polvo de la semilla de *Persea americana* Mill "Palto".

3.4.4. Preparación del extracto etanólico de las semillas de *Persea americana* Mill “Palto”.

Se realizó la maceración etanólico por 7 días, del polvo obtenido de la molienda de la semilla desecadas de la especie *Persea americana* Mill ”Palto” en un frasco de color ámbar para proteger de la luz y se agito todos los días, para homogenizar los metabolitos primarios y secundarios. Al termino de este periodo se filtró y se concentró en una bandeja de Pyrex el extracto final, la cual se llevó a la estufa (Memmert ®) para su secado a 40°C hasta obtener el extracto seco con un rendimiento de 320 g.

3.4.5. Descripción del método.

Se utilizó el método de Szkudelski (2001) ,⁵² el cual se basa en la inducción de la diabetes mellitus en ratones albinos de 2 meses de edad con mayor de 30 g. de peso corporal de ambos sexos (cepa Balbín/C53/CNPB), mediante la aplicación de aloxano a dosis de 150 mg/kg al 2% en suero fisiológico por vía intraperitoneal.

3.5. Instrumentos y procedimientos de recolección de datos

3.5.1. Prueba de solubilidad del extracto etanólico de especie *Persea americana* Mill “Palto”

Se usó 10 tubos de ensayo y se añadió 20 mg del extracto seco de semilla *Persea americana* Mill “Palto”, se le agrego a cada uno 1 mL del solvente polares: Agua, Etanol, Metanol, Butanol y solventes apolares como: Acetato de etilo, Cloroformo, Benceno, Acetona, Éter de petróleo, Hexano.⁵³

3.5.2. Procedimiento experimental para evaluar la actividad hipoglicemiante.

Se utilizaron 56 ratones *Mus musculus* cepa Balb/C53/CNPB, de ambos sexos distribuidos al azar en 7 grupos (conformados por 8 ratones), los cuales se aclimataron en el bioterio de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener durante 14 días a las condiciones (temperatura 25±2°C, humedad relativa 60±5% y ciclos de luz/oscuridad de 12 horas), cama con viruta estéril con cambio cada 24 horas y con libre acceso al agua, alimentación (pellets para roedores adquiridos en la Universidad Nacional Agraria La Molina). Todos los ensayos preclínicos se tuvieron en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorios establecidos internacionalmente (Guide for the care and use of laboratory animals).⁵⁴

3.5.3. Estudio histopatológico del páncreas.

Una vez terminada el proceso experimental se sacrificaron los animales practicándole eutanasia química, mediante la administración de pentobarbital sódico (HALATAL®) y luego se realizó la disección y toma de muestra mediante un corte longitudinal o línea alba para exponer las vísceras. Las muestras de páncreas fueron fijadas en formalina al 10%. Se realizaron cortes finos los tejidos para luego colocarlos en portaobjetos. Se procedió a eliminar la parafina mediante dos cambios de xileno por 5 minutos cada uno y se permitió secar por 5 a 10 minutos para luego hidratar en agua destilada y luego se coloreo con hematoxilina incubándose la laminas por 5 a 10 minutos. Se eliminó el exceso de colorante con agua a chorro por lapso de 5 minutos y se contraste exponiéndolas a eosina por 5 minutos. Se procedió a realizar las respectivas observaciones a diferentes aumentos (10 X, 40 X, 100 X) y realizar las evaluaciones de los cambios morfológicos tisulares comparando con los tejidos controles. Se realizó el análisis histológico a los diferentes grupos de animales tratados con aloxano más extracto etanólico, aloxano con glibenclamida, y compararla con el grupo control, también a los grupos que no se aplicaron aloxano.

3.6. Análisis de datos.

En el presente trabajo de investigación se generó una base de dato codificando las variables y haciendo uso del programa Microsoft Office Excel 2016 y el paquete estadístico SPSS versión 24,0 con la finalidad de que la información levantada en la ejecución del instrumento de investigación sea consistente. También se procedió a utilizar el análisis descriptivo con el fin de describir y caracterizar cada una de las variables haciendo uso de medidas de tendencia central (media) y medidas de dispersión (varianza, desviación estándar), así como un análisis frecuencial y gráficos de barras se realizó las comparaciones múltiples utilizando las pruebas de anova, técnicas DMS, variación porcentual, prueba de Kruskal Wallis, comparaciones múltiples Games Howell.

IV. RESULTADOS.

Tabla 1. Estadísticas descriptivas del nivel de glucosa sanguínea mg/dL en ratones diabéticos inducidos con aloxano.

Nivel de glucosa sanguínea mg/dL												
Grupo	n	Glucosa basal		Glucosa aloxano		Aplicación de tratamiento	Glucosa post 2h		Glucosa post 14h		Glucosa post 25h	
		Media	D. E.	Media	D. E.	Dosis	Media	D. E.	Media	D. E.	Media	D. E.
Control	8	83.4	22.3	132.1	25.1	3 mL	118.0	21.8	130.8	19.0	144.0	16.4
*Muestra 100 mg/kg	8	106.4	33.9	153.5	28.7	100 mg/kg	103.8	32.6	118.0	21.6	126.6	23.2
**Muestra 200 mg/kg	8	87.8	27.7	165.3	16.9	200 mg/kg	122.0	29.7	122.0	21.5	123.0	11.6
Glibenclamida 2 mg/kg	8	92.4	26.6	163.9	23.9	2 mg/kg	91.8	54.0	122.9	29.0	148.3	28.3

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 1, muestra los valores promedio de la concentración de glucosa sanguínea en ratones albinos con diabetes inducidas con aloxano al 2%. Tenemos en primer lugar los valores basales en el cual observamos que el grupo que recibirá el tratamiento del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill a 100 mg/kg presenta un valor superior (106,4 mg/kg), luego de la inducción el que presenta un nivel promedio mayor es el grupo que recibirá el extracto al 200 mg/kg (165,3 mg/kg). Luego de iniciado el tratamiento a las 2 horas todos los grupos presentan un descenso en el nivel promedio de glucosa, inclusive el grupo control evidencia un ligero descenso. A partir de la 14^{va} hora excepción del grupo tratado con el extracto a 200 mg/kg aumentan nuevamente sus valores medios de glucosa sanguínea y este patrón se observa hasta las 25^{va} hora de iniciado el tratamiento, **La figura 17.** Ilustra estos resultados.

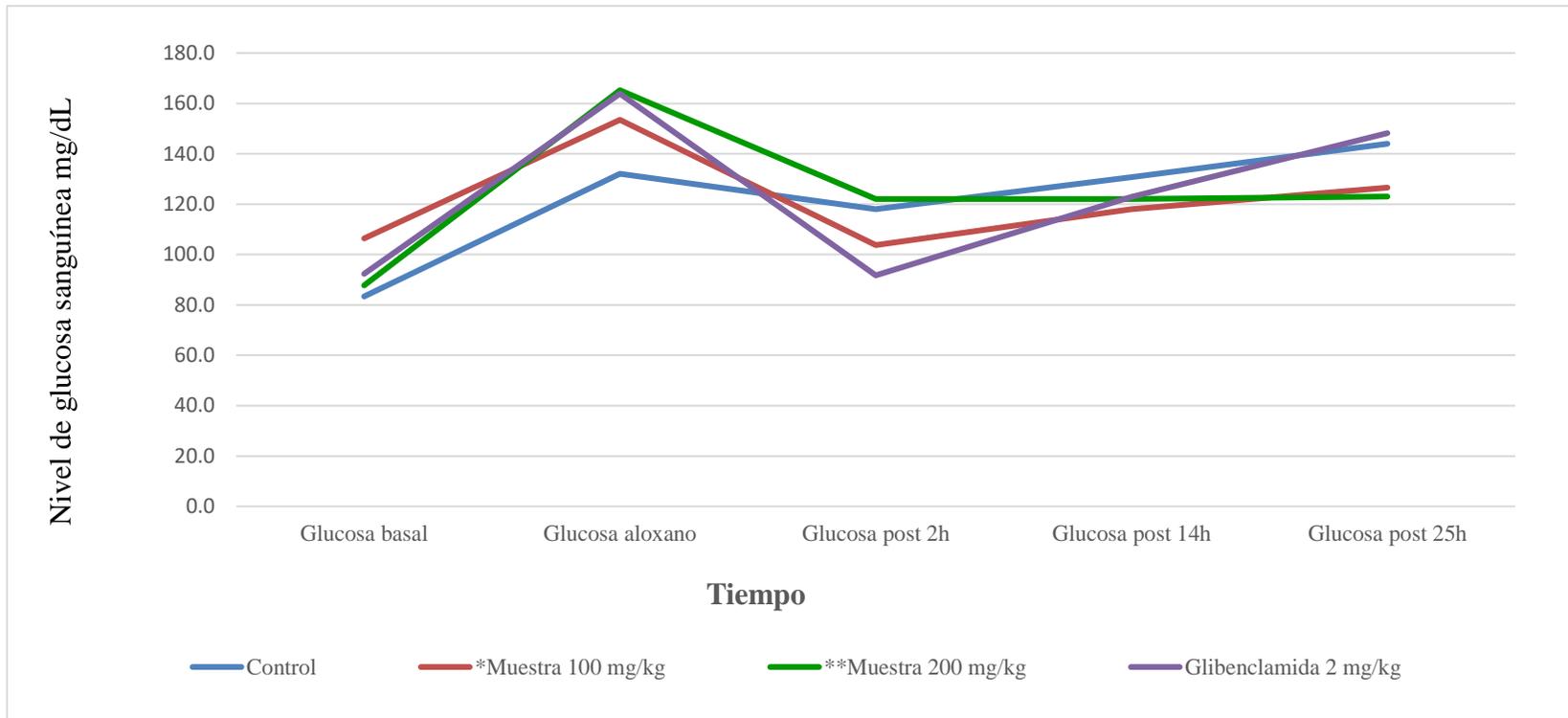


Figura 17. Nivel promedio de glucosa sanguínea mg/dL en ratones diabéticos inducidos con aloxano.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la Figura 17, se puede observar los niveles de promedio de la glucosa sanguínea en ratones diabéticos inducidos con aloxano, para eliminar las diferencias iniciales observadas en los niveles promedio de glucosa en sangre luego de la inducción con aloxano se analizará la variación o disminución porcentual del nivel de glucosa, es decir el efecto porcentual hipoglucemiante.

Tabla 2. Estadísticas descriptivas del efecto hipoglucemiante (disminución porcentual de glucosa).

		N	Media	Desviación estándar	95% I.C. para la media		Mínimo	Máximo
					LI	LS		
Efecto hipoglicemiante 2h (%)	Control	8	8.8	19.8	-7.8	25.3	-26.4	36.1
	*Muestra 100 mg/kg	8	32.0	18.6	16.5	47.5	9.9	55.1
	**Muestra 200 mg/kg	8	27.1	11.2	17.7	36.4	11.6	42.4
	Glibenclamida 2 mg/kg	8	45.7	25.0	24.8	66.5	7.7	69.7
Efecto hipoglicemiante 14h (%)	Control	8	-1.3	19.8	-17.9	15.2	-36.8	32.8
	*Muestra 100 mg/kg	8	22.1	12.1	12.0	32.2	8.6	41.2
	**Muestra 200 mg/kg	8	26.6	5.9	21.7	31.5	17.9	32.7
	Glibenclamida 2 mg/kg	8	25.0	12.5	14.6	35.5	5.8	41.8
Efecto hipoglicemiante 25h (%)	Control	8	-11.7	20.4	-28.8	5.4	-49.1	23.3
	*Muestra 100 mg/kg	8	17.0	10.2	8.4	25.5	3.3	30.3
	**Muestra 200 mg/kg	8	25.1	8.0	18.4	31.8	16.2	35.9
	Glibenclamida 2 mg/kg	8	7.6	23.3	-11.9	27.1	-35.0	33.7

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 2, se observa el efecto hipoglucemiante al cabo de 2 horas la Glibenclamida 2 mg/kg presenta un efecto promedio de 45,7% seguido de la muestra del extracto de *Persea americana* Mill “Palto” 100 mg/kg con 32,0%, a las 14^{va} hora el grupo control presenta una variación negativa lo cual indica que los niveles de glucosa en sangre están aumentando, por otro lado, la muestra del extracto de *Persea americana* Mill “Palto” a 200 mg/kg presenta el mayor efecto (26,6%). A las 25^{va} hora el nivel promedio en sangre del grupo control sigue aumentando, mientras que la Glibenclamida 2 mg/kg empieza a perder efecto y el extracto de *Persea americana* Mill “Palto” a 200 mg/kg se mantiene con un efecto promedio de 25,1%, este valor permite estimar los valores promedio de los efectos hipoglucémicos esperados con un nivel de confianza al 95%.

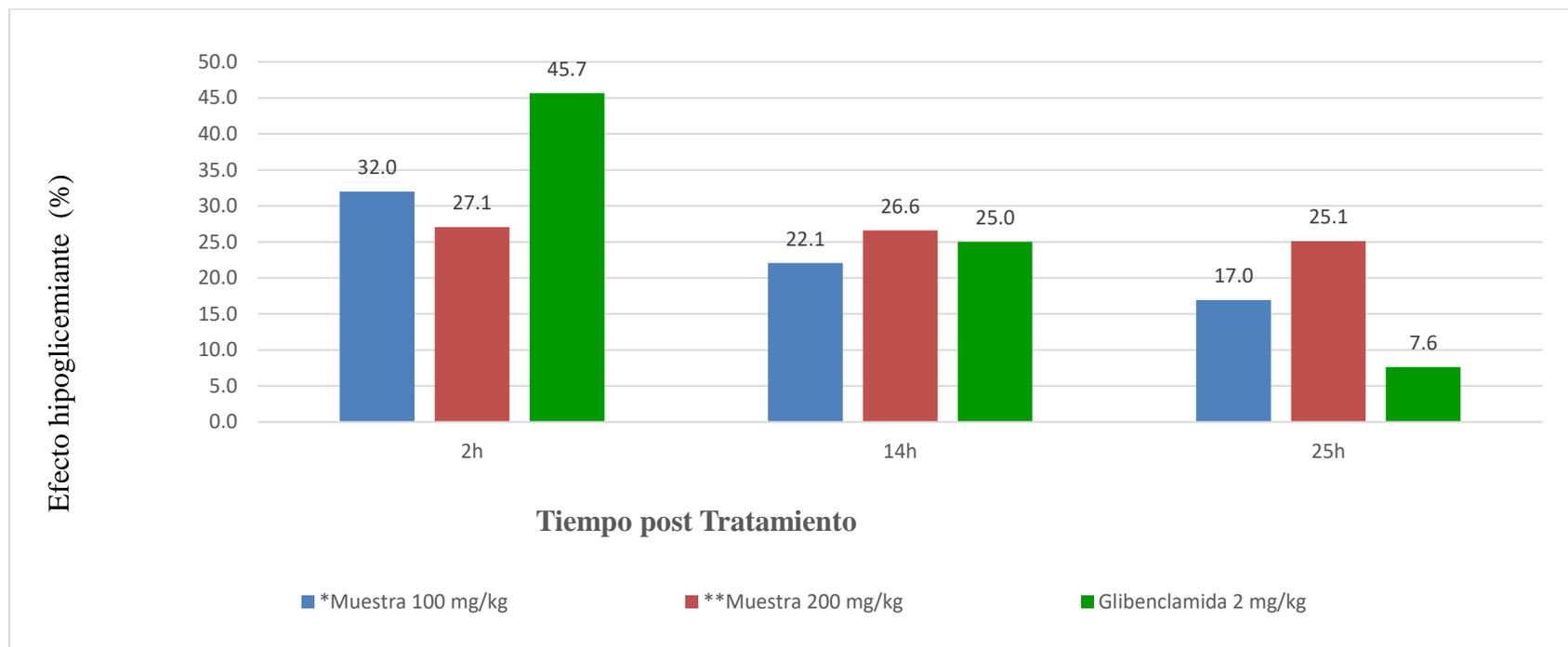


Figura 18. Efecto hipoglucemiante promedio en ratones diabéticos inducidos con aloxano.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 18, se observa los valores promedio de los efectos hipoglucemiantes, notemos que el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” a 200 mg/kg presenta una ventaja a las 14 y 25 (26,6% y 25,1%) horas pasadas la inducción con aloxano.

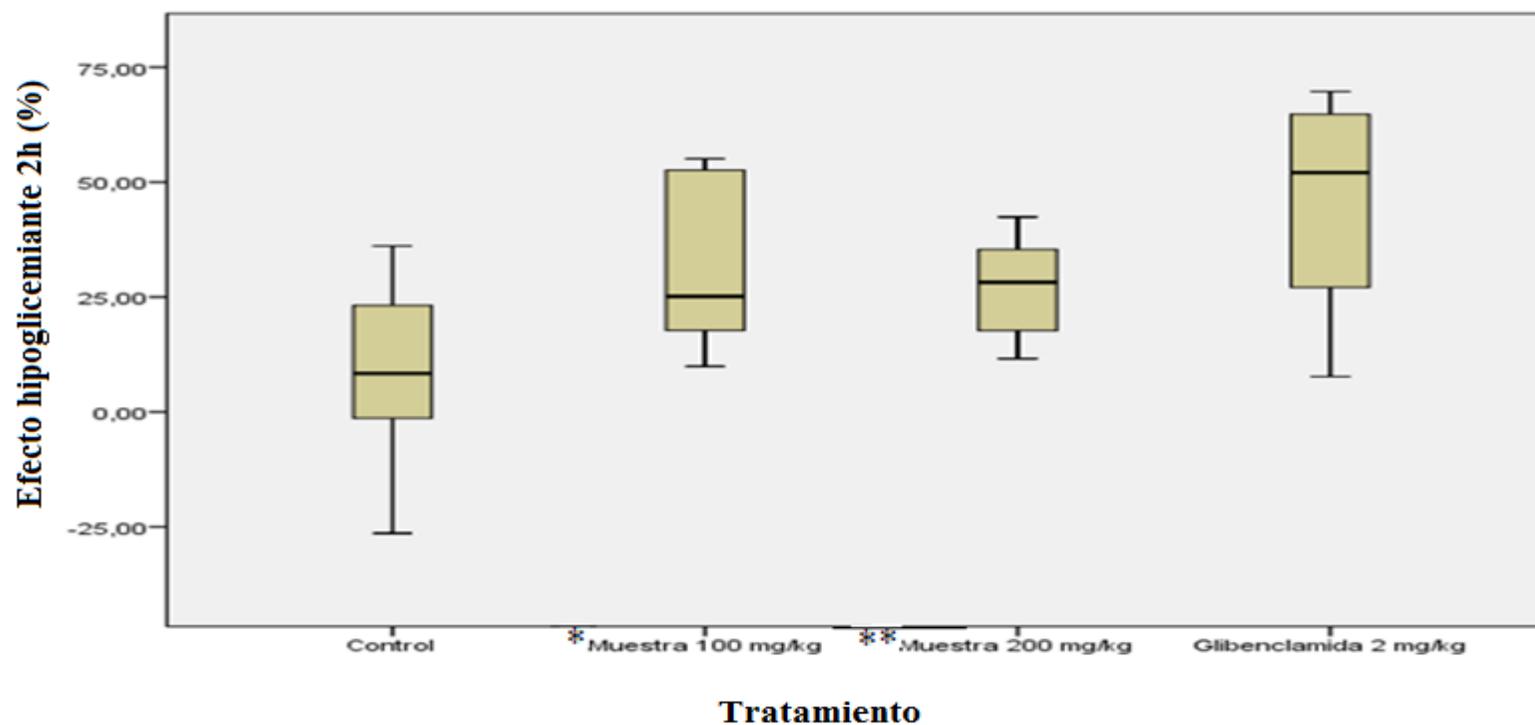


Figura 19. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 2h de iniciado el tratamiento.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 19, se observa la distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 2h de iniciado el tratamiento. El cual, no evidencia ningún comportamiento anormal de los datos, solo una mayor homogeneidad de los resultados observados en el grupo del extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en dosis de 200 mg/kg.

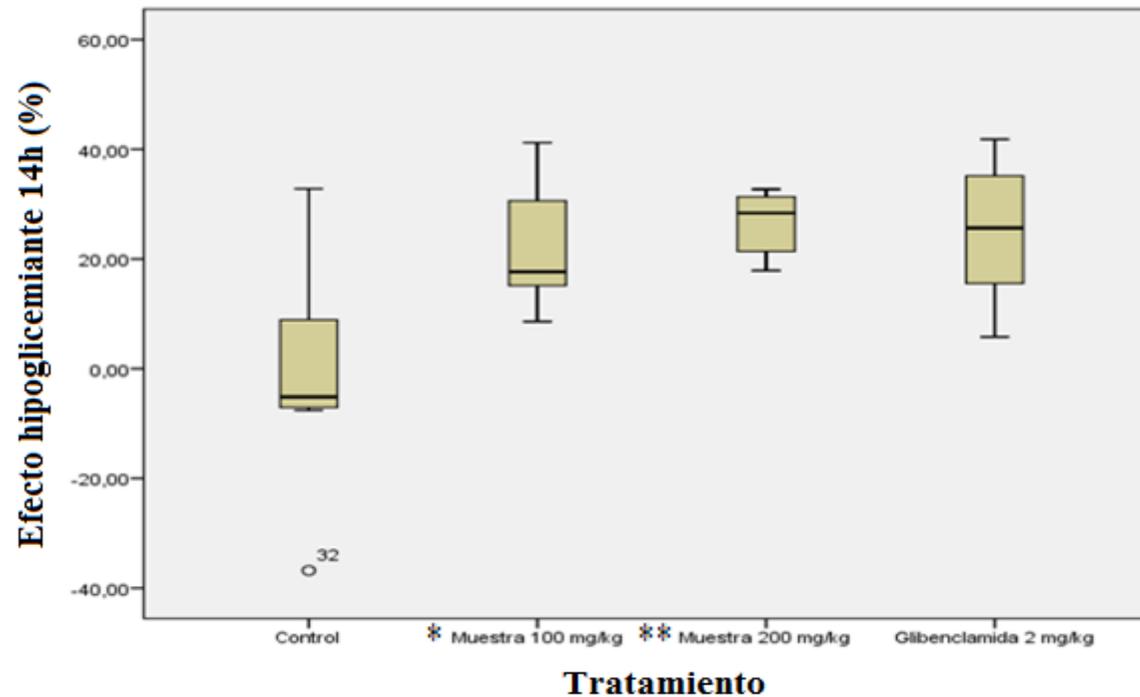


Figura 20. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 14^{va} hora de iniciado el tratamiento.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 20, se observa la distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de 14^{va} hora de iniciado el tratamiento, el cual, no evidencia ningún comportamiento anormal de los datos, de modo análogo solo una mayor homogeneidad de los resultados observados en el grupo del extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” 200 mg/kg.

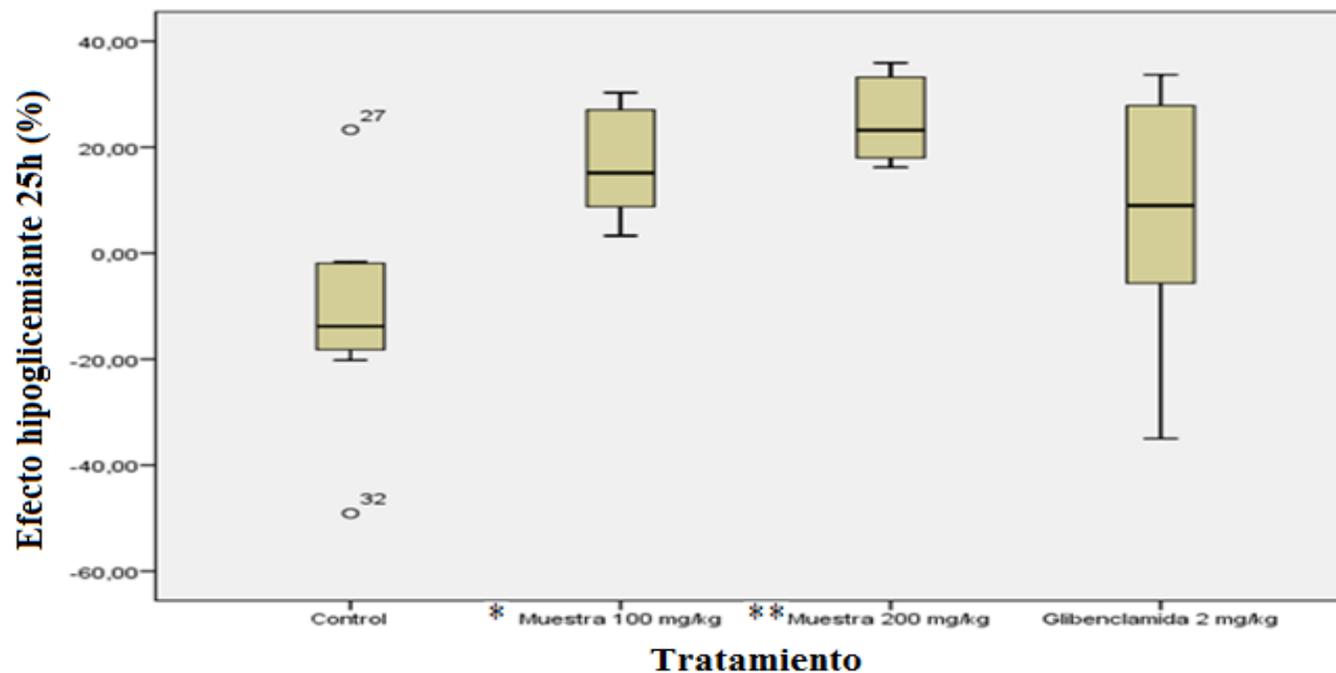


Figura 21. Distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de las 25^{va} horas de iniciado el tratamiento.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 21, se observa la distribución del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano al cabo de las 25^{va} hora de iniciado el tratamiento. El cual, no evidencia ningún comportamiento anormal de los datos, excepto algunos valores inusualmente altos y bajos en el grupo control.

Tabla 3. Estadísticas descriptivas del nivel de glucosa sanguínea mg/dL en ratones normales.

Nivel de glucosa sanguínea mg/dL									
		Glucosa basal		Glucosa post 2h		Glucosa post 14h		Glucosa post 25h	
	n	Media	D. E.	Media	D. E.	Media	D. E.	Media	D. E.
Blanco	7	125.6	46.2	127.3	49.6	119.0	27.6	123.7	7.1
Blanco Extracto Palto**	8	168.4	14.4	135.1	10.8	126.6	19.2	121.9	6.8
Blanco Glibenclamida 2mg/kg	7	160.3	37.4	83.4	23.1	106.4	18.9	143.6	4.3

Leyenda: ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 3 y la figura 22, se muestran la evolución del nivel de glucosa sanguínea mg/ dL en ratones normales tratado con el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” a dosis de 200 mg/kg y un 2^{do} grupo tratado con Glibenclamida 2 mg/kg ambos comparados con un grupo control.

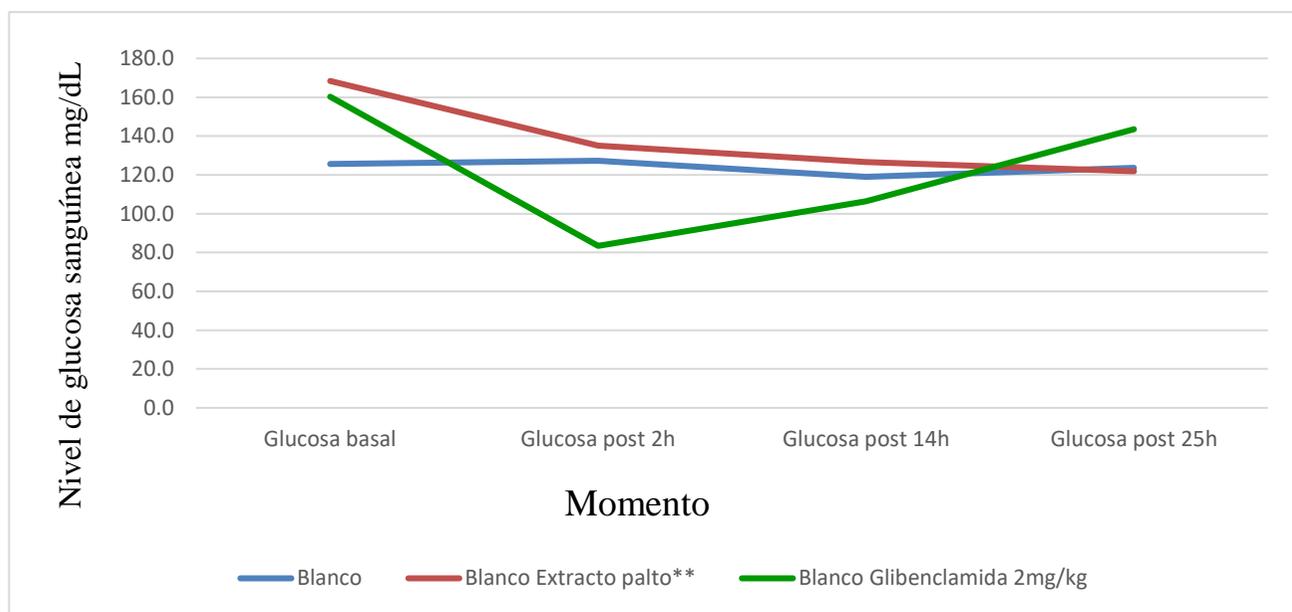


Figura 22. Nivel promedio de glucosa sanguínea mg/dL en ratones normales.

Leyenda: ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 22, se observa que al cabo de 2 horas los niveles de glucosa en sangre disminuyen en el grupo tratado con el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” de 168 a 135 mg/dL y en el caso de la glibenclamida de 160 a 83 mg/dL pero luego se nota un aumento en el caso de la glibenclamida, pero nuevamente los niveles basales de los tres grupos presentan algunas diferencias por lo que no sería adecuada una comparación en términos absolutos de la concentración de glucosa a lo largo del tiempo entre estos tres grupos. Para solucionar esta última contingencia nuevamente usaremos la variación porcentual o la disminución de la glucosa en sangre con respecto al nivel basal, de este modo trabajamos directamente con el efecto hipoglucemiante porcentual.

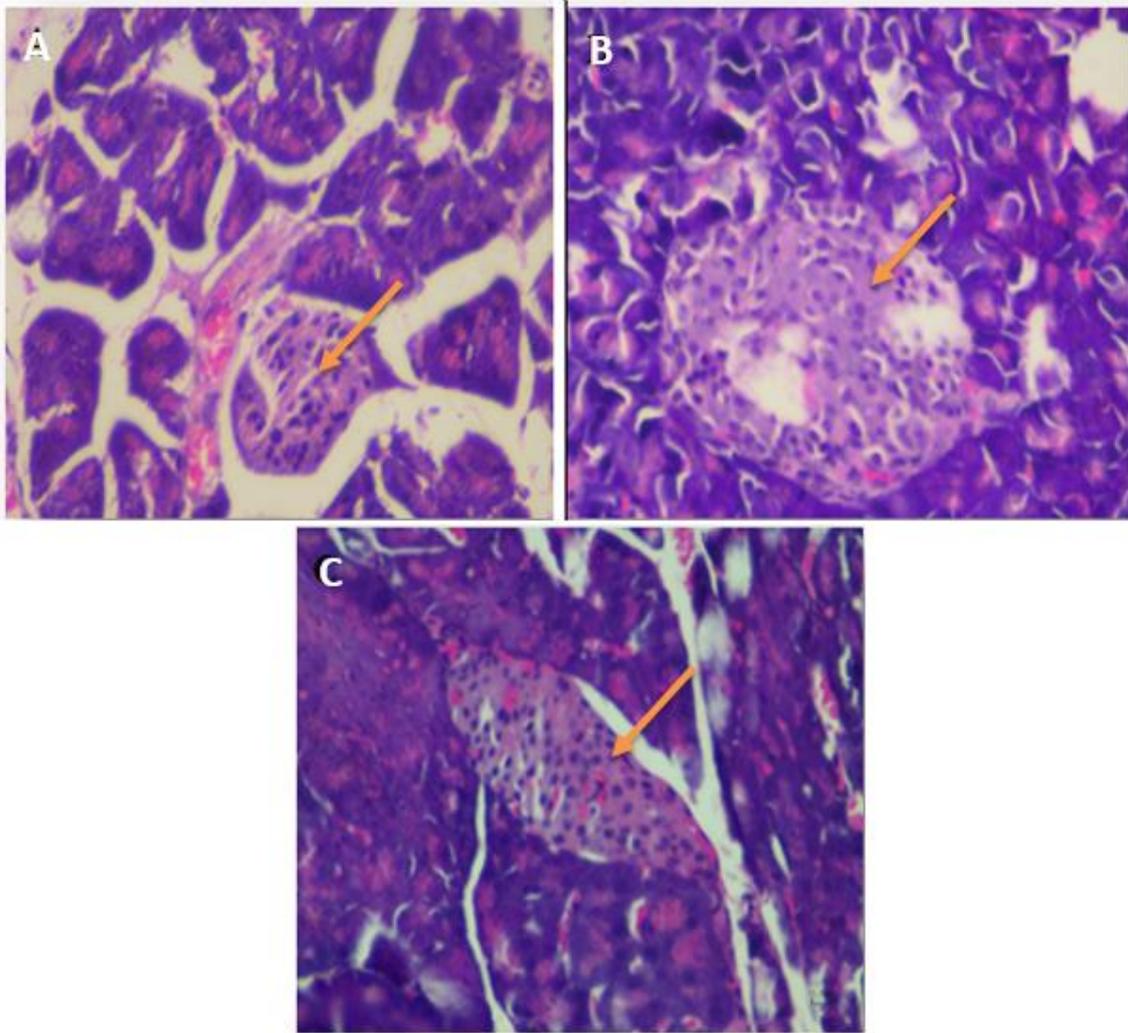


Figura 23. Microfotografías de páncreas de ratones en grupos blancos.

En la figura 23, se observa microfotografías de páncreas de ratones del grupo blanco. **A:** Grupo blanco tratado con NaCl 0,9% con dosis de 3 mL administrado por vía oral; Se observa páncreas conservado con presencia de islotes de Langerhans, visto a 400 X. **B:** Grupo blanco tratado con extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg administrado por vía oral; se observa células pancreáticas en buen estado con presencia de islotes de Langerhans, visto a 400 X. **C:** Grupo blanco tratado con Glibenclamida 2 mg/kg administrado por vía oral; se observa páncreas en proceso de lisado con presencia de islotes de Langerhans, visto a 400 X.

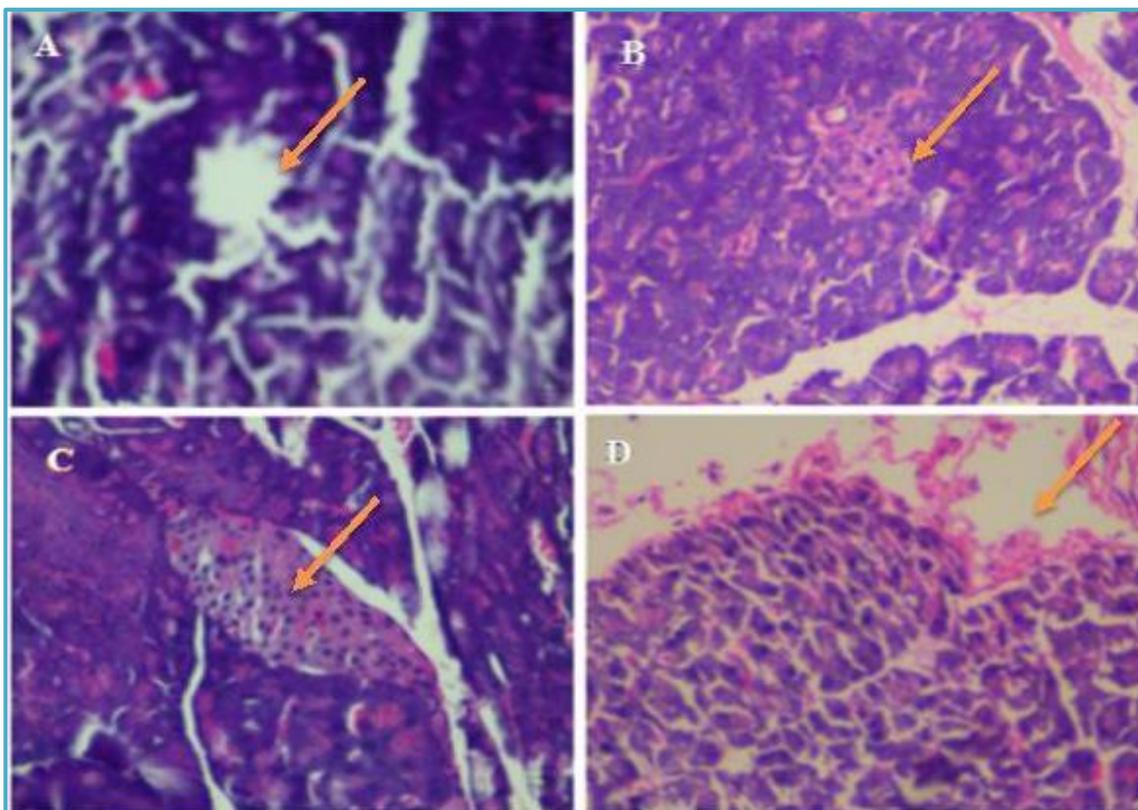


Figura 24. Microfotografías de páncreas de ratones tratados con extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración de 100 y 200 mg/kg inducidos a hiperglucemia con aloxano a 150 mg/kg.

En la figura 24, se observa microfotografías de páncreas de ratones hiperglucémicos inducidos con aloxano en dosis de 150 mg/kg los cuales recibieron los siguientes tratamientos. **A:** Grupo tratado con NaCl 0,9% con dosis de 3 mL administrado por vía oral; Se observa células pancreáticas en proceso de lisado con ausencia de islotes de Langerhans, visto a 400 X. **B:** Grupo tratado con extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg administrado por vía oral; Se observa células pancreáticas en buen estado de conservación con presencia de islotes de Langerhans de poca proporción, visto a 400 X. **C:** Grupo tratado con extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg administrado por vía oral; se observa células pancreáticas en buen estado de conservación con presencia de islotes de Langerhans mejor cuidado, visto a 400 X. **D:** Grupo tratado con Glibenclamida 2 mg/kg administrado por vía oral; Se observa células pancreáticas en buen estado sin embargo hay ausencia de islotes de Langerhans, visto a 400X.

V. DISCUSION

La preparación del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” se obtuvo un rendimiento de 320 g del extracto seco a partir de 5 kilos de semillas las cuales fueron extraídas de 20 kilos del fruto, este indicador es muy importante para la viabilidad de este trabajo debido que cada kilo de fruto llega a costar la suma de 5 soles y el fruto se encuentra durante todo el año y no se escasea lo cual concuerda con lo descrito por Ministerio de agricultura en su revista titulada Tendencias de la producción y el comercio de Palto en el mercado internacional y nacional.¹⁰ que indica que el Perú ocupa el sexto lugar de los países con mayor producción de hectáreas de esta especie.

La dosis de aloxano utilizado para inducir hiperglucemia en los ratones fue de 150 mg/kg con lo cual se logró establecer la glucemia mayor a 150 mg/dL. El cual es un indicador que los ratones presentan diabetes. Al compararlo con la dosis utilizada por Lemus M, Ramos Y, Liscano A, *et al.* Venezuela (2013)¹² y Justil C, Angulo P, Justil H. (2014).¹⁵ El cuales fue 100 mg/dL esta no producían los resultados necesarios para considerar al ratón diabético, debido que en los pilotos realizados los ratones no presentaban el aumento de glucemia adecuado para comenzar el tratamiento.

A las dos horas del tratamiento con el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración de 100 mg/kg presenta un efecto hipoglicemiante promedio de 32% el cual es estadísticamente significativo (p valor = 0,023) pero inferior a la Glibenclamida 2 mg/kg como se puede ver en la tabla 2. Lo cual no coincide con el trabajo de Justil C, Angulo P, Justil H. (2014).¹⁵ En el que indica que la glibenclamida y los extracto acuoso de *Abuta grandifolia* en dosis de 100 y 250 mg/kg tuvieron efecto hipoglicemiante; sin embargo, la dosis de 250 mg/kg tuvo mejor efecto a partir de las 6 horas y hasta las 72 horas de su administración por ello podría decir que el extracto en concentración de 100 mg/kg va realizar su efecto hipoglicemiante en menor tiempo al igual que la glibenclamida.

A las 14 horas el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración de 100 mg/kg presenta un efecto hipoglicemiante promedio de 22% el cual es estadísticamente significativo (p valor = 0,002) y comparable a la Glibenclamida 2

mg/kg la cual presenta una disminución de su efecto en este periodo como se puede observar en la tabla 2. Lo cual concuerda con la revista Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. Canadian.³⁶ Que indica que la glibenclamida presenta vida media corta la su biodisponibilidad temprana por ello presenta mejor control de la glucemia postprandial. Lo cual es buen indicador para nuestro extracto el cual tiene mayor vida media debido que su efecto se sigue manteniendo a las 14 horas de tratamiento en comparación con la glibenclamida que el efecto va descendiendo.

Luego de las 25 horas de tratamiento con el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración de 100 y 200 mg/kg presenta un efecto hipoglicemiante promedio de 17 y 25% el cual es estadísticamente significativo (p valor menor a 0,05) y comparable a la Glibenclamida 2 mg/kg como se observa en la tabla 2, la cual presenta una disminución de su efecto hasta un 7,6% se puede indicar que el extracto presenta actividad hipoglucémica lo cual se reafirma la teoría Villar Cisternas M. En su trabajo composición nutricional y componentes bioactivos de cuatro variedades de Paltas (*Persea americana*) comerciales chilenas.⁹ Donde indican que la *Persea americana* Mill tiene un fruto con alto contenido de ácido oleico el cual es el 71% del total de los ácidos grasos presentes en el fruto y son participes de la actividad hipoglicemiante lo cual se evidencia en este trabajo y lo más importante que la actividad lo realiza desde las 2 horas de tratamiento hasta las 25 horas.

Los cortes histológicos realizados al páncreas demuestran que el extracto presenta capacidad para reducir los daños en las células pancreáticas ocasionadas por el aloxano ya que las células pancreáticas se encuentran en buen estado en algunas muestras hay presencia de los islotes de Langerhans en buen estado lo cual coincide con lo descrito por Torrico M, Ramos K, Morales A, *et al*, Venezuela (2013).¹¹ Donde indican que sus resultados demuestran que el extracto acuoso de las hojas de *Croton pungens* no generó efectos tóxicos agudos ambos resultados tendrían el respaldo de Rosenberg y Vinik⁴⁹ en 1989, que indica que hasta hace pocos años se encontró que el tejido pancreático muestra cierta capacidad de regeneración. Agentes lesivos como el aloxano usados en estudios muestran que los tejidos pancreáticos tienen la capacidad de regenerarse colmo las células de los islotes de Langerhans. Lo cual sería un indicador por el cual las células pancreáticas no habrían sufrido alguna toxicidad aguda por el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto”.

VI. CONCLUSIONES.

1. Se logró obtener 320 g del extracto etanólico mediante la maceración de la semillas pulverizada y secado de las semillas de la especie *Persea americana* Mill “Palto”, el extracto es soluble en agua.
2. Se logró evaluar la actividad hipoglucemiante del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” presentando mejor efecto la concentración de 100 mg/kg a las 14 horas de tratamiento, mientras que la concentración de 200 mg/kg presenta mayor efectividad a las 25 horas de tratamiento superando el efecto de la glibenclamida.
3. Mediante el estudio histopatológico realizados al páncreas de los ratones se logró determinar que el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” tiene capacidad para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Continuar la investigación del efecto hipoglucemiante con tratamientos más prolongados para considerar un la actividad prolongada del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto”
2. Realizar estudios de toxicidad a nivel de otros órganos (hígado, estomago) para asegurar el uso de esta especie *Persea americana* Mill “Palto” sin provocar daño.
3. Continuar con los estudios de actividad hipoglicemiante con otras especies para ayudar a los millones de paciente que padecen esta enfermedad.
4. Utilizar otras técnicas para evaluar la actividad hipoglicemiante para dar más crédito y sustento a este trabajo y poder garantizar el uso de la especie *Persea americana* Mill “Palto”.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. World Health Organization. Informe mundial sobre diabetes OMS2016 - [actualizada en julio del 2017; acceso 15 de octubre 2018]. Disponible en: <https://www.who.int/diabetes/global-report/es/>.
2. Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención / Ministerio de Salud. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública. Lima: Ministerio de Salud; 2016.
3. Federación internacional de diabetes. Diabetes atlas de la FID. 8^{va} edición. 2017. - [actualizada en julio del 2017; acceso 15 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://fmdiabetes.org/atlas-idf-2017/>.
4. Naranjo Y. La diabetes mellitus: un reto para la salud pública. Revista Finlay. Cuba, 2016 - [actualizada en julio del 2019; acceso 20 de mayo 2019]. Disponible en http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2221-24342016000100001.
5. Organización mundial de la salud. Nota descriptiva diabetes. OMS.2017 - [actualizada en julio del 2017; acceso 15 de septiembre 2018].
6. International diabetes federation 2011. Global burden: prevalence and projections, 2011 and 2030. - [Actualizada en diciembre 2017; Acceso 15 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.diabetesatlas.org/ontent/diabetes-andimpairedglucose-tolerance>.
7. Tomio F. Moléculas bioativas das folhas de *Persea americana*. Universidad Federal do Paraná. Brazil. 2010 [Actualizada en diciembre 2017; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/30726/Monografia%20Fabio%20Tomio%20Yamassani.pdf?sequence=1>.
8. Instituto de Investigación y Desarrollo de Comercio Exterior de la Cámara de Comercio de Lima – IDEXCAM. Paltos. Perú. 2017. [Actualizada en diciembre 2018; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <https://www.Cámara.lima.org.pe/repositorioaps/0/0/par/estudioPaltos/Paltos.pdf>.
9. Villar M. Composición Nutricional y Componentes bioactivos de cuatro variedades de Paltos (*Persea americana*) comerciales chilenas. comparación de componentes bioactivos, cosechas. Chile.2012. [Actualizada en diciembre 2012; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/>

bitstream/handle/2250/137794/Composicionnutricional-y-componentesbioactivos-de-cuatro-variedades-de-Paltos-persea-americana.pdf; sequence=1.

10. Minagri. Tendencias de la producción y el comercio de Palto y el mercado internacional y nacional. en el mercado internacional y nacional. Peru.2015. [Actualizada en enero 2015; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://repositorio.minagri.gob.pe/bitstream/handle/MINAGRI/25/Palto%20Enero2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
11. Torrico M, Ramos K, Morales A, *et al.* Evaluación de la toxicidad aguda, actividad analgésica e hipoglicemiante del extracto acuoso de *Croton pungens* en animales experimentales. [Online]. Scientific Journal from the Experimental Faculty of Sciences, at the Universidad de Zulia Volume 21 N° 4, [Actualizada en diciembre de 2013; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: <http://produccioncientificaluz.org/index.php/ciencia/article/view/18744>.
12. Lemus M, Ramos Y, Liscano A, *et al.* Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso de *Phyllanthus niruri* (Euphorbiaceae), en ratas diabéticas. [online]. Revista Científica, vol. XXIII, núm. 1, enero-febrero, 2013, pp. 11-18 Universidad del Zulia. [actualizada en febrero del 2013; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/959/95925465004.pdf>.
13. Cárdenas E. Química y evaluación del efecto hipoglicemiante de própolis en ratones diabéticos inducidos con aloxano. [online]. Facultad de Ciencias Escuela de Química y Farmacia. Universidad Austral de Chile [actualizada en 2008; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2008/fcc266q/doc/fcc266q.pdf>.
14. Giraldo L. “Efecto del extracto etanólico del fruto de *Physalis peruviana* (“aguaymanto”) sobre la glucemia en animales de experimentación” Maestría Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014. [actualizada en 2014; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3667>.
15. Justil C, Angulo P, Justil H. Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* (Mart.) en Ratas con Diabetes Inducida por Aloxano. Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [actualizada en noviembre de 2014; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v26n2/a06v26n2.pdf>.

16. Rengifo P. Caracterización del aceite de la semilla de palta *Persea Americana* Mill. Var. Hass fuerte y medición de su actividad antioxidante. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. [actualizada en noviembre de 2014; acceso 19 de mayo 2019]. Disponible en: [http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3869/Rengifo_gp.pdf;jsessionid=E1EE64DC2265EB89CB19E29C25C6BEEA?sequence=.](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3869/Rengifo_gp.pdf;jsessionid=E1EE64DC2265EB89CB19E29C25C6BEEA?sequence=)
17. Velásquez J. Identificación del aguacate como un rubro importante de grandes oportunidades comerciales, según los acuerdos de integración, los nuevos tratados comerciales y el comercio mundial globalizado. Secretaría De Productividad Y Competitividad, Gobernación de Antioquia. Colombia. 2014.
18. Vásquez E, Medina G. La comunidad de san mateo de Otao. UNMSM/IIHS, Lima, Perú. 2010 [Actualizada en diciembre de 2010; Acceso 16 de septiembre 2018]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual_data/publicaciones/inv_sociales/N24_2010/pdf/a12.pdf.
19. Juri C. Características Generales de las Paltos. ODEPA, Oficina de Estudios y Políticas Agrarias. Gobierno De Chile. Abril 2012.
20. Cabrera A. Dematteis M. Freire S. Compositae VI. Familia Lauracea .Chile. [Sede web]. (citado noviembre 2018). Disponible en: <http://www.village.ch/cjb/fdp/claves/pdf/laur.pdf>.
21. Reynoso S. “evaluación de la actividad hipoglicemiante del extracto acuoso de semillas de alpiste (*phalaris canariensis*) en ratones (*mus musculus*) con hiperglicemia inducida” ecuador 2012. [actualizada en 2012; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2598>.
22. Asociación Americana de Diabetes. Hiperglucemia. Guía ADA el control de la glucosa en la sangre. Edición 2013. revista ADA. [online]. [acceso 18 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.diabetes.org/es/vivir-condiabetes/tratamiento-y-cuidado/el-control-de-la-glucosa-en-lasangre/hiperglucemia.html>.
23. Federación internacional de la diabetes. Atlas de la diabetes de la FID. 6^{TA} Edición. 2013. [actualizada en 2013; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: http://www.academia.edu/11095060/ATLAS_de_la_DIABETES_de_la_FID_6a_edici%C3%B3n.
24. Holman N, Young B, Gadsby R. Current prevalence of Type 1 and Type 2 diabetes in adults and children in the UK. *Diabet Med J Br Diabet Assoc* 2015; 32: 1119–

- 20;-[actualizada en 2015; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/dme.12791>.
25. Organización Mundial de la Salud (2018). Diabetes. [actualizada en 2018; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/index.html>.
26. Minsa. Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención /Ministerio de Salud. Dirección General de Intervenciones Estratégicas en Salud Pública. Dirección de Prevención de Enfermedades No Transmisibles y Oncológicas. Estrategia Sanitaria Nacional de Prevención y Control de ENT-Lima: Ministerio de Salud; 2016.
27. Flórez J, Armijo J, Mediavilla A. Farmacología humana. 3ª Edición. Masson, sección hormonas metabolismo vitaminas. Pág. 927. Barcelona.1997.
28. Peralta F, et al. Recomendaciones de la Sociedad Española de Diabetes (SED) para el tratamiento farmacológico de la hiperglucemia en la diabetes tipo 2: Actualización 2018. *Endocrinol Diabetes Nutr.* 2018. [actualizada en 2018; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2018.08>.
29. Menéndez E, Lafita F, Artola S, Millán Núñez J, García A, Puig D M, et al. Recomendaciones para el Tratamiento farmacológico de la hiperglucemia en la diabetes tipo2. *Av Diabetol* 2010; 26:331-8. [actualizada en 2013; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952011000100004.
30. Schwartz S, Epstein S, Corkey B, Grant S, Gavin J, Aguilar R. Es el momento adecuado para un nuevo sistema de clasificación para la diabetes: fundamentos e implicaciones del esquema de clasificación de células centradas en células. *Diabetes Care* 2016; 39(2):179-86. . [actualizada en 2016; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26798148>.
31. Kirpichnikov D, McFarlane S, Sowers J. Metformina: una actualización. *Annals of internal medicine* 2002; 137(1):25-33. . [actualizada en 2002; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1209324>.
32. American Diabetes Association. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment: Standards of Medical Care in Diabetes-2018. *Diabetes Care* 2018; 41(Suppl 1):S73-S85. [actualizada en 2018; acceso 25 de setiembre 2018].

Disponible en: http://care.diabetesjournals.org/content/41/Supplement_1/S73.full.pdf.

33. Boussageon R, Supper I, Bejan T, Kellou N, Cucherat M, Boissel J, *et al.* Reevaluación de la eficacia de la metformina en el tratamiento de la diabetes tipo 2: un metanálisis de ensayos controlados aleatorios. *PLoS medicine* 2012; 9(4):e1001204. [actualizada en 2012; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22509138>.
34. Aroda V, Edelstein S, Goldberg R, Knowler W, Marcovina S, Orchard T, *et al.* Uso a largo plazo de metformina y deficiencia de vitamina B12 en el estudio de resultados del programa de prevención de la diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and Metabolism* 2016; 101(4):1754-61. [actualizada en 2016; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26900641>.
35. Hirst J, Farmer A, Dyar A, Lung T, Stevens R. Estimación del efecto de la sulfonilurea en la HbA1c en la diabetes: una revisión sistemática y un metanálisis. *Diabetologia* 2013; 56(5):973-84. [actualizada en 2013; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23494446>.
36. Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health. Canadian New Drugs for Type 2. Diabetes: Second-Line. Therapy Science Report- 05-2017. [actualizada en 2017; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: https://www.cadth.ca/sites/default/files/pdf/TR0012_T2DM_Final_Recommendations.pdf.
37. Van de Laar F, Lucassen P, Akkermans R, Van de Lisdonk E, De Grauw W. Inhibidores de la alfa-glucosidasa para la diabetes mellitus tipo 2. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 2:CD003639. [actualizada en 2005; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1584667>.
38. Rinella M. Enfermedad del hígado graso no alcohólico: una revisión sistemática. *JAMA* 2015; 313(22):2263-73. [actualizada en 2015; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26057287>.
39. Gómez R, Gómez F, Rodríguez L, Formiga F, Puig M, Mediavilla JJ, *et al.* Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en pacientes ancianos. *Revista clínica española*. 2018. Tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 en el paciente anciano. pii: S0014-2565(17)30288-6. [actualizada en 2018; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2943983>.

40. Vilsboll T, Christensen M, Junker A, Knop F, Gluud L. El efecto de los agonistas del receptor péptido 1 similar al glucagón en la pérdida de peso en la diabetes tipo 2: una revisión sistemática y un metanálisis de comparación de tratamiento mixto. *BMJ* 2012; 344:d7771. [actualizada en 2012; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4487255/>.
41. Holman R, Bethel M, Mentz R, Thompson V, Lokhnygina Y, Buse J, *et al.* Efectos de la exenatida una vez por semana en los resultados cardiovasculares en la diabetes tipo 2 *N Engl J Med* 2017 Sep 28; 377(13):1228-39. [actualizada en 2017; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28910237>.
42. Mazidi M, Rezaie P, Gao H, Kengne A. Efecto de los inhibidores de cotransporte-2 de sodio-glucosa en la presión arterial en personas con diabetes mellitus tipo 2: una revisión sistemática y metanálisis de 43 ensayos de control aleatorios con 22 528 pacientes. *Journal of the American Heart Association* 2016. [actualizada en 2017; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28546454>.
43. Administration UFaD Comunicación de la FDA sobre la seguridad de los medicamentos: la FDA revisa las etiquetas de los inhibidores de SGLT2 para la diabetes e incluye advertencias sobre la presencia de demasiado ácido en la sangre y de infecciones graves del tracto urinario. (05/15/2015). [actualizada en 2015; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm446845.htm>.
44. Morgan C, Jenkins S, Evans M, Barnett A, Poole C, Currie C. ¿Pueden las personas con diabetes tipo 2 vivir más tiempo que las que no tienen? Una comparación de la mortalidad en personas iniciadas con metformina o sulfonilurea en monoterapia y controles no diabéticos pareados. 2012; 14(5):424-32. [actualizada en 2012; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25041462>.
45. Girbés J, Escalada J, Mata M, Gómez F, Artola S, Fernández D, *et al.* Consenso sobre tratamiento con insulina en la diabetes tipo 2. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición* 2018. [actualizada en 2018; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29503234>.
46. Gazda L, Charlton B, Lafferty K. Reversión de la diabetes autoinmune establecida mediante la restauración de la función de las células β endógenas. 1997; 10: 261-

70. [actualizada en 1997; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC209340/>.
47. Olvera C, Leo G, Hernández H. Páncreas y células beta: mecanismos de diferenciación, morfogénesis y especificación celular endocrina. ¿Regeneración? Universidad Autónoma de Queretaro-Mexico. 2008. [actualizada en 2008; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-11462008000400009.
48. Wolff S. Diabetes mellitus y radicales libres. Los radicales libres, metales de transición y el estrés oxidativo en la etiología de la diabetes mellitus y las complicaciones. 2006; 49: 642-52. [actualizada en 2006; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8221029>.
49. Rosenberg L, Vinik A. Inducción de la diferenciación de células endocrinas: un nuevo enfoque para el tratamiento de la diabetes. J Lab Clin Med. 1989; 114: 75-83. [actualizada en 2012; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2661699>.
50. Roche: Roche Diagnostic [Internet]. Alemania: Roche; 2013 [citado el 12 sept 2017]. Accu-check Active instrucciones de uso [aprox. 2 pantallas]. [actualizada en 2017; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://www.accuchek.com.pe/medidores-de-glucosa/active-iii>.
51. López O. Cómo funciona el glucómetro [Internet]. Diabetes bienestar y salud: 2014. [Actualizada en 2014; acceso 25 de setiembre 2018]. Disponible en: <http://www.jediazucarado.com/adios-a-los-creadores-del-glucometer>.
52. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. [Online].PubMed; 2001- [Acceso 18 de setiembre 2018]. Physiol. Res., 50: 536-546. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11829314>.
53. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 2a ed. Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú-Fondo Editorial; 1994.
54. Guide for the care and use of laboratory animals. National Research Council. Washington, DC: National Academy Press; 1996:1 - 5. [actualizada en 2012; acceso 16 de setiembre 2018]. Disponible en: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>.

55. Luna G. Manual of histologic staining methods; of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rded., McGraw-Hill Book Company. New York, USA. [online]. [acceso 18 de setiembre 2018]. Disponible en: https://books.google.com.pe/books/about/Manual_of_Histologic_Staining_Methods_of.html?id=F4UaAAAA_MAAJ&redir_esc=y.

ANEXOS.

ANEXO 1. Clasificación Taxonómica.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 214-USM-2017

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta completa) recibida de Yelson Néstor GARCIA CHAVEZ Y Dany ORTEGA PONCE; estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Norbert Wiener, ha sido estudiada y clasificada como: ***Persea americana* Mill.**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIDAE

ORDEN: LAURALES

FAMILIA: LAURACEAE

GENERO: *Persea*

ESPECIE: *Persea americana* Mill.

Nombre vulgar: "Palto"
Determinado por Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 05 de octubre de 2017

ACE/LMB


Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)



ANEXO 2. Procesamiento de Muestra Taxonómicas.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Fundada en 1535

FACULTAD DE MEDICINA
SECRETARÍA DE DIRECCIÓN

Dirección: AV. ALFONSO UGARTE NRO. 795 HOSPITAL
Teléfono: 0197300 anexo: 4741
Correo: cshloayza.medicina@unmm.edu.pe

R.U.C. N° 20148092282

BOLETA ELECTRÓNICA

B054- N° 00000373

Cliente: DANY ORTEGA PONCE

Dirección: -

Doc. Identidad: 44330320

Fecha: 13 de julio del 2018

Moneda: SOLES

Tipo: OTROS

Unidad: INSTITUTO DE PATOLOGÍA - SEDE
LOAYZA

Tipo Afect.	Cant.	Descripción	Val. Unit.	Val.Venta(*)	IGV(18%)	Imp.Venta
GRAVADA	54	PROCESAMIENTO DE MUESTRAS	8.47	457.63	82.37	540.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA Y 00/100 SOLES

(*) Sin impuestos.

(**) Incluye impuestos, de ser Op.

Op. Gravada	S/	457.63
Op. Exonerada	S/	0.00
Op. Inafecta	S/	0.00
I.G.V.	S/	82.37
Importe Total	S/	540.00



ANEXO 3. Operacionalización de Variables.

	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
I N D E P E N D I E N T E	Extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana Mill</i> “Palto”.	El extracto es una sustancia obtenida por extracción de una parte de una materia prima, a menudo usando un solvente como etanol. La especie de <i>Persea americana Mill</i> “Palto” se encuentra ubicada en el departamento Lima, provincia Huarochirí, distrito de San Mateo De Otao, anexo San Francisco De Puruhuay que se encuentra a 1252 msnm.	Para la extracción etanólico de las semillas de <i>Persea americana Mill</i> “Palto”, se recolecto 20 kg de fruto de la Palto, se extrajo 5kg de semilla se trituro, se secó a temperatura ambiente, se molió hasta polvo fino y se deseco en la estufa. Para la extracción se macero las semillas molidas y secas, en alcohol de 70° por 7 días, en este proceso se utilizó un frasco ámbar y se agito.	Color: Marrón. Olor: Característico. Impido: Opaco. Textura: Espeso poco aceitoso.

	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
D E P E N D I E N T E	Actividad hipoglicemiante	El efecto hipoglicémico es la acción de disminuir o inhibir los niveles altos de azúcar en la sangre. El alto nivel de glucemia aparece cuando el organismo no cuenta con la suficiente cantidad de insulina o cuando la cantidad de insulina es muy escasa.	Se utilizó el método de Szkudelski, (2001) ⁵² . La inducción de la diabetes mellitus en el ratón albinos de 2 meses de edad con mayor de 30 g. de peso corporal de ambos sexos (cepa <i>Balb/c</i> /C53/CNPB) se realizó mediante la inyección intraperitoneal de aloxano al 2% en suero fisiológico, en una dosis de 150 mg/kg.	Nivel de glucosa mayor de 150 g/dL en ratones aplicados con aloxano.

	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
D E P E N D I E N T E	Evaluación de la capacidad del extracto etanólico de la semilla de <i>Persea americana</i> Mill “Palto” para reducir el daño histológico en células β pancreáticas.	Daños en células β pancreáticas incluye los efectos nocivos que se manifiestan durante un período dado, después de la administración de una dosis determinada de una sustancia en estudio.	Para esta evaluación se utilizó el método de Luna, G. (1968) ⁵⁵ . Que indica que los animales serán sacrificados por dislocación cervical, retirándosele el páncreas, el que será conservado en solución de formol al 10% para su posterior estudio histopatológico.	Muestras de órganos blandos de ratones.

ANEXO 4. Estadística de los resultados obtenidos.

Tabla 4. Pruebas de normalidad de del efecto hipoglucemiante (disminución porcentual de glucosa) en ratones diabéticos inducidos con aloxano según tratamiento.

Tratamientos		Kolmogórov-Smirnov			Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p valor	Estadístico	gl	p valor
Efecto hipoglicemiante 2h (%)	Control	0.17	8	0,200*	0.96	8	0.834
	Muestra 100 mg/kg	0.21	8	0,200	0.86	8	0.113
	**Muestra 200 mg/kg	0.18	8	0,200*	0.93	8	0.519
	Glibenclamida 2 mg/kg	0.26	8	0.118	0.83	8	0.054
Efecto hipoglicemiante 14h (%)	Control	0.25	8	0.148	0.93	8	0.513
	*Muestra 100 mg/kg	0.29	8	0.043	0.82	8	0.045
	**Muestra 200 mg/kg	0.25	8	0.168	0.87	8	0.160
	Glibenclamida 2 mg/kg	0.16	8	0,200*	0.96	8	0.797
Efecto hipoglicemiante 25h (%)	Control	0.21	8	0,200*	0.94	8	0.581
	Muestra 100 mg/kg	0.19	8	0,200	0.93	8	0.481
	**Muestra 200 mg/kg	0.21	8	0,200*	0.88	8	0.196
	Glibenclamida 2 mg/kg	0.15	8	0,200*	0.94	8	0.601

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 4, se observa mediante las pruebas de Kolmogórov-Smirnov y Shapiro-Wilk proporcionadas por el SPSS versión 24,0 que la variación porcentual de los niveles de glucosa en sangre de ratones albinos tiene una distribución normal (p valor mayor a 0,05) a excepción de la muestra del extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg. A las 14^{va} horas, por lo cual podremos aplicar una prueba paramétrica ANOVA.

Tabla 5. ANOVA del efecto hipoglucemiante en ratones diabéticos inducidos con aloxano.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p valor
Efecto hipoglicemiante 2h (%)	Entre grupos	5583.5	3	1861.2	5.0	0.007
	Dentro de grupos	10396.0	28	371.3		
	Total	15979.5	31			
Efecto hipoglicemiante 14h (%)	Entre grupos	4109.8	3	1369.9	7.5	0.001
	Dentro de grupos	5103.9	28	182.3		
	Total	9213.7	31			
Efecto hipoglicemiante 25h (%)	Entre grupos	6017.3	3	2005.8	7.1	0.001
	Dentro de grupos	7911.2	28	282.5		
	Total	13928.5	31			

En la tabla 5, se observa que existe al menos un grupo que presenta efectos hipoglucemiantes significativos al cabo de dos horas (p valor = 0,007), de catorce horas (p valor= 0,001) y veinticinco horas (p valor=0,001), para establecer cuál de los tratamientos presenta mayor eficacia realizaremos comparaciones múltiples mediante la técnica DMS.

Tabla 6. Comparaciones múltiples diferencias mínimas significativas.

Variable dependiente		Diferencia de medias (I-J)		p valor
Efecto hipoglicemiante 2h (%)	Control	*Muestra 100 mg/kg	-23.23°	0.023
		**Muestra 200 mg/kg	-18.30	0.068
	Glibenclamida 2 mg/kg	*Muestra 100 mg/kg	13.65	0.168
		**Muestra 200 mg/kg	18.59	0.064
Efecto hipoglicemiante 14h (%)	Control	*Muestra 100 mg/kg	-23.40°	0.002
		**Muestra 200 mg/kg	-27.93°	0.000
	Glibenclamida 2 mg/kg	*Muestra 100 mg/kg	2.96	0.664
		**Muestra 200 mg/kg	-1.58	0.817
Efecto hipoglicemiante 25h (%)	Control	*Muestra 100 mg/kg	-28.65°	0.002
		**Muestra 200 mg/kg	-36.81°	0.000
	Glibenclamida 2 mg/kg	*Muestra 100 mg/kg	-9.31	0.277
		**Muestra 200 mg/kg	-17.47°	0.047

Leyenda: °. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0,05. * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 6, se observa que a 2 horas de iniciado el tratamiento el grupo tratado con el extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg. Presenta un efecto hipoglicemiante 2h (%) diferente al grupo control (p valor = 0,023), el cual es comparable a la Glibenclamida 2 mg/kg. Mientras que el extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración de 200 mg/kg no es significativa al 5% (p valor =0,068). Al cabo de la 14^{va} horas ambos extracto en dosis de 100 y 200 mg /kg presentan efecto hipoglicemiante (%) diferente al grupo control (p valor menor a 0,05) y también comparables a la Glibenclamida 2 mg/kg. Finalmente, a la 25^{va} únicamente el extracto en concentración de 200 mg/kg presenta un efecto hipoglicemiante (%) significativamente superior a la Glibenclamida 2 mg/kg.

Tabla 7. Estadísticas descriptivas del peso de ratones diabéticos inducidos con aloxano.

Tratamientos	n	Peso inicial (gr)		Peso final (gr)		Diferencia peso	
		Media	D. E.	Media	D. E.	Media	D. E.
Control	8	33.5	2.6	32.5	2.5	1.1	0.5
*Muestra 100 mg/kg	8	37.8	4.7	35.0	3.9	2.9	4.8
**Muestra 200 mg/kg	8	37.4	3.9	34.7	3.6	2.7	1.8
Glibenclamida 2 mg/kg	8	35.4	4.3	32.6	2.2	2.8	4.3

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.

** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 7, se puede observar los pesos de los ratones albinos inducidos con aloxano antes y al final del experimento, en los cuatro grupos se observa una disminución en los pesos promedio, en el caso del grupo control la disminución es mínima 1,1 gramos, mientras que en el grupo tratados con extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” a 100 mg/kg dicha diferencia alcanza en promedio los 2,9 gramos, además de esto se presentan las desviaciones estándar (D.E.).

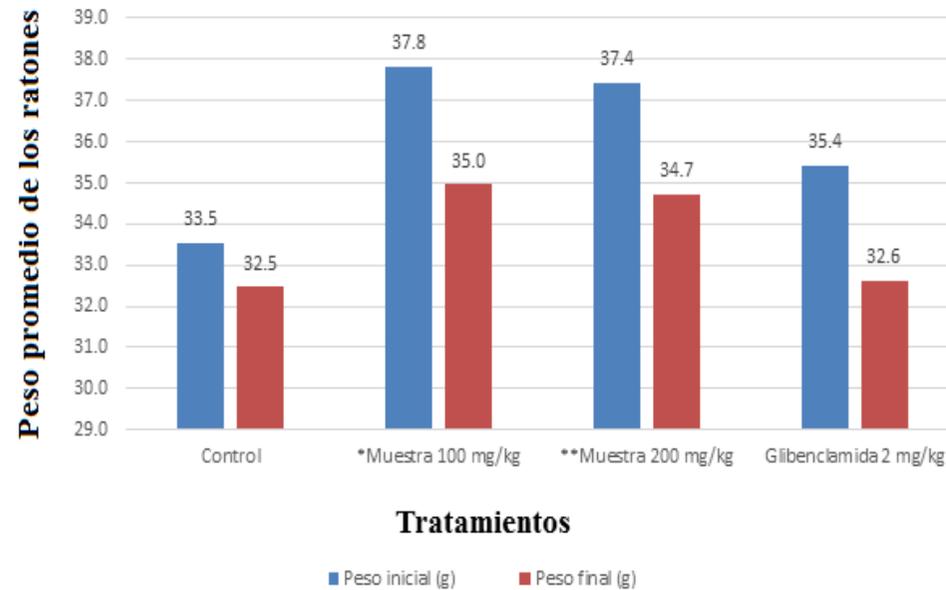


Figura 25. Peso promedio inicial y final de ratones diabéticos inducidos con aloxano según tratamiento.

Leyenda: * Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 100 mg/kg.
 ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 25, se observa el peso promedio inicial y final de ratones diabéticos inducidos con aloxano según el tratamiento recibido los cuales se observan una disminución en promedio de 2,9 g y la muestra control presenta una disminución del peso promedio en 1,1 g.

Tabla 8. ANOVA del peso de ratones diabéticos inducidos con aloxano.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p valor
Peso inicial (g)	Entre grupos	94.1	3	31.4	1.997	0.137
	Dentro de grupos	439.7	28	15.7		
	Total	533.8	31			
Peso final (g)	Entre grupos	42.6	3	14.2	1.451	0.249
	Dentro de grupos	274.2	28	9.8		
	Total	316.8	31			
Diferencia de peso	Entre grupos	18.0	3	6.0	0.531	0.665
	Dentro de grupos	315.7	28	11.3		
	Total	333.7	31			

En la tabla 8, se observa que las diferencias o disminución de los pesos observados en los ratones diabéticos inducidos con aloxano no son estadísticamente significativo en ningún periodo de tiempo (p valor mayor a 0,05), es decir no se puede concluir que los tratamientos produzcan una pérdida de peso.

Tabla 9. Estadísticas descriptivas del efecto hipoglucemiante % (disminución porcentual de glucosa) en ratones normales.

Efecto hipoglucemiante %							
		2h		14h		25h	
	n	Media	D. E.	Media	D. E.	Media	D. E.
Blanco	7	-0.8	10.7	-0.2	18.9	-8.3	32.9
Blanco Extracto Palto**	8	19.7	2.3	25.1	6.9	27.7	7.5
Blanco Glibenclamida 2 mg/kg	7	45.4	17.4	29.4	23.6	1.2	48.1

Leyenda: ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 9, se observa que los valores cercanos a cero en el grupo control, mientras que al cabo de 2 horas la Glibenclamida 2 mg/kg presenta un efecto promedio del 45,4% el cual es superior al extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” a dosis de 200 mg/kg con solo 19,7%. No obstante al cabo de 14 horas la glibenclamida pierde potencia y por el contrario el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” aumenta hasta 25,1% y llega hasta 27,7 % al cabo de 25 horas. Estos resultados se ilustran en la figura 25.

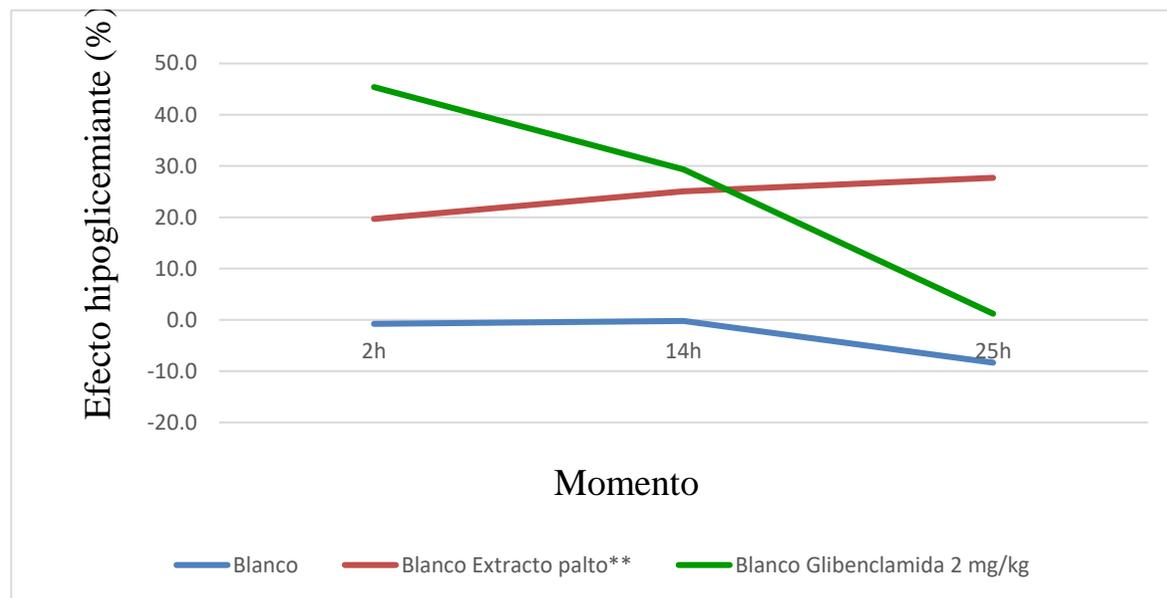


Figura 26. Efecto hipoglucemiante % promedio en ratones normales.

Leyenda: ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la figura 26, se observa el efecto hipoglucemiante en porcentaje el promedio en ratones normales. Donde a las 2horas la glibenclamida es superior con 45,4%, al cabo de 14 horas el extracto de *Persea americana* Mill “Palto” a 200 mg/kg aumenta su efecto al punto de comparación con la glibenclamida (25,1%-29,4%) y a las 25 horas el extracto de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg produce mayor efecto que la muestra de glibenclamida (27,7%-1,2%).

Tabla 10. Prueba de Kruskal Wallis del efecto hipoglucemiante % (disminución porcentual de glucosa) en ratones normales por horas.

	Efecto hipoglucemiante 2h (%)	Efecto hipoglucemiante 14h (%)	Efecto hipoglucemiante 25h (%)
Chi-cuadrado	17.213	11.354	9.529
gl	2	2	2
Sig. asintótica	0.000	0.003	0.009

En la tabla 10, se observa la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para probar si alguno de los grupos presenta un efecto hipoglucemiante significativo. La aplicación de esta prueba obedece a que no se pudo probar la normalidad de los datos. Los resultados mostrados por el SPSS versión 24,0 en esta prueba evidencian un efecto hipoglucemiante de alguno de los dos tratamientos al cabo de 2, 14 y 25 horas. (p valor menor a 0,05).

Tabla 11. Comparaciones múltiples Games-Howell efecto hipoglicemiante %.

Variable dependiente Efecto hipoglicemiante %			Diferencia de medias (I-J)	Sig.
Efecto hipoglicemiante 2h (%)	Blanco	Extracto Palto**	-20.44*	0.005
	Glibenclamida 2 mg/kg	Extracto Palto**	25.71*	0.018
Efecto hipoglicemiante 14h (%)	Blanco	Extracto Palto**	-25.30*	0.027
	Glibenclamida 2 mg/kg	Extracto Palto**	4.26	0.891
Efecto hipoglicemiante 25h (%)	Blanco	Extracto Palto**	-36.04	0.061
	Glibenclamida 2 mg/kg	Extracto Palto**	-26.50	0.378

Leyenda: ** Extracto etanólico de *Persea americana* Mill “Palto” en concentración 200 mg/kg.

En la tabla 11, se observa que el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” en dosis de 200 mg/kg la cual presenta un efecto hipoglucemiante estadísticamente significativo al cabo de 2 horas (p valor = 0,005) pero inferior al proporcionado por la Glibenclamida 2 mg/kg, al cabo de 14 horas se mantiene el efecto del extracto y es comparable a la Glibenclamida 2 mg/kg, finalmente a las 25 horas el efecto del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Mill “Palto” a 200 mg/kg, disminuye al igual que la Glibenclamida 2 mg/kg.