

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN HUMANA



**“EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE DOS VARIEDADES DE
MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): NEGRA Y
AMARILLA EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS INDUCIDAS POR
ALOXANO, PUNO 2016”**

TESIS

PRESENTADO POR:

YENY LAURA CHIRINOS

WILLIAM TORRES MIRAMIRA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN NUTRICIÓN HUMANA

PUNO - PERÚ

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN HUMANA

“EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE DOS VARIEDADES DE MASHUA
(*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): NEGRA Y AMARILLA EN RATAS
WISTAR DIABÉTICAS INDUCIDAS POR ALOXANO, PUNO 2016”

TESIS PRESENTADA POR:

YENY LAURA CHIRINOS
WILLIAM TORRES MIRAMIRA

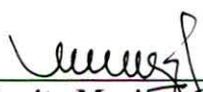


PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

LICENCIADO EN NUTRICIÓN HUMANA

APROBADA POR EL JURADO REVISADOR CONFORMADO POR:

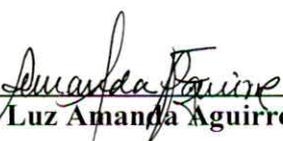
PRESIDENTE:


Dra. Benita Maritza Choque Quispe

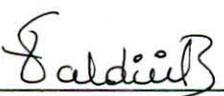
PRIMER MIEMBRO:


M. Sc. Adelaida Giovanna Viza Salas

SEGUNDO MIEMBRO:


M. Sc. Luz Amanda Aguirre Florez

DIRECTOR / ASESOR:


Mg. Tatiana Paulina Valdivia Barra

ÁREA: PROCESOS Y CONTROL DE ALIMENTOS

TEMA: FORMULACIÓN DE MEZCLAS NUTRITIVAS E INNOVACIÓN TECNOLÓGICA

FECHA DE SUSTENTACIÓN: 27 DE DICIEMBRE DEL 2017

DEDICATORIA

A dios, quien guía mi camino todos los días de mi vida, fortaleciendo mi mente, espíritu y corazón, que para mí es lo más divino que existe en el universo. También por permitirme formar parte de la profesión de nutrición humana.

Al invaluable apoyo e inspiración que generan mis padres, Vicente y Julia; por darme todo lo que soy como persona, ético y moral. Me han enseñado a no desistir a pesar de las adversidades que se presentan en la vida, y todo ello con una gran dosis de amor, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome, por todo esto agradezco de todo corazón el que estén conmigo a mi lado.

A mis hermanos, Yony y Mary Luz; por la compañía y el apoyo que me brindan. Sé que cuento con ellos siempre y espero ser un buen ejemplo para ellos.

A toda mi familia maravillosa mi abuelito Tiburcio, tías y tíos gracias por estar conmigo, apoyándome y sus consejos.

A Lener Wilver; por su amor, sus consejos, por enseñarme a que las cosas hay que realizarlas siempre de la mejor manera y a no tener miedo, sino enfrentarlas y conseguirlas con éxito.

Yeny Laura Chirinos

A mi madre Rosa Elvira

Por el apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ella.

A mis Hermanos.

A mi hermano Jorge por ser el ejemplo de un hermano mayor y de la cual aprendí aciertos y de momentos difíciles, a mi hermana Yeny Esther, a mi hermano Lincer y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Gracias a ustedes!

William Torres Miramira

AGRADECIMIENTO

Deseamos expresar nuestras más sinceras muestras de agradecimiento a:

Primero damos infinitamente gracias a Dios, por habernos dado fuerza y valor para terminar nuestros estudios. Esta tesis está dedicada a nuestros padres, a quienes les agradecemos de todo corazón por su amor, cariño, paciencia y comprensión.

Al mega laboratorio de la UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO. Al laboratorio de transformación y procesamiento de alimentos, laboratorio de análisis y control de alimentos, laboratorio de investigación de la ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN HUMANA, a todos ellos por facilitarnos sus instalaciones, equipos y materiales necesarios, para así poder desarrollar nuestro proyecto de tesis.

A nuestro Directora de Tesis, Mg. Tatiana Paulina Valdivia Barra, por los conocimientos, orientaciones y principalmente por su disposición durante el desarrollo de esta tesis, que han sido fundamentales para llevar cabo el presente trabajo de investigación.

A los miembros del jurado examinador de la presente tesis: Dr. Benita Maritza Choque Quispe, M.Sc. Adelaida Giovanna Viza Salas y M. Sc. Luz Amanda Aguirre Flores por sus exigencias en la redacción y revisión de nuestro proyecto de tesis.

A todos los docentes por sus enseñanzas para nuestro desarrollo profesional.

Agradecemos a nuestros amigos y amigas que siempre nos apoyaron moralmente.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	6
ÍNDICE DE TABLAS	7
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	10
RESUMEN.....	11
ABSTRACT.....	12
I. INTRODUCCION	13
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	14
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	17
1.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN	17
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	17
1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN	18
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	19
2.1. ANTECEDENTES.....	19
2.2. MARCO TEÓRICO.....	23
2.3. MARCO CONCEPTUAL.....	68
III. MATERIALES Y METODOS	71
3.1. TIPO DE ESTUDIO	71
3.2. ÁMBITO DE ESTUDIO.....	71
3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DEL ESTUDIO	71
3.4. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRA	72
3.5. VARIABLES DE ESTUDIO	73
3.6. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO	74
3.7. MATERIALES	80
3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL	82
3.9. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS	83
3.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS	84
3.10. DISEÑO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	85
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	86
V. CONCLUSIONES	107
VI. RECOMENDACIONES	108
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	109
ANEXOS	124

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1:	FOLLAJE Y FLORES DE MASHUA (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón)	26
FIGURA N° 2:	ALGUNAS VARIEDADES DE MASHUA	28
FIGURA N° 3:	SISTEMA DE CULTIVO DE PAPA (CUADRADO)-MASHUA (TRIANGULO) EN LOS ANDES PERUANOS	29
FIGURA N° 4:	FASES FENOLÓGICAS DE LA MASHUA	30
FIGURA N° 5:	FLAVONOIDES. ESTRUCTURA BÁSICA Y TIPOS.....	39
FIGURA N° 6:	ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS	40
FIGURA N° 7:	GENOTIPOS DE MASHUA NEGRA	41
FIGURA N° 8:	FISIOLOGÍA DEL PÁNCREAS.....	46
FIGURA N° 9:	PROINSULINA E INSULINA	47
FIGURA N° 10:	MÉTODO DE SUJECCIÓN DE LA RATA DURANTE PERIODOS CORTOS.....	62
FIGURA N° 11:	MÉTODO DE SUJECCIÓN DE LA RATA.....	63
FIGURA N° 12:	FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE LA OBTENCIÓN DE EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA MASHUA (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruíz y Pavón)	75
FIGURA N° 13:	ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA PARA ENSAYO DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE	82

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1:	NOMBRES DE VARIEDADES (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón).....	27
TABLA N° 2:	VARIABLES DE PRODUCCIÓN DE MASHUA, SEGÚN CAMPAÑAS AGRÍCOLAS (2000-2001) - (2009-2010) EN LA REGIÓN PUNO	32
TABLA N° 3:	COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MASHUA (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón)	33
TABLA N° 4:	CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS SEGÚN SU GRADO DE COMPLEJIDAD	36
TABLA N° 5:	COMPUESTOS FENÓLICOS “NO FLAVONOIDES”	37
TABLA N° 6:	COMPUESTOS FENÓLICOS “FLAVONOIDES”	38
TABLA N° 7:	EFFECTOS DE LA INSULINA Y EL GLUCAGÓN SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA, LOS LÍPIDOS Y LAS PROTEÍNAS	48
TABLA N° 8:	CONDICIONES PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA (TTOG)	54
TABLA N° 9:	HIPOGLUCEMIANTES ORALES	57
TABLA N° 10:	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS RATAS WISTAR..	61
TABLA N° 11:	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	73
TABLA N° 12:	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA BASAL, INICIAL, DURANTE Y FINAL EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.	86
TABLA N° 13:	CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DURANTE EL TRATAMIENTO DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES	92
TABLA N° 14:	EFFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 50 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.	96

TABLA N° 15: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 100 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS	98
TABLA N° 16: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA AMARILLA CHAUCHA (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 50 mg/kg/d Y 100 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.....	101
TABLA N° 17: COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA FINAL DEL GRUPO CONTROL POSITIVO CON LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.....	104

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1: CONCENTRACIÓN GLUCOSA BASAL EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.	88
GRÁFICO N° 2: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA BASAL Y VALORES DE GLUCOSA INICIAL (HIPERGLUCEMIA) EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.	90
GRÁFICO N° 3: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA FINAL EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.	94
GRÁFICO N° 4: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 50 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS	96
GRÁFICO N° 5: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 100 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS	98
GRÁFICO N° 6: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA AMARILLA CHAUCHA (Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón) A DOSIS DE 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.....	101

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

INIA:	Instituto Nacional de Innovación Agraria
AOE:	Eficiente antioxidante
AT:	Antocianinas totales
PT:	Polifenoles
PF:	Peso fresco
CIP:	Centro Internacional de la Papa
HAC:	Capacidad antioxidante hidrofílica
LAC:	Capacidad antioxidante lipofílica
THP:	Compuestos fenólicos
LDL:	Lipoproteínas de baja densidad
H₂O₂:	Peróxido de hidrógeno
ROO:	Radicales peróxido
O₂·:	Superóxido
-OH:	Hidroxilo
HCO₃⁻:	Bicarbonato
GLUT 2:	Transportadora de glucosa
ATP:	Adenosín trifosfato
ADP:	Adenosín difosfato
DM1:	Diabetes mellitus 1
DM2:	Diabetes mellitus 2
HDL:	Lipoproteínas de alta densidad
OMS:	Organización mundial de la salud
SM:	Síndrome metabólico
GBP:	Glucemia basal en plasma venoso
HbA1c:	Hemoglobina glicosilada
GCP:	Grupo Control Positivo
GE1:	Grupo Experimental 1
GE2:	Grupo Experimental 2
GE3:	Grupo Experimental 3
GE4:	Grupo Experimental 4
EAL:	Extracto Acuoso Liofilizado

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación, el objetivo de estudio fue determinar el efecto hipoglucemiante de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) negra y amarilla chaucha en ratas wistar diabéticas inducidas por aloxano, mediante el estudio de tipo experimental. Los extractos acuosos liofilizados se administraron por vía oral después de 72 horas post inducción a diabetes experimental con aloxano al 5% (vía subcutánea) a dosis de 100 mg/kg a ratas wistar adultas de ambos sexos, con un peso promedio de 246 gr, con previo ayuno de 12 horas. Fueron asignadas 36 ratas aleatoriamente distribuidos en 5 grupos; un grupo control positivo (4 ratas) tratadas con insulina lantus 30 UI interdiario, 4 grupos experimentales (2 y 3 [8 ratas de ambos sexos en cada grupo] tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua negra en dosis de 50 y 100 mg/kg/d) y (4 y 5 [8 ratas de ambos sexos en cada grupo] tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua amarilla chaucha en dosis de 50 y 100 mg/kg/d), Se realizó una determinación de glucosa (basal), glucosa post inducción (hiperglucemia), glucosa después de los respectivos tratamientos (días 7, 14, 21) y glucosa final (día 28). Según los resultados obtenidos, el grupo tratados con extracto acuoso liofilizado de mashua negra a dosis de 100 mg/kg/d, disminuyeron satisfactoriamente la concentración de glucosa hasta tener los mismos valores del grupo control positivo en 51.1% respectivamente, encontrándose resultados estadísticamente significativos ($p < 0.05$) y en dosis de 50 mg/kg/d, la disminución de la concentración de glucosa final fue de 43 % desde la hiperglucemia inducida, encontrándose estadísticamente significativos ($p < 0.05$). Por otro lado, las ratas wistar hiperglucémicas tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua amarilla chaucha, la disminución de concentración de glucosa fueron de 23 % y 16 % en las dosis de 100 y 50 mg/kg/d respectivamente, encontrándose resultados estadísticamente no significativos ($p > 0.05$), comparado con la concentración de glucosa inicial (hiperglucemia). Se concluye que el extracto acuoso liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) en su variedad de negra presentó actividad hipoglucemiante estadísticamente significativa a dosis de 100 mg/kg/d y un menor porcentaje a dosis de 50 mg/kg/d.

PALABRAS CLAVE: Hipoglucemiante, glucemia, Diabetes mellitus, *Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón* y antocianina

ABSTRACT

In this research work, the aim of study was to determine the effect glucose lowering of two varieties of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) black and yellow chaucha in diabetic wistar rats induced by alloxan, through the study of experimental type. The freeze-dried aqueous extracts were administered orally after 72 hours post induction of experimental diabetes with alloxan 5% (via subcutaneous) doses of 100 mg/kg to adult wistar rats of both sexes, with an average weight of 246 gr, with prior fasting for 12 hours. Were assigned 36 rats divided randomly into 5 groups; a group (4 rats) positive control treated with insulin lantus interdiario 30 IU, 4 experimental groups (2 and 3 [8 rats of both sexes in each group] treated with freeze-dried aqueous extract of black mashua in doses of 50 and 100 mg/kg/d) and (4 and 5 [8 rats of both sexes in cad) Group] treated with freeze-dried aqueous extract of chaucha yellow mashua in doses of 50 and 100 mg/kg/d), was a determination of glucose (basal), post glucose (hyperglycemia) induction, glucose after the respective treatments (7, 14, 21 days) and glucose final (day 28). According to the results, the group treated with freeze-dried aqueous extract of black mashua at doses of 100 mg/kg/d, successfully decreased glucose concentration up to have the same values in the positive control group 51.1% respectively, finding statistically significant results ($p < 0.05$) and at doses of 50 mg/kg/d, final glucose concentration decrease was 43% from hyperglycemia induced, found statistically significant ($p < 0.05$). On the other hand, rats wistar Hyperglycemic treated with freeze-dried aqueous extract of chaucha yellow mashua, the decrease in glucose concentration were 23% and 16% at doses of 50 and 100 mg/kg/d respectively finding results statistically not significant ($p > 0.05$), relative to the concentration of initial glucose (hyperglycemia). It is concluded that the freeze-dried aqueous extract of mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavon) in its variety of black presented activity statistically significant hypoglycemic at doses of 100 mg/kg/d and a lower dose of 50 mg/kg/d.

Keywords: Glucose-lowering, glucose, Diabetes mellitus, *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavon and anthocyanin

I. INTRODUCCION

La fitoterapia o tratamiento con las plantas medicinales está siendo cada vez más aceptada en los diferentes estratos sociales alcanzando un auge insospechado. A pesar de tener una historia larga. Historia de saber popular, ha sido menospreciada por los profesionales de la salud ⁽¹⁾. Para que la Fitoterapia tenga en el tercer milenio el papel que merece en la Terapia, es necesario hacer un uso racional de los medicamentos a base de plantas ⁽²⁾, para ello existen diversas perspectivas que deben entrelazarse en una visión integral que permita el desarrollo de una agenda para el adecuado uso de las plantas medicinales. Sin duda la más inmediata es la de la investigación de sus propiedades para luego identificar fracciones significativas con actividad comprobada, y aún más, principios activos que posteriormente podrían incorporarse directamente en la terapéutica.

Ejemplo de ello podemos referirnos a la mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*), la cual con el proyecto de investigación pretende rendir homenaje a los alimentos originarios de nuestra región de desuso, en el caso de este estudio, la mashua, un tubérculo andino que ha prevalecido principalmente gracias al cuidado y atención recibidos en las chacras campesinas donde el conocimiento ancestral y diversidad agrícola continúan vigentes. La mashua posee cualidades medicinales y un alto nivel nutricional, presenta un balance apropiado de aminoácidos esenciales, además de la presencia de abundantes compuestos fenólicos y de otros compuestos con características antioxidantes. ⁽³⁾

La mashua, un tubérculo andino que ya era consumido desde hace más de 7500 años. Donde su habitat está distribuido por el Perú, Bolivia, Ecuador, Venezuela, Colombia, Argentina y desde algunas décadas nueva Zelanda y Canadá, este tubérculo posee un elevado valor nutritivo con aporte de compuestos fenólicos, antocianinas y otros principios activos. ^(5, 6)

Recientemente se ha incrementado el interés por el estudio de las antocianinas debido precisamente a su actividad biológica y sus efectos benéficos para la salud humana, los cuales son corroborados con datos epidemiológicos que sugieren que el consumo de estos compuestos está relacionado con la prevención de ciertos padecimientos crónico-degenerativos.

.En el Perú se ha demostrado que existen alrededor de 2 millones de personas afectadas con Diabetes Mellitus tipo 2, siendo la décimo quinta causa de muerte. La magnitud de la misma está en aumento debido al incremento de la obesidad, el sobrepeso, el sedentarismo y los hábitos inadecuados de alimentos. ⁽⁷⁾

Shipp y adbdek-Aal (2010), mencionan que alimentos con antocianinas, presentan propiedades antidiabéticas. ⁽¹¹⁾ Por lo que nuestro interés, en realizar el presente trabajo de investigación se fundamenta en la determinación del efecto hipoglucemiante de dos variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): negra y amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado, como una alternativa fitoterapéutica

El presente trabajo de investigación consta de siete capítulos, el primer capítulo muestra el planteamiento del problema, justificación y objetivos, en el segundo capítulo se muestra la revisión bibliográfica en el cual se encuentra los antecedentes de la investigación y el marco teórico como tal. En el tercer capítulo se presenta la metodología de investigación, en el cuarto capítulo se presenta los resultados y discusión seguido del quinto capítulo en donde están las conclusiones, como sexto capítulo de recomendaciones y por último en el séptimo capítulo en donde se presenta las referencias bibliográficas.

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, las enfermedades crónico-degenerativas son un grave problema de salud pública. Uno de estos padecimientos es la diabetes mellitus (DM), la cual presenta una alta prevalencia a nivel mundial y es causa de un gran número de incapacidades. Dicha enfermedad tiene entre sus principales causas los malos hábitos de alimentación, principalmente el alto consumo de alimentos procesados ricos en carbohidratos y grasas saturadas y un bajo consumo de tubérculos, vegetales y frutas. La ingesta de estos últimos alimentos se ha asociado con un descenso en el riesgo de contraer enfermedades crónico-degenerativas, entre ellas la diabetes mellitus tipo 2. El estrés oxidativo y el daño tisular resultantes son características claves en la complicación secundaria de esta, atribuyendo este efecto protector a la presencia de compuestos bioactivos tales como los antioxidantes.

En la DM1 y DM2 se manifiesta hiperglucemia e hipoglucemia, lo cual puede originar complicaciones agudas y crónicas como alteraciones a nivel macro y micro vascular, que pueden producir infarto de miocardio, accidente cerebro vascular, insuficiencia renal, ceguera, lesiones de los nervios periféricos (neuropatía diabética) y pérdida de extremidades inferiores. ⁽¹⁰⁾

La DM constituye uno de los principales problemas de salud pública que afecta la calidad de vida de las personas ya que esta enfermedad puede presentarse en cualquier edad, sexo, clase social y área geográfica. ⁽¹⁰⁾

Según la Federación internacional de la diabetes (FID) (2014), indica que hay 382 millones de personas que viven con diabetes y más de 316 millones sufren tolerancia anormal de la glucosa. Asimismo, se considera que para el 2035, la cifra de diabéticos ascienda a 592 millones (1 de cada diez); cabe mencionar que más del 50% de las personas que viven con diabetes no lo saben. ⁽⁹⁾

Según el Instituto Nacional de Estadística del Perú (INEI) menciona que el 3,2% de la población de 15 y más años fueron diagnosticadas con DM. Según el género, el 3,6% y el 2,9% de la población padece de diabetes para el sexo femenino y masculino respectivamente. El mayor porcentaje de personas con DM2 se ubica en Lima Metropolitana con un 7,6% (5), y distribuido en la costa un 3,4%, en la selva 2,5% y en la sierra un 2%. ⁽⁴⁾

Este problema tanto mundial como internacional también se ha demostrado en nuestro país, alrededor de 2 millones de personas afectadas siendo el 90% de la DM2y es la décimo quinta causa de muerte. La prevalencia se estimada de 5,4% en el año 2013. La magnitud de la misma está en aumento debido al incremento de la obesidad, el sobrepeso, el sedentarismo y los hábitos inadecuados de alimentos. ⁽⁸⁾

A escala mundial se calcula que 422 millones de adultos tenían diabetes en 2014, por comparación con 108 millones en 1980. Desde 1980 la prevalencia mundial de la diabetes (normalizada por edades) ha ascendido a casi el doble del 4,7% al 8,5% en la población adulta. Esto se corresponde con un aumento de sus factores de riesgo, tales como el sobrepeso y la obesidad. En el último decenio, la prevalencia de diabetes ha aumentado con más rapidez en los países de ingresos medianos que en los de ingresos altos. ⁽⁸⁾

Para el buen control de la DM2 se necesitan medicamentos y a una amplia gama de servicios sanitarios. Los medicamentos utilizados en el tratamiento para esta enfermedad son las sulfonilurias (glibenclamida), las biguanidas (metformina), las tiazolidnedionas (pioglitazona) entre otras. ⁽⁹⁾ La gran mayoría de estos medicamentos disminuyen de manera eficaz los niveles de glucosa a través de la estimulación de insulina o de la inhibición de alguna vía metabólica como la gluconeogénesis. Sin embargo, la gran mayoría de estos fármacos muestran efectos secundarios como diarreas, reacciones cutáneas (rash, dermatitis) y aumento de peso. ⁽⁷⁾

Ante los efectos secundarios mencionados de los diversos fármacos hipoglucemiantes, se muestra la necesidad de nuevas terapias alternativa. Adicionalmente, se muestra una demanda del descubrimiento de alimentos funcionales, especialmente para el tratamiento de enfermedades no transmisibles como la diabetes. Dentro de estos alimentos funcionales podemos mencionar la mashua. La mashua color negra tienen 8 – 10 veces mayor actividad antioxidante que la color amarillo. Esta actividad antioxidante más alta se correlaciona con el contenido de antocianinas. ⁽⁴¹⁾

La mashua negra tiene 131.9 mg de antocianinas por cada 100 gr de mashua ⁽⁶¹⁾ en cambio la mashua amarilla tiene un contenido de 10-41 mg de antocianinas por cada 100 mg de mashua ⁽⁴¹⁾ y estas antocianinas actúan sobre la diabetes, mejorando el estrés oxidativo, como antiinflamatorio, protegiendo a las células beta del páncreas, regulando el metabolismo de los lípidos y sirviendo de hipoglucemiante. ⁽¹⁵⁶⁾

Esto podría disminuir las diversas complicaciones, con lo cual contribuirá a la mejor estabilidad emocional de estas personas para prolongar su calidad de vida de los individuos con Diabetes mellitus tipo 2.

Finalmente, toda esta situación y las escasas investigaciones que se han hecho al respecto sobre efecto hipoglucemiante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) son lo que nos motivaron a realizar el presente trabajo de investigación.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Tendrá efecto hipoglucemiante las dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): negra y amarilla chaucha, en forma de extracto acuoso liofilizado en ratas diabéticas inducidas por aloxano?

1.3. HIPÓTESIS DE LA INVESTIGACIÓN

Ho. El tratamiento con dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavon*): negra y amarilla chaucha a diferentes dosis, no tiene efecto hipoglucemiante sobre la concentración de glucosa en ratas wistar diabéticas.

Ha. El tratamiento con dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavon*): negra y amarilla chaucha a diferentes dosis, tiene efecto hipoglucemiante sobre la concentración de glucosa en ratas wistar diabéticas.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La prevalencia a nivel mundial de la diabetes mellitus motiva preocupación de todos los ámbitos, caracterizado por hiperglucemia, es la consecuencia de defectos en la secreción y/o en la acción de la insulina; se asocia a largo plazo al daño, disfunción e insuficiencia de diferentes órganos especialmente de los ojos, riñones, nervios, corazón y vasos sanguíneos. Desde el punto de vista epidemiológico, la mellitus tipo 2 tiene una prevalencia en la población mundial que oscila entre 2 a 5%. Esta enfermedad produce un importante impacto socioeconómico en el país, cuya valoración aún no ha sido realizada, pero es una importante causa de hospitalización prolongada, ausentismo laboral, discapacidad y mortalidad producto de las complicaciones agudas y crónicas; además es la enfermedad de mayor demanda del consultorio externo de endocrinología constituyendo la diabetes mellitus tipo 2 el 95% de la población atendida por dicha enfermedad. ^(7,8)

El presente trabajo de investigación es importante ya que permitió conocer el efecto hipoglucemiante de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): negra y amarilla chaucha en ratas wistar diabéticas inducidas por aloxano. También, permitió sintetizar y establecer la información sobre el consumo de la mashua negra y mashua amarilla chaucha para la disminución de la concentración de glucosa en sangre y controlar el avance de diabetes mellitus. Además, servirá como guía para futuras investigaciones y para edificación de los conocimientos existentes.

En la parte metodológica, servirá como antecedente para el desarrollo de futuras investigaciones similares, además permite que otras investigaciones desarrollen el problema en este tipo de diseño experimental. También el modelo de diabetes mellitus inducido por aloxano diferente a los publicados podría ser usado en proyectos similares. De igual manera con alimentos que contengan antocianinas como efecto hipoglucemiantes a diferentes dosis.

Los resultados del presente trabajo nos permitieron un mayor conocimiento sobre una de las propiedades nutraceuticos que pueda tener la mashua negra y mashua amarilla chaucha, también ayudara a la reincorporación de este recurso genético para promover el consumo de la mashua, especialmente en las personas que padecen diabetes, beneficiando así a la disminución de la concentración de glucosa en sangre. Esto ayudara a la disminución de los costos elevados del tratamiento de diabetes mellitus tipo 2 y sus complicaciones. Además de aportar al proyecto de investigación que realiza de la escuela profesional de nutrición Humana

1.5. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.5.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto hipoglucemiante de dos variedades de Mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): negra y amarilla chaucha en ratas wistar diabéticas inducidas por aloxano.

1.5.2. OBJETIVO ESPECIFICO

- Determinar la concentración de glucosa basal, inicial, durante y final en ratas wistar del grupo control positivo y grupos experimentales.
- Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de la Mashua negra, a dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d por vía oral en ratas wistar diabéticas aloxonizadas.
- Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de la Mashua amarilla chaucha a dosis de 50 mg/kg y 100 mg/kg/d por vía oral en ratas wistar diabéticas aloxonizadas.
- Comparar la concentración de glucosa final, del grupo control positivo con los grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1.- ANTECEDENTES

2.1.1. A nivel internacional

Paucar SA. (2014). Realizo la investigación: Composición química y capacidad antioxidante de dos variedades mashua (*Tropaeolum tuberosum*) amarilla chaucha y zapallo. El objetivo de la investigación fue estudiar el efecto de los procesos de secado y cocción en la composición química y capacidad antioxidante de dos variedades de mashua: Amarilla chaucha y Zapallo, que fueron adquiridas en los mercados de Saquisilí y Ambato, respectivamente. Se realizó la caracterización física de las muestras frescas en donde se midió: peso, diámetro longitudinal, diámetro ecuatorial. Los tubérculos se dividieron en tres grupos fresco, seco (exposición al sol por 5 días) y cocido (mashua secas cocidas por 20 minutos). Se realizaron análisis fisicoquímicos: color de la superficie externa e interna (luminosidad, cromaticidad y ángulo de tono), pH, acidez titulable total (ATT), sólidos solubles (oBrix), humedad, ceniza, proteína, fibra, grasa y carbohidratos. Además se determinó la capacidad antioxidante total utilizando los métodos ABTS y DPPH, previamente se congeló las muestras a -20 °C. En la caracterización física la variedad Zapallo presentó valores superiores en peso, diámetro longitudinal y diámetro ecuatorial comparados con la variedad Amarilla chaucha, estas diferencias podrían deberse al ciclo de cultivo o variedad. En el análisis de color de la superficie externa, los parámetros de luminosidad (L*) y cromaticidad (Cr) para las dos variedades disminuyeron después del secado y cocción. No se observaron cambios significativos para ángulo de tono (Hue) en las dos variedades después del secado, mientras que después de la cocción el Hue para la variedad Amarilla chaucha disminuyó y para la variedad Zapallo aumentó. Los parámetros L* y Cr de la superficie interna de los tubérculos después del secado para las dos variedades aumentaron y luego de la cocción disminuyeron, sucediendo lo contrario con el parámetro de Hue. Los sólidos solubles y pH de las dos variedades aumentaron luego del secado y cocción a diferencia de la ATT que disminuyó. La variedad Zapallo presentó mayor contenido de humedad, fibra cruda, cenizas y proteínas en sus tres estados (fresco, seco y cocido), aunque se encontró mayor cantidad de carbohidratos en la variedad Amarilla chaucha en estado fresco. La capacidad antioxidante total de la variedad Amarilla chaucha no presentó cambios una vez aplicados los tratamientos de secado y cocción (2.90 μmol Trolox/g tejido y 2.91 μmol Trolox/g tejido base seca, respectivamente), a diferencia de la variedad Zapallo que

después de la cocción aumentó de 6.6 a 7.2 $\mu\text{mol Trolox/g}$ tejido base seca, esto en relación al estado fresco. Al comparar los métodos aplicados (ABTS y DPPH) en la determinación de capacidad antioxidante, los resultados se correlacionaron fuertemente, obteniendo un $r^2 = 0.993$. La aplicación de los tratamientos de secado y cocción en mashua permite establecer antecedentes para futuras investigaciones, orientar sus posibles usos y fomentar el consumo de un producto con buenas características antioxidantes. ⁽¹²⁾

Beltrán AF, Mera JG. (2014). Realizo la investigación: Elaboración del tubérculo mashua (*Tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante. El objetivo fue determinar la capacidad antioxidante del tubérculo mashua (*tropaeolum tuberosum*). La actividad antioxidante se determinó mediante el método de reacción del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), mediante el método espectrofotométrico. Para evaluar la actividad antioxidante de la muestra (mashua) se la sometió a una operación unitaria de secado en la estufa con temperatura de 37 grados centígrados hasta alcanzar un peso constante, para posteriormente por determinaciones técnicas y ensayos espectrofotométricos determinar su capacidad antioxidante; introduciéndose además el parámetro llamado eficiencia antioxidante (AOE). La capacidad antioxidante equivalente al trolox obtenida fue de 17, 87 $\mu\text{mol/g}$, aplicando el ensayo DPPH, Los valores registrados en la lectura 1 y 2 con diferentes concentraciones (0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 y 0,1) se observó después de 30 segundos una dependencia del tiempo de reacción y una diferencia en la disminución de la absorbancia a 517 nm. Se concluye que: tanto técnica como experimentalmente que el tubérculo mashua (*tropaeolum tuberosum*) posee importantes nutrientes y antioxidantes capaz de solucionar los problemas de desnutrición de los niños y puede alargar el promedio de vida en el ser humano. ⁽¹³⁾

2.1.2. A nivel nacional

Inostroza et al. (2015). Realizo la investigación: Actividad antioxidante de *tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. El objetivo del estudio fue evaluar la actividad antioxidante y uso del extracto etanólico de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) como colorante para yogur. La actividad antioxidante fue determinada por los métodos DPPH y ABTS. El contenido total de antocianinas (AT) y polifenoles (PT) fue determinado por el método de pH diferencial y

Folin-Ciocalteu, respectivamente. Los parámetros del sistema CIEL*a*b* se utilizaron para medir el color morado y la concentración de pigmento empleado para colorear el yogur natural “3500”, comparándose con yogur comercial de mora “6224”, que fue tomado como referencia. Ambas muestras de yogur se almacenaron bajo condiciones de refrigeración ($4^{\circ}\text{C} \pm 1$) durante 28 días; se les midió color y pH cada 4 días. Para el análisis sensorial se aplicó la prueba de aceptación ($p < 0,05$). El contenido de AT y PT en los extractos analizados fueron $192,63 \pm 1,28$ mg de cianidina-3-glucósido/100g peso fresco (PF) y de $314,12 \pm 1,23$ mg de ácido gálico/100g PF, respectivamente. La capacidad antioxidante equivalente al trolox obtenida fue de $15,8 \pm 0,2$ $\mu\text{mol/g}$ PF, aplicando el ensayo DPPH, y $17,0 \pm 0,2$ $\mu\text{mol/g}$ PF con ABTS. El extracto se adicionó al yogur natural (1,2 mg/100 g) impartiendo un color morado similar al del yogur comercial de mora con mínimos cambios del color que no fueron visualmente evidentes; el yogur “3500” fue significativamente el preferido por los jueces frente al yogur “6224”. Se concluye que los pigmentos extraídos del tubérculo de *Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón, poseen actividad antioxidante, presentándose como una alternativa de colorante aplicable en alimentos de acidez intermedia como el yogur.⁽¹⁴⁾

Huaccho CV. (2016). realizo la investigación: capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). El objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante hidrofílica, el contenido de compuestos fenólicos, de antocianinas y de los carotenoides de 84 cultivares de mashua procedentes de cusco. La actividad antioxidante fue determinanda por los métodos ABTS, FRAP Y ORAC. El contenido de compuestos fenólicos por (óxido-reducción), las antocianinas con el método de pH diferencial, para los carotenoides se utilizó la metodología descrita por talcott y howard (BHT) respectivamente. Los resultados indican que los cultivares de mashua presentan una amplia y considerable capacidad antioxidante hidrofílica medida por tres métodos de ensayo diferentes: ABTS, FRAP Y ORAC ($20.6 - 128.2$; $22.7 - 173.2$ y $35.1 - 158.8$ $\mu\text{mol te/g}$ (b.s) respectivamente). En algunos cultivares estos valores fueron superiores a los reportados en frutas y vegetales reconocidos con alta capacidad antioxidante. Se encontró una buena correlación entre la capacidad antioxidante medida por los métodos abts y frap ($r^2 = 0.834$) siendo moderada entre los métodos ABTS Y ORAC, FRAP Y ORAC ($r^2 = 0.605$ y 0.500 , respectivamente). El contenido de compuestos fenólicos varió entre 5.5 y 16.7 mg ac. Galico eq/g (b.s.), el de antocianinas entre 0.09 y 2.68 mg cianidina-3-glucósido

equivalente (cge)/g (b.s). (Sólo se detectó en 17 cultivares) y el de carotenoides entre 0.48 y 15.09 mg β -caroteno/100g (b.s). Los cultivares con coloración morada destacaron en compuestos fenólicos y antocianinas y los de coloración amarilla en contenido de carotenoides. Los compuestos fenólicos mostraron entre una moderada y buena correlación con las diferentes capacidades antioxidantes ($r^2 = 0.44 - 0.75$) siendo entre moderada y baja la correlación entre la capacidad antioxidante y las antocianinas ($r^2 = 0.42 - 0.67$). Esto indicaría que los compuestos fenólicos contribuyen a la capacidad antioxidante del tubérculo de manera considerable. Los resultados del presente estudio indican que en la región de cusco, se encuentran cultivares de mashua con características importantes en contenido de compuestos fenólicos, antocianinas, carotenoides y propiedades antioxidantes. Estos cultivares representan una fuente natural de fotoquímicos antioxidantes. ⁽¹⁵⁾

2.1.3. A nivel regional

Pacco E. (2015). Realizo la investigación: Evaluación del efecto del soleado y la cocción en la capacidad antioxidante del puré deshidratado de mashua (*tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). El objetivo fue determinar los parámetros del tiempo de soleado, tiempo y temperatura de cocción en la estabilidad de los compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante del puré deshidratado de mashua. Mediante la metodología (2,2 Azino bis (3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate) ABTS. Utilizando la espectrofotometría para su lectura. Se realizó en la Universidad Nacional del Altiplano Puno. Y se utilizó como materia prima la mashua fresca *Tropaeolum tuberosum* R. y P. de pulpa amarilla accesión (B002) reconocida por el Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA). Proveniente del distrito de Coasa de la provincia de Carabaya. Los resultados fueron analizados con la ayuda de software Statgraphics v22. Mediante un diseño estadístico Box y Behnken de superficie de respuesta para tres factores de estudio, de días de soleado, tiempo y temperatura de cocción en la influencia de capacidad antioxidante. De los cuales el factor soleado resulto no ser significativo ($p > 0.05$) y donde el factor tiempo y temperatura de cocción resultaron altamente significativos ($p \leq 0.01$) de un total de 16 Tratamientos el más óptimo fue el T9 con una temperatura de 60 °C y con un tiempo de 10 minutos, para la mayor retención de capacidad antioxidante de 4.692 μmol trolox eq. /g. Evaluada por el método ABTS, y para el caso de compuestos fenólicos se utilizó el método espectrofotométrico y resulto el mejor T9 con valor óptimo de temperatura 60 °C y con un tiempo de 10 minutos siendo la máxima retención de componentes fenólicos de

50.032mg de ácido gálico/100g. Y también se Evaluó la estabilidad de los antioxidantes fenólicos del puré deshidratado de mashua (*Tropaeolum tuberosum*) en el almacenamiento acelerado durante 15 días a una temperatura de 55°C para lo cual utilizó el diseño estadístico completamente al azar (DCA) y su respectivo prueba de comparación de Duncan, la determinación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos se realizaron en 1, 5, 10 y 15 días, del puré deshidratado de mashua de los cuales el T9 al primer día se tenía 4.692 μmol trolox eq. /g. y a los 15 días se tiene 3.026 μmol trolox eq. /g que hubo pérdida de capacidad antioxidante donde ocurrió reacción de oxidación del puré deshidratado influenciado por los factores luz, oxígeno y el aire. En el caso de compuestos fenólicos el tratamiento T9 tenía en el primer día de evaluación tuvo 50.032mg de ácido gálico/100g. De muestra dentro de los 15 días se evaluó la misma muestra y se tiene un valor de 43.769 965 mg de ácido gálico/100g. Hubo pérdida de compuestos fenólicos por la influencia de oxígeno y luz que causo la oxidación del puré deshidratado. En conclusión el parámetro maximizado es tratamiento nueve con una temperatura de 60°C y tiempo de 10 minutos y con un valor de 4.692 μmol trolox eq. /g y la cantidad de compuestos fenólicos 50.032mg de ácido gálico/100g. Y no existe la estabilidad de antioxidantes fenólicos en almacenamiento acelerado. ⁽¹⁶⁾

2.2.- MARCO TEÓRICO

2.2.1. MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

2.2.1.1. ASPECTOS GENERALES

Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), es una planta herbácea perenne originaria de la región andina, donde también fue domesticada. Las evidencias arqueológicas sugieren que sus tubérculos ya eran consumidos desde hace más de 7500 años. Su hábitat de distribución natural se extiende desde Colombia hasta el norte de Argentina, entre los 2400 hasta los 4300 msnm, pero sus mejores cosechas y alto rendimiento están entre 3500 y 3800 msnm ⁽¹⁷⁾. Desde hace algunas décadas se cultiva también en algunas regiones de Nueva Zelanda y Canadá. Las mayores áreas de siembra se encuentran en Perú y Bolivia, donde generalmente se cultiva en asociación con otros tubérculos, como la oca, el ulluco y las papas. Aunque el área de siembra de la mashua es mucho menor al de las otras tuberosas andinas, su cultivo no deja de ser importante, pues forma parte de la seguridad alimentaria de miles de familias campesinas en los Andes a través del autoconsumo o la generación de ingresos monetarios. ⁽¹⁹⁾

La mashua es muy rústica, puede ser cultivada en suelos pobres, sin uso de fertilizantes y pesticidas químico-sintético, aun en estas condiciones, su rendimiento puede duplicar a la papa. Entre los tubérculos andinos, la mashua es de mayor rendimiento, se encuentra entre 30-60 T/ha. ⁽¹⁸⁾ Tiene propiedades bactericidas, nematocidas, fungicidas, insecticidas y repelentes de insectos, por cuyo atributo, desde tiempos inmemoriales, muchas comunidades indígenas, siembran este tubérculo intercalando con otros tubérculos más susceptibles como la papa, oca y melloco. Estos tubérculos presentan una marcada diversidad en morfología y color, que varía desde crema a color púrpura oscuro, en la dieta tienen fama de tener efectos beneficiosos para la salud. El uso medicinal folclórico de la mashua afirma mejorar enfermedades relacionadas con el hígado, riñón, piel y trastornos de próstata entre otras. ⁽⁵⁾

2.2.1.2. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La clasificación taxonómica es la siguiente: ⁽¹⁹⁾

Nombre científico:	<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavón
Reino:	Plantae
Filo:	Angiospermae
Clase:	Dicotyledoneae
Orden:	Brassicales
Familia:	Tropaeolaceae
Género:	Tropaeolum
Especie:	T. Tuberosum

Nombres comunes de la mashua

La mashua presenta innumerables nombres comunes que varían de acuerdo al país y al idioma ^(5, 20, 21).

Perú:	Anu, Apiñu, Apina-Mama, isano, mashua, mashwa (Quechua), Anu, anyu, isano, Mafua, Majua, mashua, Mashuar, Mauja, mashwa, Maswallo, Maxua, Mazuko, (español), Allausu, isañu, Kkayacha (Aymara)
Argentina:	Sisaño (Aymara), Anu, isaño (Español);
Bolivia:	Isau, Isañu, Kkayacha, Mishwa (aymara), Anu, isano, Ocaquisañu (Quechua), Anu, apilla, Apina Mama, isano, Isañu, Mafua, Majua, mashua, Mashuar, Mauja, mashwa, Maxua (Español)
Brasil:	Capuchinha-Tuberosa (portugués)

Chino:	Kuai Jing Hua Lzan
Colombia:	Panel (guambiano), Puel (Páez), cubios, Mafua, Majua, mashua, Mashuar, Mauja, mashwa, Maxua, Navios, Navos (Español)
Checo:	Lichořeřišnice Hlíznatá
Danés:	Anu
Holandés:	Knol, Oostindische Kers
Estonia:	Mugul-Mungalill
Ecuador: (Español)	Mafua, Majua, mashua, Mashuar, Mauja, mashwa, Maxua
Francés:	Capucine Tubéreuse
Alemán:	Knollige Kapuzinerkresse, Knollenkresse, Peruanische Kapuzinerkresse, Peruanische Knollenkresse
Italiano:	Nasturzio Tuberosa, Tropeolo del Perú
Japonés:	Toropaeorumu Chuuberosumu
Polaco:	Nasturcja Bulwiasta
Español:	Anu, Magua, Mashua
Sueco:	Knölkrasse
Inglés:	Anu, mashua, perennial nasturtium, tuber nasturtium
Portugués:	Capuchina tuberosa
Africano:	Bolkappertjie
Chino mandarín:	Kua Jing Jin lzan hua
Chino :	Kua Jing Jin lian hua, kua Jing Jin zao lian;
Griego:	Nastourion
Lituano:	Gumbinė nasturtė
Macedonio:	krtolesta batanka
Turco:	América çiçeği yumrulu
Galés:	Meri a mari.

2.2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una planta herbácea, anual de unos 20 a 80cm de altura, con tallos cilíndricos de 3 a 4mm de espesor, con diversos grados de pigmentación. El color del follaje varía de amarillo-verde a verde oscuro. La diversidad de la mashua se encuentra en el color del tubérculo, forma, características de las yemas y color de la pulpa. La piel de los tubérculos

varía desde el blanco hasta el violeta-púrpura muy oscuro, pasando por el amarillo, naranja, rojo y rosado; además, puede ser de un solo tono o presentar manchas y rayas contrastantes con el ápice o bajo las yemas. A diferencia de la oca y el ulluco, las flores de la mashua son profusas (*figura N° 1*) y en grupos que producen semillas viables con alta tasa de germinación. ⁽²²⁾

Según su coloración se pueden clasificar en: ⁽²³⁾

- Tubérculos de color uniforme generalmente blanco, amarillo o anaranjado;
- Tubérculos con pigmentos de antocianina ubicados sólo en las yemas;
- Tubérculos muy coloreados en las yemas con antocianinas;
- Tubérculos con yemas pigmentadas y con franjas longitudinales rojas o moradas.



FIGURA N° 1: Follaje y flores de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavon).

Fuente: (Barrera et al, 2003) ⁽²⁰⁾

2.2.1.4. VARIEDADES NATIVAS

Se han reconocido más de 100 variedades de mashua. Existen colecciones de germoplasma en Ecuador y Perú. Por el color se reconocen muchas variedades como: blanca, amarilla, chaucha, morada y zapallo. ⁽²⁰⁾

En el Centro Internacional de la Papa (CIP) se conservan 113 accesiones (variedades) de mashua, colectadas en diferentes comunidades campesinas de Perú, Bolivia y Argentina. ⁽¹⁹⁾

La mashua blanca es una variedad rara, pequeña y precoz, la mashua amarilla tardía, es la más difundida y alcanza un tamaño mayor que la amarilla chaucha, para la cual se señalan virtudes medicinales, por lo que se la utiliza contra el “mal de orina” (próstata). ⁽²⁰⁾

TABLA 1: NOMBRES DE VARIEDADES (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón)

N°	NOMBRE	ATRIBUTOS DEL TUBERCULO	FUENTE
1	Occe-añu	Plomizo	Herrera 1941
2	Yana-añu	Negro	Herrera 1941
3	Checche-añu	Gris	Herrera 1941
4	Ckello-añu, K'ello-añu	Amarillo	Herrera 1941
5	Muru-añu	Violeta	Herrera 1941
6	Phutilla-añu	Rojo	Hermann y cruz 1991
7	Puca-añu	Rojo	Herrera 1941
8	Yana-añu	Negro	Hermann y cruz 1991
9	Yurac-añu	Blanco	Herrera 1941
10	Zabahoria-añu	Naranja	Hermann y cruz 1991
11	Zapallo-añu	Color Zapallo	Herrera 1941
12	Quillu-mashua	Amarillo	Espinosa et al. 1997
13	Putsu-mashua, succu-mashua	Fondo amarillo cubierto de rayas rojas	Espinosa et al. 1997
14	Mashua yana-saco	Negro	Espinosa et al. 1997
15	Mashua-chaucha	De maduración temprana	Tapia et al. 1996
16	Mashua-shira	Amarillo con puntos purpura	Tapia et al. 1996
17	Mashua-zapallo	Amarillo y rojo	Tapia et al. 1996
18	Sangre de cristo	Fondo amarillo cubierto de rayas rojas	Tapia et al. 1996, espinoza et al. 1997
19	Wayar waqac (lágrimas de sangre)	Fondo amarillo cubierto de rayas rojas	Hermann y cruz 1991
20	Huaka hasta o huagra hasta	Curva larga	Hermann y cruz 1991
21	K'ella-añu	Olor fétido	Hermann y cruz 1991
22	Tome-añu o taqui-añu	Buena para el almacenamiento	Hermann y cruz 1991
23	Kita-añu, añu a añu	Mashua salvaje	Herrera 1921

Fuente: (Grau et al., 2003) ⁽⁵⁾

Variedades cultivadas en Puno ⁽²³⁾

- Amarilla: Thayacha (Kkayacha), Zapallo
- Negra: chiara



Figura N° 2: Algunas variedades de mashua

Fuente: (Cultivariable; Ebay; Peruvian organic foods, 2017) ^(32, 33, 34)

2.2.1.5. CARACTERÍSTICAS AGRÓNOMICAS

La mashua es una especie rústica, que puede crecer bien a temperaturas bajas y en suelos pobres, sin necesidad de fertilizantes. Además, es resistente a nematodos, insectos y varias plagas, como el gorgojo de la papa (*Premnotrypes* spp.). Por esta razón, en los Andes se siembra habitualmente como cerco perimétrico de protección de otros cultivos, como vemos en la (figura 2). Su ciclo de cultivo varía entre 6 y 9 meses, llegando a producir rendimientos superiores a los otros tubérculos andinos. Su adaptación se encuentra entre los 2400 hasta los 4300 msnm. ⁽²¹⁾

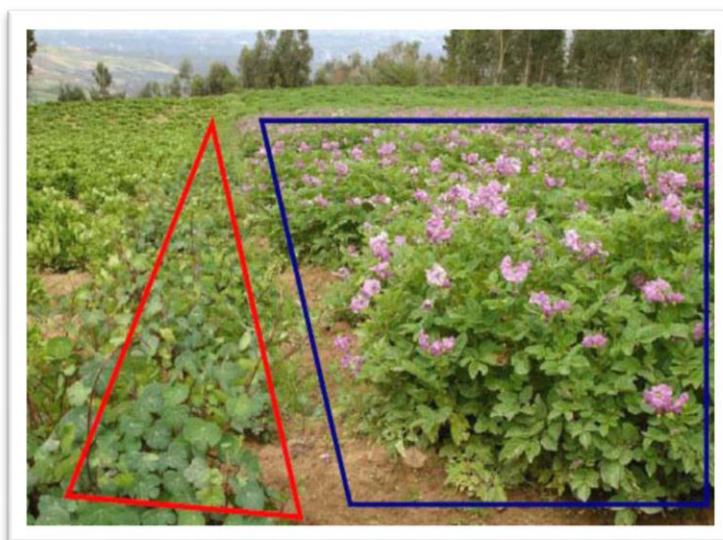


Figura N° 3: Sistema de cultivo de papa (cuadrado)-mashua (triangulo) en los andes peruanos

Fuente: (Gonzales, 2009) ⁽³⁸⁾

2.2.1.6. ETAPAS DE CULTIVO DE LA MASHUA

- **Siembra:** la mashua, como monocultivo se debe sembrar en surcos espaciados entre 0.80 m a 1.00 m entre sí, dejando las plantas distanciadas a 0.40-0.50 m, para tener una densidad de cultivo de 31 250 plantas a 25 000 por hectárea. ⁽⁵⁾ La cantidad de semilla depende del tamaño de los tubérculos, de la distancia entre plantas y surcos, siendo el tamaño ideal de 40 a 60 gramos. ⁽²⁴⁾
- **Manejo del cultivo:** el manejo del cultivo de la mashua, son las operaciones que requieren desde la siembra hasta la cosecha, con el fin de darle las condiciones favorables para el desarrollo de la planta y son: control de malezas, aporque, fertilización, riegos, control de plagas y enfermedades. ⁽²⁴⁾

- **Fases fenológicas de la mashua:** los agricultores afirman que la cosecha se realiza cuando las hojas cambian su color verde a amarillento, lo que ocurre más o menos entre 5 a 6 meses de edad del cultivo. ⁽²⁵⁾

1. Emergencia	2. Formación de estolones	3. Tuberización
Los brotes emergen a la superficie del suelo.	Aparecen estolones de la raíz principal. Se debe de anotar el inicio de esta fase cuando los estolones tengan de 3 a 5 cm de longitud.	Cuando se aprecia un pequeño abultamiento, ligeramente alargado, en el extremo terminal de los estolones.
4. Floración	5. Fructificación	6. maduración
Se abren las primeras flores	Los primeros frutos inician su madurez.	Los tubérculos alcanzan el color y tamaño propio de la variedad. Las hojas cambian su color hacia el amarillo pálido

Figura N° 4: Fases fenológicas de la mashua

Fuente: (Yzarra y López, 2012) ⁽²⁵⁾

- **Cosecha:** la cosecha de la mashua, se produce a los 4 meses después de la siembra en suelos cuya ubicación no exceda los 2 900 metros sobre el nivel del mar y entre los 5-6 meses después de la siembra. ⁽⁵⁾

Si el objetivo de la cosecha de mashua es para consumo inmediato, ésta se deberá hacer entre el tercer día de luna menguante, hasta el tercer día de luna nueva (noche oscura), pero si por el contrario la cosecha se va a destinar a semilla o almacenamiento, para su posterior procesamiento industrial, la cosecha se hará entre el cuarto día de luna creciente y el cuarto día de luna llena, pues en este estado el tubérculo tiene menos agua y hay menos riesgo de que se pudra. ⁽²⁴⁾

- **Postcosecha:** después de la cosecha, los tubérculos de la mashua, deben ser sometidos a un minucioso proceso de selección y limpieza, antes de ser trasladados al mercado o a la agroindustria. Durante este proceso se seleccionará la semilla que será utilizada para nuevas siembras (8-10 cm), procurando que esta, se encuentre íntegra y libre de plagas (insectos y patógenos). ⁽²⁴⁾
- **Almacenamiento:** el período de almacenamiento de los tubérculos de isaño (mashua) es corto (2 a 3 meses) y está comprendido entre junio y septiembre. Normalmente los tubérculos destinados para semilla son cosechados entre junio y julio, los que luego de realizar una selección, son almacenados hasta fines de agosto o principios de septiembre, que es la época de inicio de siembra de los mismos. ⁽²⁶⁾

2.2.1.6.1. PRODUCCIÓN DE LA MASHUA EN LA REGIÓN PUNO

El comportamiento de las variables de producción, como la superficie sembrada, cosechada, producción, rendimiento y precio en chacra, presentan variaciones de menos a más, en el cultivo de mashua o isaño según información de la DRA-Puno, como se ve en la tabla 2. ⁽²⁷⁾

Hasta el 2010, la producción de Mashua a nivel provincial se concentraba en mayor volumen en la provincia de Azángaro con 1,704 toneladas que representa el 28%, Carabaya con 709 toneladas que representa el 12%, Huancané con 707 toneladas que representa el 12%, Yunguyo con 550 toneladas que representa el 9%, Puno 8% y Sandía 8%, la provincia de Melgar era la menos productora de Mashua con 88 toneladas. ⁽²⁷⁾

TABLA N° 2: VARIABLES DE PRODUCCIÓN DE MASHUA, SEGÚN CAMPAÑAS AGRÍCOLAS (2000-2001)-(2009-2010) EN LA REGIÓN PUNO

Campaña agrícola	Superficie sembrada	perdidas	Superficie cosechada	Producción	Rendimiento	Precio de chacra
	(ha)	(ha)	(ha)	T	(kg/ha)	S/. /kg
2000-2001	769	19	750	4,631	6,175	0.42
2001-2002	862	0	832	5,892	7,082	0.44
2002-2003	858	11	47	6,046	7,138	0.41
2003-2004	909	5	904	6,203	6,862	0.42
2004-2005	881	0	881	6,173	7,007	0.43
2005-2006	922	1	921	6,563	7,126	0.44
2006-2007	968	0	972	7,079	7,283	.0.45
2007-2008	937	18	919	6,311	7,867	0.69
2008-2009	956	3	953	7,097	7,447	0.84
2009-2010	866	18	848	8,144	7,245	0.91

Fuente: (agencias agrarias de la DRA-Puno, 2012) ⁽²⁷⁾

2.2.1.7. VALOR NUTRICIONAL

La mashua es muy nutritiva y contiene cerca de 20% de sólido y proteína alrededor de 16% en materia seca, podría volverse un alimento valioso y barato debido a su alto rendimiento. Sin embargo la proteína es altamente variable, dependiendo mucho de la variedad. La mashua contiene una cantidad elevada de aminoácidos esenciales como lisina, aminoácido limitante en muchos cereales y leguminosos. ⁽²⁸⁾ En la (tabla N° 3) hacemos una recopilación de distintos autores acerca de la composición nutricional de la mashua.

La mashua tiene altos niveles de los isotiocianatos, compuestos químicos responsables de otorgar el típico sabor picante y hacerlos inadecuados para el consumo crudo excepto en pequeñas cantidades. Con la ebullición se hidrolizan los isotiocianatos, eliminando el cianuro y mejorando el sabor. ⁽²⁹⁾

TABLA N° 3: COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)

Nutrientes	Base húmeda (BH)			Base seca (BS)	
	Rango	Prom.	Fuentes	Rango	Prom.
Humedad (%)	79.2-93.8	87.4	Barrionuevo 1975, Brito y Espín 1999	78.3-92.4	-
Carbohidratos (g)	-	9.8		78.6	-
Proteínas (g)	1.1-2.7	1.5	Barrionuevo 1975	7.2-13.09	11.4
Grasa (g)	-	0.7	Collazos et al. 1996	0.1-1.4	-
Cenizas (g)	0.6-1.1	0.8	Barrionuevo 1975	4.2-6.5	5.7
Fibra (g)	0.5-1.5	0.9	Barrionuevo 1975	4.9-8.6	-
Azúcares totales	-	3.5	Brito y Espín 1999	-	-
Almidón (g)	7.0-10.5	8.9	Barrionuevo 1975	-	-
Energía (kcal)	35-50	-	Barrionuevo 1975, Brito y Espín 1999	-	-
Potasio (mg)	1.3-1.8	1.5	Barrionuevo 1975	-	-
Fosforo (mg)	0.6-0.8	0.7	Barrionuevo 1975	300	-
Calcio (mg)	-	1.2	Collazos et al. 1996	-	-
Hierro (mg)	-	1.0	Collazos et al. 1996	-	8.6
Vitamina A (mg)	-	0.10	Collazos et al. 1996	214	-
Tiamina (mg)	-	0.10	Collazos et al. 1996	-	0.46
Riboflavina (mg)	-	0.12	Collazos et al. 1996	-	0.57
Niacina (mg)	-	0.67	Collazos et al. 1996	-	4.3
Vitamina C (mg)	-	77.5	Collazos et al. 1996	476	-
Lisina (mg/g de proteína)	35-69	-	Shah et al. 1993, Rey y Gershoff 1987	-	-
Treonina (mg/g de proteína)	22-46	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Valina (mg/g de proteína)	25-88	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Isoleucina (mg/g de proteína)	25-44	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Leucina (mg/g de proteína)	35-56	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Tirosina (mg/g de proteína)	13-62	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Triptófano (mg/g de proteína)	5-2	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-
Cisteína (mg/g de proteína)	14-29	-	King y Gershoff 1987; Shah et al. 1993	-	-

Fuente: (Grau et al, 2003; Ayala, 2004; Amílcar, 2009) ^(5, 30, 31)

2.2.1.8. USOS DE LA MASHUA

- **Alimenticio:** el valor nutricional de la mashua es alta, como se ve en la *tabla 3*. Se consumen cocidos o asados. Sus brotes tiernos y flores se comen cocidos como

verduras en sopas, chupes, fritas, y algunos la mezclan con azúcar para preparar postres, también se las puede consumir congeladas. ⁽¹⁹⁾

- **Medicinal:** la mashua actúa contra los cálculos renales, desinflama la próstata. ^(13, 35) Es anticancerígeno, que actúa eficazmente contra una amplia gama de células tumorales. ^(36; 37) Es un efectivo antibiótico contra bacterias como la escherichia coli y el staphylococcus, y hongos como la candida albicans. ⁽³⁸⁾
- **Anti-fertilidad:** reduce el deseo sexual al disminuir la cantidad de testosterona y dihidrotestosterona en la sangre. Se cuenta que las tropas de los incas llevaban la mashua como fiambre para olvidarse de sus mujeres. ⁽¹⁹⁾ Estudios demostraron que la administración de extracto de *tropaeolum tuberosum* hidroalcohólico a ratones machos de 21 días, tenía una acción directa sobre el sistema reproductivo masculino, disminuyendo parámetros espermáticos (número de espermatozoides y la motilidad de esperma) sin ejercer efectos tóxicos en los ratones. ⁽³⁹⁾
- **Fungicida:** La mashua además de ser tolerante a las heladas, también tiene capacidad fungicida, nematocida e insecticida, debido a los glucosinolatos y sus derivados los isotiocianatos presentes en toda la planta. El origen de estas cualidades agronómicas, puede deberse a que el año ha evolucionado en las zonas más inhóspitas para la agricultura ya que los pobladores precolombinos hicieron un uso eficiente de las tierras marginales. ⁽⁴⁰⁾

2.2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS Y LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA MASHUA

Los tubérculos mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) mostraron la más alta capacidad antioxidante y fenólica, antocianina y el contenido de carotenoides en comparación con otros cultivos, papa (*Solanum* sp.), oca (*Oxalis tuberosa*) y ulluco (*tuberosus* Ullucus). En los tubérculos mashua, la capacidad antioxidante hidrofílica (HAC) y la capacidad antioxidante lipofílica (LAC), determinada por ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) variaron desde 955 hasta 9.800 g TE g⁻¹ y 93-279 µgTE g⁻¹ respectivamente. HAC expresada sobre la base fenólica, los valores obtenidos variaron desde 729 hasta 3052 mg TE g⁻¹ equivalente de ácido clorogénico ⁽⁴¹⁾ Los valores específicos de HAC para la mashua son más altos que los observados en los arándanos. ⁽⁴²⁾ HAC en la mashua está relacionado con el contenido fenólico total y el

contenido total de antocianina. El contenido fenólico total de la mashua varió desde 0.92 hasta 3,37 mg g⁻¹, las mashua negra presentaron valores más altos de THP, mientras que los valores más bajos de THP se mostraron en las mashua amarillas. El contenido de antocianinas totales fluctuaban entre 0.5 - 2.05 mg g⁻¹ y los carotenoides totales oscilaron de 1 a 25 µg β-caroteno g⁻¹. LAC contribuyó el 2-19% del total de los valores de la capacidad antioxidante de la mashua. ⁽⁴¹⁾

En otra investigación a la mashua se encontró antocianinas y polifenoles, determinada por el método de pH diferencial y Folin-Ciocalteu, donde los valores fueron de: 192,63 ± 1,28 mg de cianidina-3-glucósido/100g peso fresco (PF) y de 314,12 ± 1,23 mg de ácido gálico/100g PF, respectivamente. También se determinó la capacidad antioxidante con DPPH y ABTS, la capacidad antioxidante equivalente al trolox obtenida fue de 15,8 ± 0,2 µmol/g PF, aplicando el ensayo DPPH, y 17,0 ± 0,2 µmol/g PF con ABTS. ⁽¹⁴⁾

2.2.2.1. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas. ⁽⁴³⁾ Estos compuestos constituyen un amplio grupo de sustancias con diferentes estructuras químicas y actividades metabólicas. Existen más de 8000 compuestos fenólicos identificados ⁽⁴⁴⁾ y están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, fresco y procesado. ⁽⁴⁶⁾ Se encuentran presentes en frutas, hortalizas, raíces y cereales. Juegan una serie de funciones metabólicas en las plantas, en el crecimiento, reproducción y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y los depredadores, también son responsables del color y las características sensoriales de las plantas y alimentos. ⁽⁴⁹⁾

Estas moléculas naturales han atraído el interés de muchos investigadores y el público en general debido a los potenciales beneficios para la salud de los seres humanos. Los efectos beneficiosos para la salud de los compuestos fenólicos están relacionados con varias notables propiedades biológicas, incluyendo antioxidantes. ⁽⁴⁵⁾ El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quedar metales, ya sea manteniendo o incrementando su actividad catalítica o reduciéndolos. ⁽⁴⁷⁾

Los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales en los alimentos, por lo que la obtención y preparación de productos con un alto contenido de estos compuestos supone una reducción en su utilización de aditivos antioxidante, pudiendo incluso

englobarlos dentro de los llamados alimentos funcionales. Desde un punto nutricional, esta se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares, el cáncer y otros. ⁽⁴⁸⁾ Junto con las vitaminas, se consideran importantes antioxidantes en la dieta. ⁽⁴⁹⁾

2.2.2.2. CLASIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

Se han clasificado en distintos grupos según el número de átomos de carbono, estructura de su esqueleto base, ⁽⁵⁰⁾ de acuerdo a su complejidad química (*Tabla N° 4*).

TABLA N° 4: CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS SEGÚN SU GRADO DE COMPLEJIDAD

C6	Fenoles simples
C6-C1	Ácidos Benzoicos y relacionados
C6-C2	Acetofenonas, ácidos fenilacéticos
C6-C3	Fenilpropanoides y relacionados
C6-C3	Cumarinas y relacionados
C6-C3-C6	Flavonoides y derivados
C6-C1-C6	benzofenonas y estilbenos
C6-C2-C6	Xantonas
(C6-C3)n	lignanós, ligninas

Fuente: (Sánchez-Paniagua, 2008) ⁽⁵¹⁾

Desde otra perspectiva pueden dividirse en 2 grandes grupos (no flavonoides y flavonoides). ⁽⁴³⁾

- **No flavonoides.**- están divididos en: ácidos fenólicos (serie benzoica y serie cinámica, se pueden encontrar en forma libre o esterificada con azúcares), estilbenos y taninos hidrosolubles ⁽⁵³⁾ (*tabla N°5*).

TABLA N° 5: COMPUESTOS FENÓLICOS “NO FLAVONOIDES”

ácidos fenólicos	Ácidos Hidroxibenzoico	Ácido gálico, ácido p-hidroxibenzoico o vanílico	Té, trigo, fruta roja (frambuesa, grosella, fresa)	Sensibles a la oxidación, temperatura, pH, y luz; más soluble en agua; muy limitada interés terapéutico, actividad antimicrobiana y a la toxicidad de los hongos, propiedades antiinflamatorias de salicilatos
	Ácido Hidroxicinámico	Ácido cafeico, ácido ferúlico, Ácido p-cumárico, Ácido sinapínico	Frutas (kiwi, arándanos, manzanas), los granos de cereales (trigo, arroz, avena, harinas)	Sensibles a la oxidación y pH; la mayoría ligeramente soluble en agua; muy limitado interés terapéutico, actividad antimicrobiana y a la toxicidad de los hongos, propiedades anti-inflamatorias de salicilatos
Estilbenos	Resveratrol	Las plantas medicinales (VID)	Efectos anticarcinogénicos, actividad antiinflamatorios	
Taninos (proantocianidinas)	Castalina, pentagalolil-gluc procianidinas	El té, las bayas, vinos, chocolate	Sensible a altas temperaturas y oxidación; Astringente y amarga; solubles en agua.	

Fuente: (Parasi et al., 2014)⁽⁵⁴⁾

- Flavonoides.-** Constituyen el grupo de mayor relevancia y abundancia en la naturaleza⁽⁵¹⁾ (tabla N° 6), y fueron descubiertos por el premio Nobel en Bioquímica Dr. Albert Szent-Gyorgi, quien les denominó como “vitamina P”.⁽⁵²⁾ Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' (fig. N° 5)⁽⁵⁵⁾

TABLA N° 6: COMPUESTOS FENÓLICOS “FLAVONOIDES”

Antocianinas	Cianidina, delphinidina, Malvidina, pelargonidina, peonidina, petunidina y sus heterósidos	Flores, frutas, vino tinto, algunas variedades de cereales, algunos frondosa y raíz, verduras (berenjenas, col, frijoles, cebollas, rábanos)	Pigmentos Naturales; altamente sensible a la temperatura, oxidación, pH y luz; soluble en agua; antiinflamatorias, antialérgicas, antivirales, antiespasmódico, antibacteriano, antioxidante y propiedades; anti carcinógeno, hepatoprotector, algunos son potentes inhibidores enzimáticos
Flavanonas	Hesperetina, hesperidina, homoeriodictiol, naringenina, naringina	Los cítricos (pomelo, naranja, limón), tomates y algunas plantas aromáticas (menta)	Sensible a la oxidación, la luz y el pH; agliconas insolubles pero glucósidos solubles en agua; sabor amargo; anti-inflamatorias, antialérgicas, antivirales, antiespasmódico, antibacteriano, antioxidante y anti- propiedades carcinogénicas, hepatoprotector, algunos son potentes inhibidores enzimáticos
Flavonas	Apigenina, luteolina, tangeretina, nobiletin, sinensetina	Frutas y verduras, el perejil, el apio, cereales (mijo y trigo), piel de cítricos	Pigmentos Naturales; sensibles a la oxidación y pH, agliconas ligeramente solubles pero los glucósidos soluble en agua, anti-inflamatorias, antialérgicas, antivirales, antiespasmódico, antibacteriano, antioxidante y anti- propiedades carcinogénicas, hepatoprotector, algunos son potentes inhibidores enzimáticos
Flavonoles	Kaempferol, miricetina, quercetina y sus glucósido	Las frutas y hortalizas (cebollas, col rizada, puerro, el brócoli, los arándanos), vino tinto y el té	Sensible a la oxidación, la luz y el pH; agliconas ligeramente solubles pero los glucósidos soluble en agua, anti-inflamatorias, antialérgicas, antivirales, antiespasmódico, antibacteriano, antioxidante y anti- propiedades carcinogénicas, hepatoprotector, algunos son potentes inhibidores enzimáticos
Isoflavonas	Daidzeina, genisteina, gliciteina	soja, maní, plantas leguminosas (Soya y sus productos transformados)	Sensible al pH alcalino; astringente y amargo olor; soja; soluble en agua; anti-inflamatorias, antialérgicas, antivirales, antiespasmódico, antibacteriano, antioxidante y anti- propiedades carcinogénicas, hepatoprotector, algunos son potentes inhibidores enzimáticos

Fuente: (Parasi et al., 2014) ⁽⁵⁴⁾

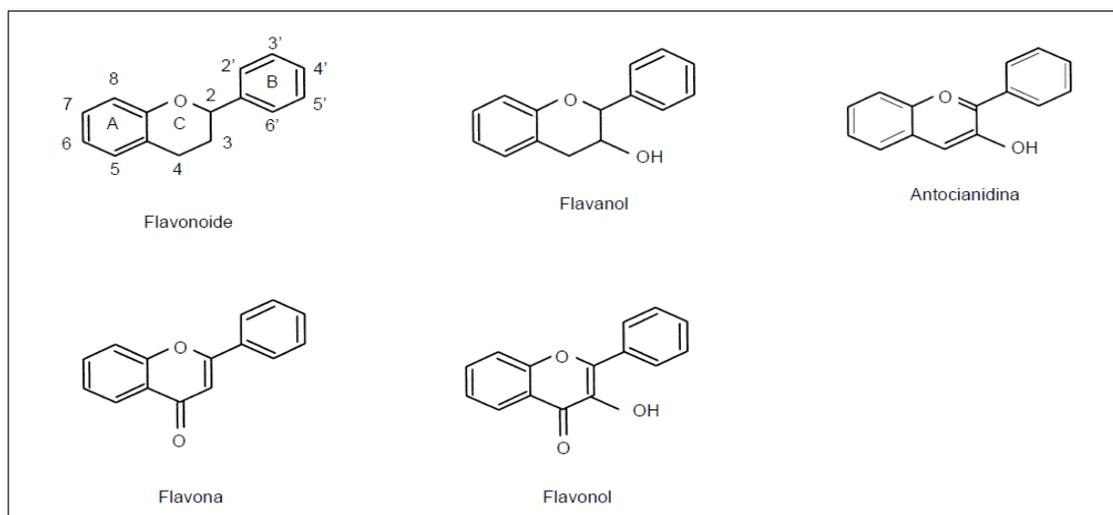


Figura N° 5: Flavonoides. Estructura básica y tipos.

Fuente: (Martínez-Flórez, 2002) ⁽⁵⁵⁾

2.2.2.3. ANTOCIANINAS

El término antocianina (del griego anthos, que significa flor y kyanos, que significa azul) se remonta a 1835, cuando el alemán Ludwig Marquart acuñó este término en un papel. Previamente eran conocidos como savia celular, coloreado. Se creía que estos colores surgían de la degradación de la clorofila durante el otoño. Boyle en 1664 en su trabajo de investigación titulado, "Experiments and considerations touching colors" por primera vez notó que el cambio de color del "jarabe de violeta" de púrpura intenso a verde, debido al "licor ácido". ⁽⁵⁶⁾

En las plantas la función principal de las antocianinas es la coloración de los frutos y flores para atraer a los animales que pueden contribuir a la polinización. También intervienen en la floración, actúan como antioxidantes, agentes antibacteriales, protegen ante el estrés lumínico. ⁽⁵⁷⁾

Las antocianinas son interesantes por dos razones. La primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, las cuales pueden influenciar su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos y la segunda, por su implicación en la salud humana a través de diferentes vías. ⁽⁵⁸⁾

2.2.2.4. ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS Y COLOR

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas (Fig. 1). (Fig. N°6) ⁽⁵⁹⁾.

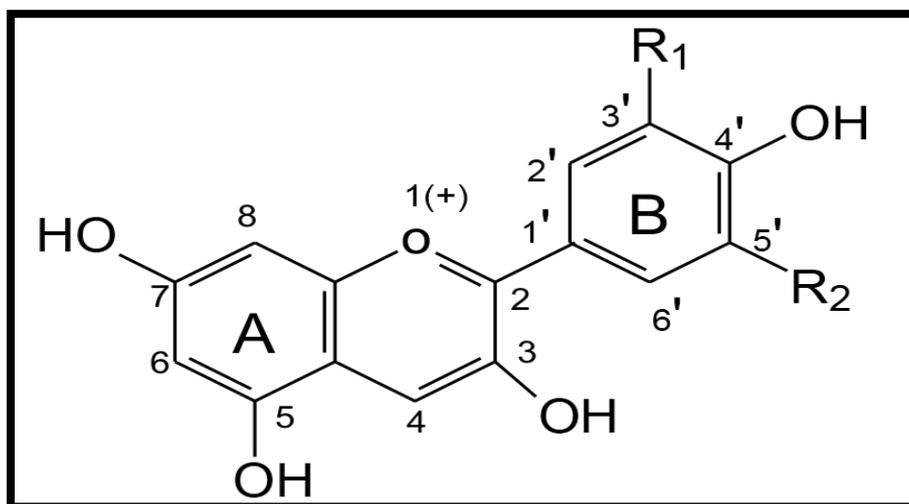


Figura N° 6: Estructura de la antocianina

Fuente: (Landi et al, 2015) ⁽⁵⁶⁾

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad ⁽⁵⁹⁾.

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen, las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 300 antocianinas. Los carbohidratos que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, ocasionalmente, la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa ⁽⁶⁰⁾.

2.2.2.5. ANTOCIANINAS TOTALES DE LA MASHUA

El total de antocianinas investigadas en 3 genotipos de mashua negra DP 0224, ARB 5241, AGM 5109, oscilaron entre 45,5-131,9 mg / 100 g de PF, El genotipo DP 0224 presentó el mayor contenido de antocianinas (131,9 mg / 100 g de PF) y el genotipo AGM 5109 fue el más bajo ⁽⁶¹⁾.



Figura N° 7: Genotipos de mashua negra

Fuente: (chirinos et al, 2006) ⁽⁶¹⁾

En otra investigación, el contenido de antocianinas totales de extractos de mashua fueron: $192,63 \pm 1,28$ mg de cianidina-3-glucósido/100g peso fresco (PF) ⁽¹⁴⁾. Estos son comparables con valores reportados para mora (82,5-325,9 mg /100g de PS) ⁽⁶²⁾, Arroz negro (10-493 mg/100 g de PF) ⁽⁶³⁾, rábano rojo (100-154 mg/100 g PF) ^(64, 65), Arándano rojo (67-140 mg/100 g de PF) ^(66, 64). En cambio las antocianinas totales de la mashua amarillas (5 g.), fluctuaban entre 0,5- 2.05 mg (10-41 mg/100 g de PF) ⁽⁴¹⁾.

2.2.2.6. FACTORES QUE AFECTAN A LA ESTABILIDAD DE LAS ANTOCIANINAS

- **Efecto del pH:** las antocianinas se diferencian de otros subgrupos de flavonoides a causa de una carga estructural positiva a pH ácido. Por ejemplo, las antocianinas del trigo azul, del grano entero o en forma aislada son térmicamente más estables a pH 1, y su degradación fue ligeramente inferior en un pH 3 en comparación con pH 5 ⁽⁶⁷⁾. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. En soluciones acuosas a valores de pH inferiores a dos, básicamente 100% del pigmento se encuentra en su forma más estable o de ión oxonio o catión flavilio (AH⁺) de color rojo intenso ⁽⁶⁸⁾.

- **Efecto de la temperatura:** la temperatura ha demostrado ser uno de los principales factores de degradación de antocianinas durante el procesamiento de alimentos. La estabilidad de las antocianinas en alimentos fue encontrado a disminuir durante el procesamiento y el almacenamiento a medida que la temperatura sube ⁽⁶⁹⁾, esto se debe a que las temperaturas altas contribuyen a la degradación de las antocianinas. Este factor causa la pérdida del azúcar que se encuentra en la posición 3 de la molécula y provoca la apertura del anillo, dando lugar a chalconas que son muy inestables ⁽⁷⁰⁾.
- **Efecto del oxígeno:** la presencia de oxígeno amplifica el proceso de degradación y la condición empeora si hay calefacción. El oxígeno y el aumento de la temperatura fueron las combinaciones más dañinas jamás encontradas en la degradación del color de diferentes jugos de bayas y antocianinas aisladas ⁽⁷¹⁾. En concreto, esto sucede a través de un mecanismo oxidativo directa o a través de la acción de las enzimas oxidantes como el polifenol oxidasa (PPO) ⁽⁷²⁾.
- **Efecto de la Luz:** se estudiaron el efecto de la luz sobre la estabilidad de las antocianinas, el trabajo verificó que la luz tuvo un impacto muy negativo sobre la estabilidad durante el almacenamiento, particularmente en presencia de azúcar ⁽⁷³⁾. Otro estudio bajo luz de neón mostró que el contenido de antocianinas y compuestos fenólicos disminuyeron durante el almacenamiento ⁽⁷⁴⁾.
- **Efecto de enzimas:** las glucosidasas son el tipo más común de las enzimas que degradan las antocianinas al hidrolizar los enlace glucosidicos, otras enzimas degradantes son las fenoloxidasas y polifenoloxidasas, esta última también conocida como antocianasas que oxidan las antocianinas en presencia de o-difenoles ⁽⁷⁵⁾. Estas y otras enzimas son liberadas cuando se producen daños a la integridad de tejidos vegetales ⁽⁶⁰⁾.
- **Efecto de los Azúcares:** Los resultados de la adición de azúcar a la antocianina dependen principalmente de la estabilidad el número y naturaleza de los azúcares adjunta al catión flavilio y el número y la naturaleza de los ácidos vinculado a la fracción glicosilo ⁽⁷⁶⁾.

2.2.2.7. ANTOCIANINAS COMO COLORANTES ALIMENTICIOS:

Las antocianinas son una potente alternativa a los colorantes sintéticos, como el rojo No. 40 (colorante sintetizado de mayor consumo) debido a su toxicidad en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos. Los colorantes sintéticos también han sido

sospecha que afectan negativamente al sistema nervioso central tanto conductualmente y neurológicamente ⁽⁷⁷⁾. Las antocianinas son pigmentos responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul de muchas frutas, vegetales y cereales. El interés en estos pigmentos se ha intensificado gracias a sus posibles efectos terapéuticos y benéficos, dentro de los cuales se encuentran la reducción de la enfermedad coronaria, los efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatoria y antidiabética; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo ⁽⁵⁹⁾.

La demanda de antocianina a nivel mundial, obtenida a partir de fuentes naturales, se calcula entre 1200 y 1300 toneladas anuales. Los principales países consumidores son Japón y Estados Unidos y en menor escala Francia, Inglaterra, Alemania, España, Bélgica y Venezuela. La producción global de antocianinas está orientada a las empresas productoras de productos de bebidas, saborizantes de yogur y golosinas ⁽⁷⁸⁾. Las antocianinas como otros bio-colores tienen un alto valor de mercado, con variaciones de precios, desde US \$1250 a \$2000 por kg. ⁽⁷⁷⁾

2.2.2.8. BENEFICIOS PARA LA SALUD DE LAS ANTOCIANINAS

- **Antioxidante:** las antocianinas han demostrado ser potentes antioxidantes, superior a los antioxidantes conocidos tales como Butilhidroxianisol (BHA) ^(79, 80), alfa-tocoferol, catequina y quercetina. ⁽⁸¹⁾. Las antocianinas tienen la capacidad de eliminar los cationes de los radicales libres, iones radicales y la inhibición de la oxidación de lípidos, como las lipoproteínas de baja densidad (LDL) ⁽⁷⁷⁾.
- **Protección contra enfermedades cardiovasculares:** el desarrollo de la enfermedad cardiovascular se debe principalmente a la hipertensión, la agregación plaquetaria, disfunción del endotelio vascular y alto colesterol LDL en plasma. La antocianina ejerce cardio-protección bajo condiciones de perfusión de isquemia, además de reducir el estrés oxidativo en el endotelio vascular ⁽⁸²⁾. Se demostró que las antocianinas son incorporadas en el citosol y la membrana de las células endoteliales vasculares, por lo tanto, protegen contra el estrés oxidativo y la protección de la función endotelial deteniendo así las enfermedades vasculares ⁽⁸³⁾.
- **Anticancerígeno:** diferentes estudios han demostrado que las antocianinas pueden inhibir el crecimiento celular de diferentes cánceres y fibroblastos embrionarios, indicando su potencial como agentes químicos preventivos, también por ser barata y

segura a suplementos dietéticos anticancerosos⁽⁸⁴⁾. Las antocianinas ejercen actividad antiproliferativa contra células cancerosas derivadas de tejidos malignos⁽⁸⁵⁾. Las antocianinas fueron también potente y selectivo inhibidor de la proliferación de las células de la leucemia promielocítica humana⁽⁸⁶⁾.

- **Alzheimer y función cerebral:** las antocianinas pueden prevenir el Alzheimer, enfermedades neurodegenerativas, aumentando la señalización neuronal en el cerebro, la mediación en función de memoria y la mejora en la utilización de glucosa⁽⁸⁷⁾. Las antocianinas tienen unos efectos muy beneficiosos sobre la memoria, la cognición y la función motora porque retrasa el deterioro de la función neuronal^(87, 88).
- **Efectos oculares:** el efecto beneficioso de las antocianinas para la salud de la visión fue una de las primeras propiedades de salud reportados⁽⁸⁹⁾. En un estudio, la mayoría de los datos sobre el efecto de las antocianinas en la visión se llevaron a cabo en condiciones experimentales rigurosas, incluyendo aleatorizado, doble ciego, ensayos cruzados controlados con placebo. Se determinó la capacidad del extracto de arándano para modular los efectos adversos de A2E en las células epiteliales del pigmento de la retina in vitro. A2E es un pigmento auto-fluorescencia que se acumula en las células epiteliales del pigmento de la retina con la edad y puede mediar una perturbación detergente similar a las membranas celulares y daño inducido por la luz. Esto es significativo ya que generalmente es aceptado que la degeneración macular relacionada con la edad comienza con la muerte de las células epiteliales del pigmento retinal, la degeneración de las células fotorreceptoras seguida poco después por la pérdida de la visión. Los resultados mostraron que los extractos de arándano fueron capaces de suprimir la foto oxidación de disretinoid piridinio A2E por bloqueo del oxígeno singlete. Además, las células que habían tomado las antocianinas también mostraron una resistencia a la permeabilización de la membrana que se produce debido a la acción tipo detergente de A2E⁽⁹⁰⁾.

Muchos estudios han mostrado efectos positivos, que incluyen mejoría en las anomalías de la retina, aumento de la resistencia capilar, ralentización de la progresión de la opacidad y miopía del cristalino, y una mejor adaptación a la oscuridad. Por ejemplo, en un estudio de 50 pacientes con catarata senil leve, se informó que 4 meses de suplementación con antocianinas de arándano más vitamina E tienen una tasa de éxito del 97% para prevenir la progresión de la catarata⁽⁹¹⁾.

2.2.2.9. ANTOCIANINAS Y DIABETES

Durante los últimos años se hicieron varios ensayos clínicos con antocianinas, relacionándolo con efectos sobre la diabetes

- **Estrés oxidativo:** existe un vínculo importante entre el estrés oxidativo, la respuesta inflamatoria y la actividad de la insulina. La generación excesiva de radicales libres se produce en el estado hiperglucémico y hiperlipidémicos. Con el fin de reducir los radicales libres y en última instancia, el estrés, se requieren antioxidantes como antocianinas ⁽⁹²⁾, también se demostró que frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y contra los radicales peróxido (ROO.), superóxido (O₂.-), hidroxilo (-OH) y oxígeno singlete (¹O₂) ⁽⁹³⁾.
- **Protección de las células beta:** cuando se desarrolla la diabetes, las células β del páncreas dejan de funcionar debido al estrés oxidativo alto. Pero las antocianinas pueden disminuir el estrés oxidativo por su acción antioxidante y las células β pueden estar protegidas ⁽⁹⁴⁾. El extracto de la fruta arándano (*Vaccinium angustifolium*) aumentó la proliferación de las células β del páncreas ejerciendo un efecto antidiabético ⁽⁹⁵⁾, Que puede ser debido a las antocianinas ⁽⁹⁶⁾. El tratamiento con antocianinas de cubiertas de las semillas de soja negro impidió la apoptosis de células β ⁽⁹⁷⁾. La antocianina purificada aumento las funciones de las células β de ratones C57BL / 6 ⁽⁹⁸⁾.
- **Secreción de insulina:** Investigaron la liberación de insulina inducida por glucosa a partir de las células beta pancreática por antocianinas y antocianidinas in vitro, en particular la cianidina, delfinidina y pelargonidina, ya que son los componentes bioactivos primarios de las frutas *Cornus* (cereza Cornelian europea y asiática). Los resultados sugieren que tanto los antocianinas y antocianidinas son secretagogos de insulina (aumentan la secreción). Estos resultados indican que el número de grupos hidroxilo en el anillo B de las antocianinas juegan un papel importante en su capacidad de secretar insulina ⁽⁹⁹⁾. también se informó de que varios compuestos presentes en la piel de uvas enteras son capaces de aumentar la secreción de insulina ⁽¹⁰⁰⁾.

2.2.3. FISIOLÓGÍA DEL PÁNCREAS

Se compone de dos grandes tipos de tejidos, como ilustra la (*figura N° 8*), los ácinos, que secretan jugos digestivos al duodeno y los islotes de Langerhans ⁽¹⁰¹⁾.

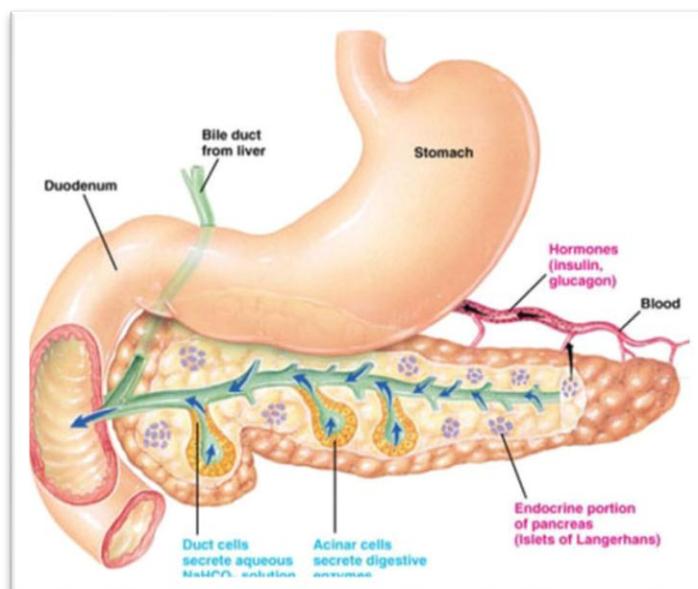


Figura N° 8: Fisiología del páncreas

Fuente: (Frank et al, 2004) ⁽¹⁰²⁾

Los islotes de Langerhans en el páncreas secretan por lo menos cuatro polipéptidos con actividad reguladora. De ellos, dos son las hormonas, insulina y glucagón, las cuales poseen funciones importantes en la regulación del metabolismo intermediario de carbohidratos, proteínas y grasas. El tercer polipéptido, somatostatina (hormona del crecimiento), interviene en la regulación de la secreción de las células insulares y, el cuarto, el polipéptido pancreático, quizá se encargue de manera principal de la regulación de la secreción de HCO₃⁻, al intestino ⁽¹⁰¹⁾.

2.2.3.1. INSULINA

La insulina es una hormona polipeptídica de 51 residuos de aminoácido, con un peso molecular de 5.808, que es secretada por las células β de los islotes pancreáticos. Se sintetiza como una sola cadena polipeptídica en el retículo endoplásmico rugoso: la proinsulina. Esta proteína se encierra en microvesículas en las cisternas del retículo endoplásmico, donde sufre algunas modificaciones en su estructura, con el plegamiento de la cadena y la formación de puentes disulfuro (*figura N°9*). Se forma así la molécula de proinsulina que se transporta al aparato de Golgi, donde se empaqueta en gránulos de secreción ⁽¹⁰¹⁾.

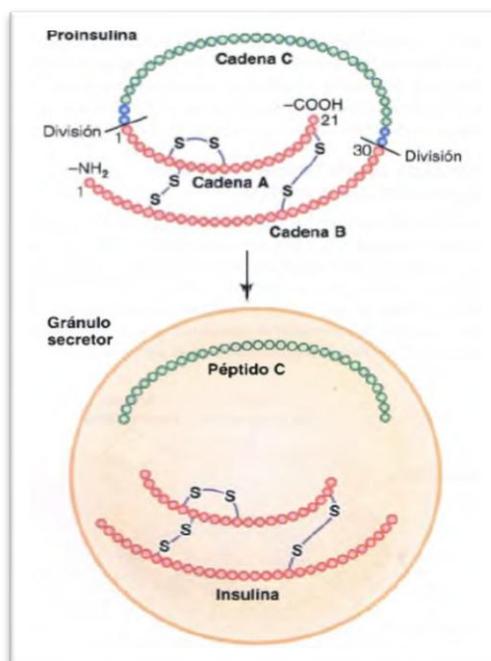


Figura N° 9: Proinsulina e insulina

Fuente: (Guyton y hall) ⁽¹⁰¹⁾

Durante la maduración de estos gránulos, la proinsulina es atacada por enzimas proteolíticas que liberan la molécula de insulina y el péptido C. Estos gránulos que contienen cantidades equimolares de insulina y péptido C, además de una pequeña proporción de proinsulina sin modificar, son expulsados por un complejo sistema de microtúbulos y microfilamentos hacia la periferia de las células β . Cuando se fusiona la membrana del gránulo con la membrana celular se disuelven ambas en el punto de contacto y se produce la exocitosis del contenido del gránulo ⁽¹⁰¹⁾.

El proceso de secreción de insulina está regulado mediante señales generadas por nutrientes, neurotransmisores y hormonas. Entre los nutrientes, la glucosa es el principal regulador fisiológico de la secreción de insulina. La glucosa penetra en la célula β mediante un transportador tipo GLUT 2, que permite la entrada rápida de la misma a concentraciones fisiológicas. En el interior de la célula sufre una fosforilación a glucosa-6-P mediante una glucoquinasa, esta enzima se considera el verdadero sensor de glucosa de la célula β , ya que su actividad es esencial para la estimulación de la secreción de insulina mediada por glucosa. La glucosa-6-P es el paso inicial del metabolismo de la glucosa, cuyo fin es la producción de ATP. El incremento ATP/ADP cierra los canales de potasio dependientes de ATP, de forma que el potasio se acumula en el interior de la célula, lo que produce la despolarización de la membrana celular con lo que se abren sus

canales de calcio y la entrada de dicho catión en la célula, que es esencial para la secreción de insulina ⁽¹⁰³⁾.

2.2.3.2. METABOLISMO DEL GLUCAGÓN

El glucagón es una hormona secretada por las células alfa de los islotes de Langerhans cuando disminuye la glucemia y cumple varias funciones diametralmente opuestas a las de la insulina. La más importante de ellas consiste en elevar la concentración sanguínea de glucosa, efecto contrario al de la insulina. Como la insulina, el glucagón es un polipéptido grande, con un peso molecular de 3.485, compuesto por una cadena de 29 aminoácidos. Cuando se inyecta glucagón purificado a un animal, ocurre una hiperglucemia intensa. Basta con 1 µg/kg de glucagón para elevar la concentración sanguínea de glucosa unos 20 mg/100 ml de sangre (un incremento igual al 25%) en 20min. Por este motivo, el glucagón se conoce como hormona hiperglucemiante ⁽¹⁰⁴⁾.

TABLA N° 7: EFECTOS DE LA INSULINA Y EL GLUCAGÓN SOBRE EL METABOLISMO DE LA GLUCOSA, LOS LÍPIDOS Y LAS PROTEÍNAS

Metabolismo de la Glucosa	Insulina	Glucagón
Glucosa		
Transporte de glucosa	Aumenta el transporte de glucosa hacia el musculo esquelético y el tejido adiposo	---
Síntesis de glucógeno	Aumenta la síntesis de glucógeno	Promueve la degradación de glucógeno
Gluconeogénesis	Reduce la gluconeogénesis	Aumenta la gluconeogénesis
Lípidos		
Síntesis de triglicéridos	Aumenta la síntesis de triglicéridos	---
Transporte de triglicéridos en el tejido adiposo	Aumenta el transporte de ácidos grasos hacia los adipocitos	Estimula la lipólisis en el tejido adiposo con la liberación de ácidos grasos y glicerol para sus utilización en la gluconeogénesis
Activación de la lipasa en los adipocitos	Inhibe la lipasa de los adipocitos	Activa la lipasa de los adipocitos
Proteínas		
Transporte de aminoácidos	Aumenta el transporte activo de aminoácidos hacia el interior de las células	Aumenta el transporte de aminoácidos hacia el interior de las células hepáticas
Síntesis de proteínas	Aumenta la síntesis de proteínas mediante el incremento de la transcripción de RNA mensajero y la aceleración de la síntesis proteica por RNA ribosómico	Aumenta la degradación de las proteínas con formación de aminoácidos para sus utilización en la gluconeogénesis
Degradación de proteínas	Reduce la degradación de las proteínas mediante el incremento de la utilización de glucosa y ácidos grasos como combustibles	Aumenta la conversión de aminoácidos en precursores de la glucosa

Fuente: (Guyen et al, 2006) ⁽¹⁰⁴⁾

2.2.4. DIABETES MELLITUS

La diabetes es una enfermedad crónica grave que sobreviene cuando el páncreas no produce suficiente insulina (hormona que regula la concentración de azúcar (glucosa) en la sangre, o glucemia) o cuando el organismo no puede utilizar de manera eficaz la insulina que produce⁽⁸⁾.

La DM puede clasificarse en cuatro categorías clínicas:

1. DM tipo 1 (DM1): debida a la destrucción de la célula beta y, en general, con déficit absoluto de insulina.
2. DM tipo 2 (DM2): debida a un déficit progresivo de secreción de insulina sobre la base de una insulinoresistencia.
3. Diabetes gestacional (DG): DM diagnosticada durante el embarazo; no es una DM claramente manifiesta.
4. Otros tipos específicos de DM: debidos a otras causas, como defectos genéticos en la función de las células beta o en la acción de la insulina, enfermedades del páncreas exocrino (como la fibrosis quística) o inducidas farmacológicamente o químicamente (como ocurre en el tratamiento del VIH/sida o tras trasplante de órganos)⁽⁷⁾.

2.2.4.1 DIABETES MELLITUS TIPO I

La diabetes tipo 1 (DM1) corresponde a la entidad anteriormente denominada diabetes mellitus insulino dependiente o juvenil, en la que la destrucción de las células β del páncreas conduce a una deficiencia absoluta de insulina. En la clasificación actual, la DM1 se subdivide en dos subtipos: DM1 A o autoinmune y DM1 B o idiopática⁽¹⁰⁵⁾.

2.2.4.1.1. DM1 A o AUTOINMUNE

Enfermedad autoinmune en la que existe una destrucción selectiva de las células β del páncreas mediada por linfocitos T activados en sujetos con haplotipos HLA de predisposición. Después de un período preclínico de duración variable, durante el cual el paciente permanece asintomático, cuando la masa de células productoras de insulina llega a un valor crítico el paciente presenta la sintomatología clásica: poliuria, polidipsia, polifagia, pérdida de peso y una progresiva cetosis que puede acabar en cetoacidosis, si no se instaura tratamiento con insulina exógena⁽¹⁰⁵⁾

2.2.4.1.2. DM1 B o IDIOPÁTICA

Como contraposición a la DM1 A, la DM1 B engloba a aquellos pacientes con mismas o iguales características, en los que no se encuentran datos de autoinmunidad ni haplotipos HLA de predisposición. Como entidad de reciente descripción se conoce poco de su etiología, evolución y pronóstico. ⁽¹⁰⁵⁾ Las personas con este tipo de diabetes (la mayoría de ascendencia africana o asiática), sufren cetoacidosis episódica y muestran diferentes grados de deficiencia de insulina entre los episodios. Esta diabetes tiene un fuerte componente hereditario, carece de pruebas inmunológicas de autoinmunidad de las células β , no están asociadas al HLA y el requerimiento absoluto de terapia de reemplazo de la insulina en los pacientes afectados puede ser intermitente. ⁽¹⁰⁶⁾

2.2.4.2. DIABETES MELLITUS TIPO II

Caracterizada por un defecto relativo de la insulina o aumento de la resistencia de su acción. Es el tipo más frecuente y supone alrededor de 90% - 95% de los diabéticos. Suele aparecer de forma solapada e insidiosa ⁽¹⁰⁸⁾.

El desarrollo de la diabetes de tipo II suele ir precedido de obesidad, resistencia a la insulina y «síndrome metabólico». Al contrario que la diabetes de tipo I, la de tipo II se asocia a un aumento de la concentración plasmática de insulina (hiperinsulinemia), que es la respuesta compensadora de las células beta del páncreas a la disminución de la sensibilidad de los tejidos efectores a los efectos metabólicos de la insulina, fenómeno conocido como resistencia a la insulina. La reducción de la sensibilidad a la insulina altera la utilización y el almacenamiento de los hidratos de carbono, eleva la glucemia e induce un incremento compensador de la secreción de insulina ⁽¹⁰¹⁾.

2.2.4.2.1. RESISTENCIA A LA INSULINA Y SÍNDROME METABÓLICO

La principal función de la insulina es mantener la homeostasis glicémica y de otros sustratos energéticos. Posterior a cada comida la insulina suprime la liberación de ácidos grasos libres mientras que favorece la síntesis de triglicéridos en el tejido adiposo. La insulina inhibe la producción hepática de glucosa, mientras que promueve la captación de glucosa por el tejido muscular esquelético y adiposo ⁽¹⁰⁹⁾. En un estado de RI, la acción de esta hormona a nivel celular está reducida, lo que aumenta la secreción de insulina. Esto permite compensar el defecto en la acción tisular y así mantener la homeostasis

glicémica. Este fenómeno da cuenta del estado hiperinsulinémico, el cual es característico en sujetos con RI, particularmente después de una comida alta en carbohidratos ⁽¹¹⁰⁾.

La resistencia a la insulina no solo contribuye a la hiperglicemia en pacientes diabéticos tipo 2 sino también puede desempeñar un papel en otras alteraciones metabólicas, tales como la elevación del nivel sérico de triglicéridos y la reducción del nivel sérico de lipoproteínas de alta densidad (HDL), la hipertensión, la inflamación sistémica (detectada por el nivel de proteína C reactiva [CRP] y otros mediadores), alteraciones de la fibrinólisis, alteración de la función del endotelio vascular y enfermedad macrovascular (arterial coronaria, cerebrovascular, arterial periférica) ⁽¹⁰⁴⁾. Esta constelación de trastornos en 1998 la Organización Mundial de la Salud (OMS) propuso la denominación de SM para englobar las distintas entidades patológicas que determinan un aumento del riesgo cardiovascular ⁽¹¹¹⁾.

Un factor de riesgo importante para el desarrollo de diabetes tipo 2 en pacientes con síndrome metabólico es la obesidad central. Alrededor del 80% de las personas con diabetes tipo 2 presentan sobrepeso. En las personas obesas son más frecuentes la resistencia a la acción de la insulina y la alteración del mecanismo de supresión de producción de glucosa por parte del hígado, lo que conduce a la hiperglicemia e hiperinsulinemia ⁽¹¹²⁾.

2.2.4.2.2. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA DIABETES TIPO II ⁽¹⁰⁸⁾

Medio ambiente

- **Urbanización:** Migración de área rural a urbana.
- **Riesgo ocupacional:** En relación a las horas de la jornada laboral, existiría un incremento del 30% de riesgo de desarrollar diabetes en las personas de un estrato socioeconómico bajo que trabajan de 55 horas a más por semana, en comparación con los que trabajan de 35 a 40 horas por semana.

La exposición a riesgos psicosociales (carga mental, jornada de trabajo, contenido de la tarea, relaciones interpersonales, seguridad contractual, entre otros) en el ambiente de trabajo por periodos prolongados (años) están asociados a síndrome metabólico.

Estilos de vida

- **Sedentarismo:** Existe asociación entre la poca (menor a 150 minutos por semana de intensidad moderada) o nula actividad física con el riesgo a desarrollar DM2.
- **Malos hábitos alimentarios:** El consumo de alimentos con alto índice glucémico y alto valor calórico aumenta el riesgo de DM2.
- **Tabaquismo:** La exposición al humo de tabaco durante el embarazo aumenta el riesgo de diabetes en ese bebé al llegar a la adultez. Asimismo, el hábito de fumar incrementa el riesgo de enfermedad cardiovascular en las personas con diabetes mellitus.
- **Alcohol:** Existe mayor riesgo de diabetes y el consumo excesivo de alcohol, aunque se producen daños bioquímicos en la célula pancreática con consumos menores.

Factores hereditarios

- **Antecedente familiar de diabetes mellitus:** Existe mayor riesgo de diabetes en personas con familiares con diabetes, principalmente en aquellos de primer grado de consanguinidad.

Relacionados a la persona

- **Hiper glucemia intermedia:** glucemia en ayunas alterada (110-126 mg/dl), de intolerancia oral a la glucosa (140-199 mg/dl a las 2h tras 75 gramos de glucosa oral) o ambas a la vez.
- **Síndrome metabólico (SM):** Está asociado a un incremento de riesgo de padecer DM2 de 3 a 5 veces.

Sobrepeso y obesidad

- **Obesidad abdominal:** El valor de perímetro abdominal mayor o igual a 88 cm. En la mujer y 102 cm. en el hombre.
- **Etnia:** El riesgo de desarrollar diabetes es mayor en nativos y población mestiza latinoamericana, raza negra, asiáticos y menor en caucásicos que en el resto de etnias.
- **Edad:** Se considera mayor riesgo en las personas mayores de 45 años, la prevalencia de DM2 es directamente proporcional al incremento de la edad cronológica²⁸.
- **Dislipidemia:** Hipertrigliceridemia (> 250 mg/dl en adultos) y de niveles bajos de colesterol HDL (< 35 mg/dl) están asociados a insulino resistencia.
- **Historia de enfermedad cardiovascular:** DM2 asociado a infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, enfermedad arterial periférica, aterosclerosis entre otras enfermedades.

- **Hipertensión arterial (HTA):** Presión arterial $\geq 140/90$ mmHg o estar en terapia para hipertensión como factor de riesgo asociado a DM2.
- **Antecedentes obstétricos de diabetes mellitus gestacional:** El riesgo de desarrollar DM2 es mayor en mujeres con antecedentes de DMG.
- **Antecedente de hijos macrosómicos:** Recién nacido con peso $> 4,000$ gr³².
- **Antecedente de bajo peso al nacimiento:** nacer con peso $< 2,500$ gr y/o prematuridad.
- **Acantosis nigricans y acrocordones:** Son lesiones dérmicas secundarias a la resistencia a la insulina. La acantosis nigricans es una hiperpigmentación cutánea que se presenta en pliegues de cuello, axilas, ingle y nudillos. Los acrocordones son lesiones dérmicas pediculadas que suelen aparecer en las zonas de acantosis nigricans.
- **Síndrome de ovario poliquístico (SOPQ):** El riesgo de desarrollar DM2 aumenta tres veces en mujeres con SOPQ. La aparición de trastornos glucémicos en mujeres con SOPQ puede ocurrir a una edad temprana (los 30 o los 40 años) y pueden presentar mayor riesgo de desarrollar DMG.
- **Condiciones clínicas como:** esteatosis hepática, síndrome de apnea-sueño, hiperuricemia.

Otros factores de riesgo

- **Bajo grado de instrucción:** El riesgo de desarrollar DM2 aumenta en individuos con bajo nivel educativo.

2.2.4.2.3. DIAGNÓSTICO DE DM II

Criterios diagnósticos

1. Síntomas de diabetes (poliuria, polidipsia y pérdida de peso) y una glucemia plasmática al azar (a cualquier hora del día) >200 mg/dl.
2. Dos determinaciones de glucemia basal en plasma venoso >126 mg/dl. Ausencia de ingesta calórica en las 8 horas previas.
3. Dos determinaciones de glucemia en plasma venoso >200 mg/dl a las 2 horas de test de tolerancia oral a la glucosa con 75 g (TTOG) ⁽¹¹³⁾.

Métodos diagnósticos

- **Glucemia basal en plasma venoso (GBP):** es el método recomendado para el diagnóstico de diabetes y la realización de estudios poblacionales. Es un test preciso, de bajo coste, reproducible y de fácil aplicación. La medición de glucosa en plasma es aproximadamente un 11% mayor que la glucosa medida en sangre total en situación de ayuno o basal. En los estados no basales (postprandiales), ambas determinaciones son prácticamente iguales ⁽¹¹³⁾.
- **Test de tolerancia oral a la glucosa (TTOG):** consiste en la determinación de la glucemia en plasma venoso a las dos horas de una ingesta de 75 g de glucosa en los adultos ⁽¹¹³⁾.

TABLA N° 8: CONDICIONES PARA LA REALIZACIÓN DEL TEST DE TOLERANCIA ORAL A LA GLUCOSA (TTOG)

No realizar prueba en caso de:	<ul style="list-style-type: none"> • Glucosa basal >126 mg/dl • Enfermedad aguda o estrés postquirúrgico (retrasar tres meses). • Tratamientos farmacológicos que no puedan ser suspendidos
preparación	Al menos tres días antes dieta libre y rica en hidratos de carbono (HC) (mínimo de 150 g/día) y actividad física sin restricciones.
Método	<ul style="list-style-type: none"> • Ayuno absoluto 8-12 horas (excepto agua). • Realizar la prueba por la mañana (entre 8-10 horas). • Administración oral de 75 g de glucosa en 250 ml de agua (embarazadas 100 g y en niños 1,75 g/kg de peso). • El paciente permanecerá sentado y no fumará durante la prueba. • En la población general es suficiente con una determinación a las dos horas. • A las embarazadas se les realizarán tres extracciones (1, 2 y 3 horas después de ingerir 100 g de glucosa anhidra).

Fuente: (Grupo de la GPC, 2008) ⁽¹¹³⁾.

- **Hemoglobina glicosilada (HBA1 C):** Refleja la media de las determinaciones de glucemia en los últimos dos-tres meses en una sola medición y puede realizarse en cualquier momento del día, sin preparación previa ni ayuno. Es la prueba recomendada para el control de la diabetes ⁽¹¹³⁾.

Se ha planteado que la HbA1 c podría ser útil para diagnosticar una diabetes en los pacientes con glucemia basal alterada (110-125 mg/dl), ya que si existiera un resultado positivo en presencia de una especificidad elevada, o negativo con una sensibilidad elevada, podría evitar la realización de la curva. De esta forma se podrían individualizar mejor las intervenciones en este grupo de pacientes ⁽¹¹³⁾.

2.2.4.3. COMPLICACIONES AGUDAS DE LA DIABETES MELLITUS

- **Hipoglucemia**

La hipoglucemia o reacción insulínica, es consecuencia de un exceso relativo de insulina en la sangre y se caracteriza por un nivel sanguíneo de glucosa inferior al límite inferior. Esta complicación se observa con mayor frecuencia en pacientes tratados con inyecciones de insulina, pero la hipoglucemia prolongada también puede ser consecuencia del tratamiento con ciertos fármacos hipoglucemiantes. Los signos y síntomas de hipoglucemia son muy variables; no todos los pacientes diabéticos presentan la totalidad o la mayoría de síntomas. Los signos y síntomas de hipoglucemia son más variables en los niños y en los pacientes de edad avanzada. Los ancianos pueden no mostrar las respuestas autonómicas típicas asociados con la hipoglucemia y a menudo presentan signos de disfunción de sistema nervioso central. Incluso la confusión neural ⁽¹¹⁷⁾. Existen numerosos factores que pueden desencadenar una reacción insulínica en pacientes con diabetes tipo 1, tales como errores en la dosificación de la insulina, la no ingestión de alimentos, el aumento del ejercicio físico, la disminución de la necesidad de insulina después de la desaparición de una situación de estrés, los cambios de medicación y la modificación del sitio de inyección de insulina. El tratamiento más eficaz de la reacción insulínica es la administración inmediata de 15 a 20 gr de glucosa en una forma de una fuente de hidratos de carbono concentrados y esta medida puede repetirse según necesidad ⁽¹⁰⁴⁾.

- **Cetoacidosis**

La ausencia de insulina conduce a la movilización de ácidos grasos desde el tejido adiposo, debido a la falta de supresión de la actividad de la lipasa del tejido adiposo, la cual degrada los triglicéridos para formar ácidos grasos y glicerol. El aumento del nivel sérico de ácidos grasos conduce a la producción aumentada de cetonas por parte del hígado (104). Las 3 principales alteraciones metabólicas de la CAD comprenden la hiperglucemia, cetosis y acidosis metabólica. El diagnóstico definitivo de la CAD se basa en la hiperglicemia (>250 mg/dl), la reducción del nivel sérico de bicarbonato (<15 mEq/L) y la disminución del pH sanguíneo ($<7,3$) asociada con cetonia (prueba positiva con una dilución 1:2) y cetonuria moderada ⁽¹¹⁸⁾.

2.2.4.4. TRATAMIENTO NO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES MELLITUS

- **Tratamiento Nutricional**

El tratamiento médico nutricional es parte integral de la vigilancia médica del paciente diabético, que requiere alcanzar concentraciones de glucosa y lípidos cercanas a la normalidad; proporcionar la energía adecuada para conseguir un peso razonable, así como un crecimiento y desarrollo adecuados; además de prevenir, retardar o dar tratamiento a las complicaciones. Por ello, es decisiva la intervención de un especialista en nutrición como parte del equipo de salud, quien a través del plan de alimentación proporcionará las bases necesarias para mantener el buen estado de nutrición del paciente con diabetes ⁽¹²³⁾.

La distribución de macronutrientes debería estar basada en la evaluación individualizada de la forma de comer del paciente, de sus preferencias y de los objetivos metabólicos. Para una buena salud, se debe aconsejar el consumo de hidratos de carbono procedente de verduras, frutas, cereales integrales, legumbres y productos lácteos, y no de otras fuentes de hidratos de carbono como los que contienen grasas añadidas, azúcares o sodio. De los lípidos el consumo debe ser rica en ácidos grasos monoinsaturados, que puede beneficiar de control de la glicemia y de los factores de riesgo ECV. Las proteínas pueden ser aprovechadas de las menestras, pescado y carnes con poca grasa ⁽¹²⁴⁾.

- **Actividad Física**

Un programa de entrenamiento mejora el control glucémico y previene las complicaciones micro y macrovasculares. Los beneficios del ejercicio pueden observarse desde la primera sesión (efecto agudo) con mejoría de la captación muscular de glucosa; o con ejercicio rutinario (efecto crónico), el cual disminuye la hemoglobina glucosilada y la glucemia tanto en ayunas como postprandial. Aunque el ejercicio aeróbico ha sido la modalidad prescrita tradicionalmente, el ejercicio de resistencia mejora tanto la fuerza, como la masa muscular y disminuye el riesgo cardiovascular. La combinación de ambos proporciona mayor beneficio. ⁽¹²⁵⁾. Se sugiere que se ponga una meta de por lo menos 30 minutos de actividad física moderada o vigorosa 5 días de la semana ⁽¹²⁶⁾.

2.2.4.5. TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO DE LA DIABETES MELLITUS

Para el tratamiento farmacológico de la DM se dispone de insulina en sus distintas presentaciones y de hipoglucemiantes orales. Los hipoglucemiantes orales constituyen el principal tratamiento para los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 ⁽¹²⁷⁾.

2.2.4.5.1. HIPOGLUCEMIANTES ORALES

Son un conjunto heterogéneo de drogas que se caracterizan por producir una disminución de los niveles de glucemia luego de su administración por vía oral, cumpliendo con este propósito a través de mecanismos pancreáticos y/o extrapancreáticos ⁽¹²⁸⁾.

TABLA N° 9: HIPOGLUCEMIANTES ORALES

Grupo	Principal mecanismo de acción	No se recomienda su prescripción en	Efecto en HbA1c	Efecto en el peso
Sulfonilureas	Incremento de secreción pancreática de insulina	Embarazo, insuficiencia renal, insuficiencia hepática, DM-1	Disminución de 1 a 2%	Aumento
Biguanidas	Disminución de producción hepática de glucosa	Embarazo, insuficiencia renal, insuficiencia hepática o insuficiencia cardíaca, acidemia, infección grave	Disminución de 1 a 2%	Disminución
Glinidas	incremento de secreción pancreática de insulina	Embarazo, insuficiencia cardíaca, DM-1	Disminución de 1 a 2%	Incremento
Tiazolidinedionas	Incremento de la captación de glucosa en el músculo estriado	Embarazo, retención hídrica, insuficiencia hepática, insuficiencia cardíaca, anemia, DM-1	Disminución de 0.9 a 1.5%	Incremento
Inhibidor de la α -glucosidasa intestinal	Disminución de la absorción intestinal de glucosa	Absorción intestinal deficiente, enfermedad inflamatoria intestinal, insuficiencia hepática	Disminución de 0.5 a 1%	Neutro
Incretinas y análogos de la amilina	Incremento de la secreción de insulina, disminución de la producción hepática de glucosa, retardo en el vaciamiento gástrico, disminución del apetito	Embarazo, insuficiencia renal o hepática, DM-1	Disminución de 0.5 a 1%	Disminución o neutro

Fuente: (Chong, 2002; Ariza y Álvarez, 2008) ^(127, 128)

2.2.4.5.2. INSULINAS

La insulina es parte fundamental en el tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 1 (DM1) y en muchos de los de tipo 2 (DM2) cuando no se alcanza el control glucémico con antidiabéticos orales (ADO) en combinación, o en el momento del diagnóstico si la hiperglucemia es severa ⁽¹²⁹⁾.

➤ TIPOS DE INSULINAS

Con el objetivo de mejorar la farmacocinética de la insulina, se han efectuado modificaciones de su molécula para sintetizar análogos de insulina: prandiales (lispro, aspart, glulisina), basales (glargina, detemir), que reproducen mejor la secreción fisiológica que la insulina humana regular y la Neutral Protamine Hagedorn (NPH), respectivamente. Los análogos de acción lenta frente a NPH presentan una duración de acción más prolongada, menor variabilidad, más predictibilidad y menos hipoglucemias nocturnas ⁽¹²⁹⁾.

Insulinas Prandiales

En este grupo se encuentran la insulina regular o soluble, y los análogos aspart, glulisina y lispro. Los análogos tienen un inicio de acción más precoz (10-15 minutos frente a los 30 minutos de las insulinas rápidas humanas) y una duración de acción más corta de 2-4 h. Estos análogos rápidos, debido a la posibilidad de administrarlos inmediatamente antes o incluso después de las comidas, pueden suponer ventajas frente al tratamiento con insulina regular humana en pacientes que precisan flexibilizar sus horarios de las comidas. ⁽¹³⁰⁾.

Insulinas Basales

- **NPH (insulina Hagedorn Protamina Neutra):** se caracteriza por una lenta absorción debido a la adición de protamina a la insulina regular, es una solución de aspecto lechoso. Su acción se inicia a las 2 horas y tiene una duración total de 13 a 18 horas con una acción máxima entre las 5 y 8 horas siguientes a su administración que sólo puede ser subcutánea ⁽¹³⁰⁾. Aunque su uso ha disminuido en los últimos años debido al aumento de la prescripción de insulina glargina y otros análogos, sigue siendo una insulina segura en pacientes con bajo riesgo de hipoglucemia y a un menor coste ⁽¹²⁹⁾.

- **Insulina glargina. (Gla. 100, 300 U/ml):** no tiene un pico apreciable y su duración de acción es de 24 horas la de 100 U/ml y <36 h la de 300U/ml. Su eficacia en la reducción de la HbA1c, administrada una vez al día, es similar a la de la insulina NPH administrada 1-2 veces al día. Gla-300 permite administrar la misma cantidad de unidades de insulina que Gla-100 en un tercio de volumen (si se necesita cambiar de Gla-100 a Gla-300, se puede iniciar con la misma dosis). Esto permite utilizar una menor superficie de absorción para una misma dosis, lo que permite una liberación más lenta de insulina ⁽¹³¹⁾.
- **Insulina detemir:** su potencia hipoglucemiante es inferior respecto a la de la insulina NPH lo que obliga a administrarla en una dosis mayor que la anterior para conseguir una potencia hipoglucemiante equivalente. En cuanto a la farmacocinética, la insulina detemir presenta una duración de aproximadamente 20 horas, con un perfil más plano que la insulina NPH y ninguna alteración en su espectro en pacientes con insuficiencia renal o hepática. La insulina detemir se relaciona con menos riesgo de hipoglucemias nocturnas y menor ganancia de peso que la insulina NPH ⁽¹³⁰⁾.
- **Insulina degludec:** la insulina degludec es una insulina basal análoga de nueva generación con duración de acción ultraprolongada. Su acción dura al menos 42 horas, con vida media de 25.4 horas con menor riesgo de hipoglucemia, sobre todo de la nocturna, que tiene un perfil farmacocinético y farmacodinámico único que la hace superior a otras insulinas basales ⁽¹³²⁾.

2.2.5. ALOXANO

Es un agente diabetogénico bien conocido que se utiliza para inducir la diabetes tipo I en animales de experimentación ⁽¹³³⁾, es un análogo de glucosa tóxico que se acumulan preferentemente en las células beta del páncreas a través del transportador de glucosa GLUT2. En presencia de tioles intracelulares, especialmente glutatión, el aloxano genera especies reactivas de oxígeno (ROS) en una reacción redox cíclica con su producto de reducción, ácido dialuric. La autooxidación de ácido dialuric genera radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y, en una etapa de reacción de hierro catalizada por último, radicales hidroxilo ⁽¹³⁴⁾. Se ha utilizado ampliamente para producir diabetes experimental

en animales tales como conejos, ratas, ratones y perros con diferentes grados de gravedad de la enfermedad mediante la variación de la dosis ⁽¹³³⁾.

2.2.6. RATA WISTAR

La rata Wistar, es uno de los animales de laboratorio más empleado en la investigación, ya que presenta un tamaño pequeño, ciclo de vida y períodos de gestación cortos. La rata de laboratorio, *Rattus norvegicus* es un roedor cuyo ancestro es la rata gris o noruega. Esta rata es originaria de las regiones templadas de Asia y debido a su cercana asociación con el hombre, se ha extendido por todo el mundo. La rata fue el primer mamífero en ser domesticado con fines científicos ⁽¹³⁵⁾. Por ser un modelo aceptable por sus características biológicas, tamaño, disponibilidad y homogeneidad, resistencia a enfermedades y aspectos fundamentales en investigaciones ⁽²³⁶⁾.

Taxonomía ⁽¹³⁵⁾

Clase:	Mamífera
Orden:	Rodentia
Suborden:	Miomorfa
Familia:	Muridae
Subfamilia:	Murinae
Género:	Rattus
Especie:	Norvergicus
Cepa:	Wistar

2.2.6.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES

El período de vida de la rata es de 2 a 3 años (*tabla N° 10*) para ratas mantenidas en un ambiente convencional. Existen diferencias de longevidad de acuerdo con la cepa ⁽¹³⁷⁾.

La rata posee glándulas mamarias y pelo que son características de la clase Mammalia. A lo largo del lado ventral del pecho y abdomen de la hembra, se encuentran seis pares de pezones que son empleadas para alimentar a sus crías. El pelo, que cubre a la rata, se denomina pelaje, proporciona tanto protección como aislamiento a la piel. La cola, principalmente es utilizada como un órgano balanceador, está cubierta de pequeñas escamas sobre-puestas. Su cabeza es alargada y termina en una nariz puntiaguda, la cual es muy sensible al tacto ⁽¹³⁸⁾. Su aparato para roer es similar al de otros roedores. Los incisivos tienen forma de cincel y crecen en forma continua, poseen poderosos músculos mandibulares, un gran diastema (espacio que se encuentra entre los incisivos y los

molares). La rata es de hábitos nocturnos, realizando durante la noche su mayor consumo de alimentos, es un animal coprófago, ingiriendo las heces directamente del ano o del piso de la jaula ⁽¹³⁹⁾.

La rata no posee vesícula biliar, presenta un páncreas difuso. El ciego está muy desarrollado y tiene una función similar a la del rumen en la digestión microbiana de la celulosa. La rata carece de la capacidad para vomitar. No son frecuentes las peleas entre los adultos; éstas generalmente se presentan entre los sementales y los jóvenes o entre las hembras postparturientas ⁽¹³⁹⁾.

TABLA N° 10: CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LAS RATAS WISTAR

Características	Tiempos y Medidas
Ciclo de vida	2.5-3 años
Número de cromosomas	42
Consumo de alimento	28-30 g/día
Consumo de agua	80-110 ml/kg/día
Parámetros fisiológicos normales	
Temperatura rectal	37 °C
Ritmo respiratorio	83-113/min
Ritmo cardiaco	373-392 latidos/min
Valores hematológicos normales	
Eritrocitos	7.2-9.6 x 10 ¹² /L
Hematocrito	35-455
Hemoglobina	12-18g/dl

Fuente: (Altamirano, 1994) ⁽¹³⁵⁾

2.2.6.2. ASPECTOS REPRODUCTIVOS

Las hembras ratas, maduran rápidamente y alcanzan la pubertad, llegando a tener la madurez sexual en 72 días. La primera ovulación es a los 77 días de vida. Su periodo de gestación es de 21 o 22 días. Las ratas presentan un alto rango de fertilidad, teniendo de 7 a 10 camadas por año, compuesta por 5 a 14 neonatos con un peso promedio de 2.4 a 3g. Las ratas nacen ciegas, desnudas por lo que la temperatura de los recién nacidos es inestable. A los 10-11 días de edad las ratas abren los ojos y comienzan a ingerir alimento sólido ⁽¹³⁵⁾.

La rata hembra es poliéstrica continua, es decir, presenta ciclos estrales durante todo el año con ligeras variaciones estacionales. La duración del ciclo estral (periodo durante el cual, busca y acepta al macho para propósitos de crías) es de 4 a 5 días. La vida productiva de una hembra es de 350 a 440 días ⁽¹⁴⁰⁾.

Por otra parte la utilización de animales de laboratorio implica el conocimiento y aplicación de los correctos métodos de sujeción, evitando ocasionar estados de sufrimiento y/o estrés. Este manejo adecuado permite obtener reproducibilidad en los resultados y el desarrollo de una investigación ética y segura. Por lo cual se indican brevemente los correctos métodos de sujeción para el manejo de rata de laboratorio ⁽¹⁴¹⁾.

2.2.6.3. MÉTODO DE SUJECIÓN

La rata debe manejarse con suavidad. Debido a que la piel de la cola puede desgarrarse, la rata debe levantarse del tercio cercano a la base de la cola por períodos cortos (Figura 6). Este manejo no se recomienda para ratas hembras preñadas ⁽¹³⁵⁾.

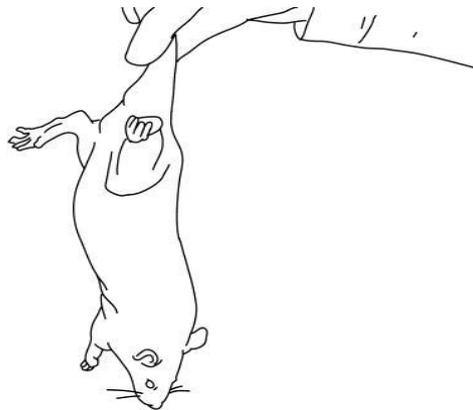


Figura N° 10: Método de sujeción de la rata durante periodos cortos.

Fuente: (Altamirano, 1994) ⁽¹³⁵⁾

La rata se debe cargar con la mano de manera gentil pero firme, debe tomarse alrededor del dorso, poniendo la palma de la mano sobre la espalda del animal, con el dedo pulgar empujar a la altura del codo del miembro anterior izquierdo hacia el frente del hocico, el miembro anterior derecho quedara sujeto entre el dedo índice y anular. Sujetar los miembros posteriores poniendo un dedo entre los dos miembros y sujetando con el pulgar, anular y el índice entre los dos miembros (Figura 7) ⁽¹³⁵⁾.

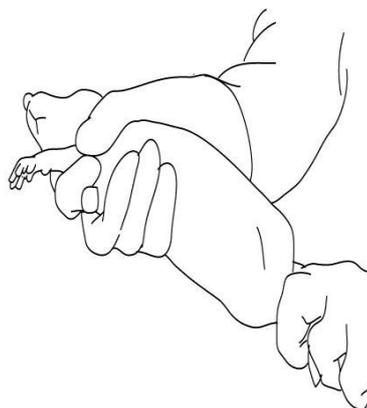


Figura N° 11: Método de sujeción de la rata.

Fuente: (Altamirano, 1994) ⁽¹³⁵⁾

2.2.6.3. VIAS DE ADMINISTRACIÓN PARA RATA WISTAR

- **Intramuscular:** Se realiza en los miembros posteriores, previa sujeción del ratón o rata, introduciendo la aguja en forma paralela al fémur. Las agujas de elección son la de calibre 25 o 27 ⁽¹⁴²⁾.
- **Intraperitoneal:** Consiste en aplicar por vía abdominal el medicamento o inóculo, para lo cual la cavidad abdominal se divide imaginariamente en cuatro secciones, aplicándose la inyección en cualquiera de las dos regiones posteriores, inclinando al animal hacia el cráneo e introduciendo la aguja en un ángulo de 35° aproximadamente para no tocar las vísceras y causar una peritonitis mortal ⁽¹⁴²⁾.
- **Subcutánea:** Se jala la piel del dorso o abdomen del animal y se introduce la aguja para realizar la administración ⁽¹⁴²⁾.
- **Intravenosa:** Se dilatan las venas de la cola (son tres) con xilol o un poco de agua caliente. Se localiza una de estas venas y se introduce la aguja. Para esta vía se puede uno auxiliar de contenedores mecánicos, los cuales permiten una buena sujeción y permiten trabajar ampliamente con la cola del animal ⁽¹⁴²⁾.
- **Esofágica:** Se mantiene al animal en forma vertical, sujetando todo el cuerpo, se pone la sonda en el hocico y con movimientos suaves y firmes se introduce la sonda, viendo el movimiento de deglución por parte del animal (Se puede comprobar el paso de la sonda al sentirlo con el dedo índice de la mano que está sujetando al animal). Se le puede administrar el volumen requerido para cada especie, posteriormente, se extrae la sonda con un movimiento firme y suave ⁽¹⁴²⁾.

2.2.7. DESHIDRATACIÓN

La deshidratación es una de las formas más antiguas de procesar alimentos. Consiste en eliminar una buena parte de la humedad de los alimentos, para que no se arruinen, a fin de conservar alimentos acuosos que abundan en verano, para disponer de ellos durante el invierno. Carnes y vegetales deshidratados era algo común en antiguas civilizaciones de distintas latitudes [“Acciones de los antocianos”, 2005].

Se considera de gran importancia la conservación de alimentos deshidratados porque elimina una buena parte de la humedad de los alimentos, lo que permite que se reduzcan las reacciones químicas e inhiban el crecimiento microbiano, por consiguiente, se prolonga la vida útil de los alimentos [Maldonado & Pacheco, 2003].

2.2.7.1. SECADO POR LIOFILIZACIÓN

La liofilización es una técnica que da como resultado productos deshidratados de alta calidad debido a la ausencia de agua líquida y las bajas temperaturas requeridas en el proceso. El estado sólido de agua durante la liofilización protege la estructura primaria y minimiza los cambios en la forma del producto, con una reducción mínima de volumen [Ratti, 2001]. “Además, contribuye a preservar constituyentes como minerales y vitaminas, así como para conservar el sabor y el aroma” [George & Datta, 2002]. “El secado por congelación es una técnica prometedora para la deshidratación de los materiales termosensibles” [Luanda, Ferreira & Freire, 2007].

2.2.7.1.1. Fundamentos de la liofilización.

El principio fundamental en la liofilización es la sublimación, el cambio de un sólido directamente en un gas. Justo como la evaporación, sublimación ocurre cuando una molécula gana bastante energía para romperse libremente de las moléculas alrededor de ella. El agua sublimara de un sólido (hielo) a un gas (vapor) cuando las moléculas tienen bastante energía a romperse libremente pero las condiciones no están a la derecha para que un líquido forme [Ramírez, 2006].

El cambio de fase de sólido a gas o sublimación, debe realizarse en condición de presión y temperatura menor a las del punto triple (punto en el que conviven los tres estados de la materia) y por debajo de éste no existe la fase líquida.

2.2.7.1.2. Etapas de la liofilización

Preparación: de la materia prima previo a su tratamiento. “El proceso de liofilización no admite manipulación luego de realizado. Los alimentos deben ser convenientemente preparados antes del proceso (limpiados, pelados, acondicionados, cortados, cubeteados y blanqueados o sulfitados cuando sea necesario)” [Viteri, 2009].

“Para aumentar la permeabilidad se hacen agujeros en la piel de algunos alimentos (arándanos, guisantes). Los líquidos deben concentrarse previamente para disminuir el contenido de agua y de esta manera acelerar el proceso de liofilización” [Amores, 2011].

Congelación

- **Congelación inicial:** es una operación previa y obligatoria (la temperatura del material completamente sólido debe ser inferior a 0°C). El tiempo necesario depende de varios factores como la cantidad, concentración y naturaleza del producto. En líneas generales se puede decir que una congelación adecuada es la base para que el producto liofilizado presente óptimas condiciones de aspecto, conservación de sus propiedades originales y rápida rehidratación. Se realiza a temperaturas inferiores a la de solidificación total, o sea, el producto debe estar congelado a temperaturas entre -10°C y -15°C [Viteri, 2009].

La acción de deshidratación básica es la formación de hielo, antes se pensaba que la sublimación del agua era el paso más importante, sin embargo ha quedado demostrado que la congelación es igual o aún más trascendente para el curso exitoso de la liofilización, ya que en esta etapa se crean las condiciones que culminaran con un secado óptimo y aún más, se determina la calidad del producto seco. [Amores, 2011]

“El proceso de congelación puede dividirse en dos fases:

- a) Formación y crecimiento de cristales de hielo.
- b) Descenso de la temperatura hasta el punto eutéctico del producto, garantizándose cristalización completa” [Huaraca, 2011]. Los resultados obtenidos por la liofilización son influidos considerablemente por la velocidad con la que se congelan. La congelación rápida o duradera es un proceso a través del cual la temperatura, de los alimentos desciende aproximadamente unos -20°C en 30 minutos. “La congelación

lenta es un proceso en que la temperatura deseada se alcanza en 3 a 72 horas, tal como sucede en los aparatos domésticos de refrigeración” [Huaraca, 2011].

Sublimación

- **Sublimación o desecación primaria:** es la etapa en la que la mayor parte del agua libre (en forma de hielo) pasa a vapor. La sublimación del agua tiene lugar por debajo del punto triple que es el aquel donde coexisten los tres estados físicos o lo que es lo mismo, donde las tres fases se hallan en equilibrio. La fase de sublimación propiamente dicha, en la que se elimina alrededor del 90% del agua. Se elimina el hielo libre. [Viteri, 2009].

Congelado el producto se inicia el proceso de la sublimación del agua mediante la transmisión de calor. El suministro de calor al producto congelado se puede hacer por conducción, radiación o fuente de microondas. Los dos primeros se utilizan comercialmente combinándose su efecto al colocarse el producto en bandejas sobre placas calefactoras separadas una distancia bien definida [Viteri, 2009].

Al comenzar el proceso, el hielo se sublima de la superficie del producto, retrocediendo el nivel de sublimación dentro de él, teniendo entonces que pasar el vapor por capas ya secas para salir del producto. El calor es requerido en las zonas límites, punto en el cual el hielo pasa de la forma sólida a la gaseosa [Huaraca, 2011].

Debido a la temperatura máxima admisible y a la pobre conductividad térmica del producto, el gradiente de temperatura necesaria se hace siempre mayor y tratar de no sobrepasar la temperatura máxima admisible para el producto, a fin de no ocasionar daños en él y al mismo tiempo evitar el descongelamiento. Para tener una liofilización buena y rápida es necesario poder controlar exactamente la temperatura de las placas y tener la posibilidad de regular la presión total y parcial del sistema [Huaraca, 2011].

Secado

- **Desorción o desecación secundaria:** Durante el secado final, lo importante es lograr condiciones de presión (caída de presión) que permitan el secado del producto a humedades residuales mínimas, de modo que pueda retirarse el agua intramolecular y ligada por absorción. Su misión es eliminar las últimas trazas de vapor de agua, evaporando el agua no congelada ligada al producto. Se lleva a cabo a una temperatura

inferior a la de desnaturalización del producto y elimina el 10% de agua ligada restante. Con lo que se puede llegar hasta productos de una humedad del 2%. [Amores, 2011].

“Por otra parte, como los cristales sublimados de hielo dejan cavidades, el material seco contiene miles de intersticios por los que el agua puede penetrar produciendo una rápida y completa rehidratación cuando sea necesaria” [Saarelaa, et al., 2005].

2.3. MARCO CONCEPTUAL

1. **Mashua** (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón): es una planta herbácea perenne originaria de la región andina, su habitat esta entre 2400 hasta los 4300 msnm ⁽¹⁰⁾, es muy rústica, puede ser cultivada en suelos pobres, sin uso de fertilizantes y pesticidas químico-sintético ⁽¹⁸⁾. La mashua es muy nutritiva en macronutrientes y micronutrientes ^(5, 30, 31), además presentan fitoquímicos como: antocianinas, isotiocianato que han sido relacionados ampliamente con la salud ^(14, 38).
2. **Antioxidantes**: son compuestos cuya función primordial en nuestro organismo es protegernos del daño oxidativo que causan moléculas conocidas como radicales libres, entre otras ⁽¹⁴⁵⁾.
3. **Flavonoides**.- es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa. La estructura base, un esqueleto C6-C3C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos.
4. **Antocianinas**: Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo humano, son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, tubérculos acumulados en las vacuolas de la célula, muy estudiado a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios, mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo, Además de su papel funcional como colorantes ⁽⁵⁹⁾.
5. **Cianidina 3-glucósido**: es un compuesto vegetal soluble en agua que forma parte de la categoría de antocianinas; desempeña un papel activo en la producción de pigmentos de color oscuro en una variedad de frutas y flores. Esta sustancia natural se obtiene principalmente de frutas y verduras con cáscara oscura como moras, moras, ciruelas, grosellas negras y arroz negro ⁽⁶³⁾.
6. **Páncreas**: es una glándula mixta, contiene tejido exocrino conformado por células acinares productoras de enzimas digestivas y también presenta un tejido endocrino compuesto por las células de los islotes de Langerhans, que producen hormonas que mantienen la homeostasis de la glucosa ⁽¹⁰¹⁾.

- 7. Islotes de Langerhans:** Acúmulos de células del páncreas encargados de producir y secretar las hormonas insulina y glucagón. Son la parte endocrina de la glándula pancreática. Sus secreciones hormonales se liberan directamente en el torrente sanguíneo y sirven para regular el metabolismo de los azúcares ⁽¹⁰⁴⁾.
- 8. Células β :** son células productoras de insulina y representan el 70% de los islotes de Langerhans ⁽¹⁴³⁾.
- 9. Insulina:** La insulina es una hormona polipeptídica, formada por 51 aminoácidos, con una estructura molecular similar a un pentágono, producida en las células beta de los Islotes de Langerhans pancreáticos en forma de proinsulina unida a péptido C (forma inactiva) y cuya principal función es la glucoreguladora ⁽¹⁰¹⁾.
- 10. Diabetes:** es una enfermedad crónica grave que sobreviene cuando el páncreas no produce suficiente insulina (hormona que regula la concentración de azúcar (glucosa) en la sangre, o glucemia) o cuando el organismo no puede utilizar de manera eficaz la insulina que produce ⁽⁸⁾.
- 11. Glucosa:** azúcar que se encuentra en la miel, la fruta y la sangre de los animales.
- 12. Hipoglucemia:** es la complicación aguda más frecuente de la diabetes mellitus (DM). Asimismo, es el factor limitante más importante en el manejo del tratamiento de los pacientes con DM tipo 1 y 2 que reciben insulina y fármacos secretagogos ⁽¹⁴⁴⁾.
- 13. Hiperglicemia:** es la condición que se produce cuando el nivel de glucosa sanguínea se eleva y permanece demasiado alto: ≥ 126 mg/dL en ayunas ó ≥ 200 mg/dl sin relación con el tiempo de haber ingerido alimentos o bebidas ⁽¹¹³⁾.
- 14. Alozano:** es un análogo de glucosa tóxico que se acumulan preferentemente en las células beta del páncreas a través del transportador de glucosa GLUT2. Diabetogénico bien conocido que se utiliza para inducir la diabetes tipo I ⁽¹³⁴⁾.
- 15. Hipoglucemiante:** Grupo diverso de fármacos que se utilizan para reducir la concentración de glucosa en sangre. Son agentes hipoglucemiantes la insulina, las sulfonilureas (que actúan estimulando la liberación de insulina en el páncreas) y las biguanidinas (que actúan potenciando la acción de la insulina endógena) ⁽¹²⁸⁾.
- 16. Inducción.-** Un fármaco puede inducir su propio metabolismo o influenciar el de otro fármaco metabolizado por las mismas enzimas. Un medicamento inductor es un fármaco que incrementa el metabolismo farmacológico, reduce así la concentración de los fármacos sustrato en la sangre.

- 17. Administración.-** Es el procedimiento mediante el cual se suministra por vía bucal medicamentos que tengan acción local o general como tabletas, cápsulas, suspensiones, jarabes, etc.
- 18. Acondicionar.-** es un verbo que hace referencia a los intentos por disponer ciertas cosas o factores de una manera para alcanzar una determinada condición. Puede decirse que el acondicionamiento físico es el estado de un individuo en lo referente a sus capacidades deportivas.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. TIPO DE ESTUDIO

- **Analítico:** Porque se realizó comparaciones con el grupo control, a través de la medición de la actividad hipoglucemiante del tipo “casos y controles”.
- **Experimental:** Porque se evaluó la eficacia del extracto liofilizado de mashua (*Tropaeolum Tuberosum Ruiz & Pavón*) negra y amarilla a diferentes dosis (50 y 100 mg/kg/d) como hipoglucemiantes.
- **Longitudinal:** Se estudiaron las variables a lo largo del tiempo durante el periodo de investigación.

3.2. ÁMBITO DE ESTUDIO

El trabajo de investigación se ejecutó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Nutrición Humana de la Universidad Nacional del Altiplano - Puno.

- Bioterio de la Escuela Profesional de Nutrición Humana de la UNA - PUNO.
- Laboratorio de tecnología de los alimentos de Escuela Profesional de Nutrición Humana de la UNA - PUNO.
- Mega Laboratorio de la Universidad Nacional del Altiplano

3.3. POBLACIÓN Y MUESTRA DEL ESTUDIO

3.3.1. Población biológica:

La población biológica estuvo constituida por 36 ratas wistar adultos, ambos sexos, con un peso promedio de 246 ± 13.5 gr, distribuidos en 5 grupos. Criadas y mantenidas en el Bioterio de la Universidad Católica Santa María de Arequipa, bajo condiciones estándar de fotoperiodo (12h luz/12h oscuridad), temperatura ambiental ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), agua y comida ad libitum, esquemas de sanitización de su macro y microambiente. Las ratas fueron sometidas a condiciones de aclimatación y acondicionamiento por 7 días, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental; además durante este periodo fueron observados permanente. Una vez culminada el acondicionamiento fueron inducidas a diabetes mellitus por aloxano. (**Anexo A**)

3.3.2. Muestra Alimentaria:

En la muestra alimentaria, dada por dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón): negra y amarilla chaucha, en la presentación de extracto acuoso liofilizado a una dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d.

1.4. DISTRIBUCIÓN DE MUESTRA

La distribución de la muestra se realizó aleatoriamente, distribuidos en cinco grupos. Estuvo conformada de la siguiente manera:

- **Grupo Control positivo:** Ratas wistar (4 ratas) con hiperglucemia experimental inducida con solución de aloxano al 5 % a una dosis de 100 mg/kg/p y tratadas con insulina lantus 30 UI.
- **Grupo Experimental 1:** Ratas wistar (8 ratas ambos sexos) con hiperglucemia experimental inducida con solución de aloxano al 5 % a una dosis de 100 mg/kg/p y tratadas con extracto acuoso liofilizado de **mashua negra**, a una dosis de 50 mg/kg/d
- **Grupo Experimental 2:** Ratas wistar (8 ratas ambos sexos) con hiperglucemia experimental inducida con solución de aloxano al 5 % a una dosis de 100 mg/kg/p y tratadas con extracto acuoso liofilizado de **mashua negra**, a una dosis de 100 mg/kg/d.
- **Grupo Experimental 3:** Ratas wistar (8 ratas ambos sexos) con hiperglucemia experimental inducida con solución de aloxano al 5 % a una dosis de 100 mg/kg/p y tratadas con extracto acuoso liofilizado de **mashua amarilla chaucha**, a una dosis de 50 mg/kg/d.
- **Grupo Experimental 4:** Ratas wistar (8 ratas ambos sexos) con hiperglucemia experimental inducida con solución de aloxano al 5 % a una dosis de 100 mg/kg/p y tratadas con extracto acuoso liofilizado de **mashua amarilla chaucha**, a una dosis de 100 mg/kg/d.

3.5. VARIABLES DE ESTUDIO

TABLA N° 11: OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

TIPO DE VARIABLE	VARIABLE	INDICADOR	ÍNDICE
Independiente	Extracto acuoso liofilizado de Mashua (<i>Tropaeolum tuberosum</i> Ruiz y Pavon): negra y amarilla chaucha	Grupo Control Positivo	30 UI de insulina + alimentación y agua Ad libitum
		Grupo Experimental 1	50 mg/kg/d de Mashua negra + alimentación y agua Ad libitum
		Grupo Experimental 2	100 mg/kg/d de Mashua negra + alimentación y agua Ad libitum
		Grupo Experimental 3	50 mg/kg/d de Mashua amarilla chaucha + alimentación y agua Ad libitum
		Grupo Experimental 4	100 mg/kg/d de Mashua amarilla chaucha + alimentación y agua Ad libitum
Dependiente	Concentración de glucosa	Valores de glucosa	mg/dl

Fuente: Elaboración propia del proyecto

3.6. MÉTODOS Y PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO

La ejecución del proyecto de investigación se realizó en dos etapas:

- **Primera etapa:** Es la obtención del extracto acuoso liofilizado de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón): Negra y amarilla chaucha.

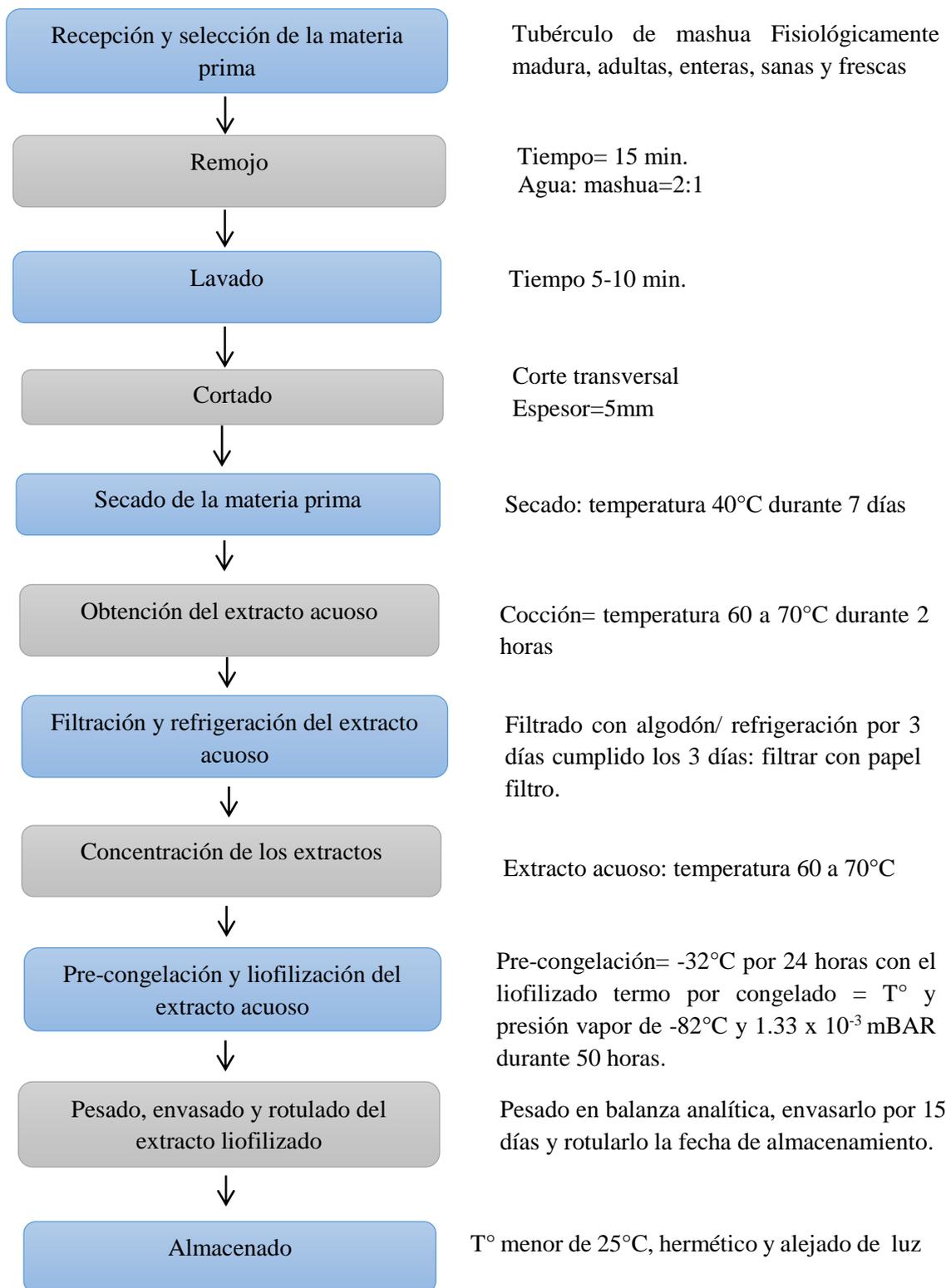
- **Segunda etapa:** Donde se indujo a diabetes mellitus con aloxano al 5% a una dosis de 100 mg/kg/p a ratas wistar, para luego ser tratados con el extracto acuoso liofilizado de Mashua Negra y Mashua Amarilla chaucha .
 - Fase adaptativa
 - Fase pre - experimental
 - Fase experimental

A continuación se explica cada etapa del proyecto de investigación.

3.6.1. PRIMERA ETAPA: MÉTODO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO

En esta etapa del trabajo de investigación se realizó la obtención del extracto acuoso liofilizado del tubérculo de mashua negra y amarilla chaucha. Fueron seleccionadas las muestras alimentarias (*Tropaeolum tuberosum* Ruíz & Pavón) de acuerdo a la variedad, en buen estado de conservación. Los tubérculos seleccionados fueron sometidos a chorro continuo de agua para despojarlos de contaminantes, para la obtención del extracto acuoso liofilizado se llegó a realizar en tiempo de 13 días y 6 horas todo el procedimiento como se muestra en la (*Figura N° 12*).

FIGURA N° 12: FLUJOGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE LA OBTENCIÓN DE EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE LA MASHUA (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)



Fuente: Elaboración propia del proyecto de investigación

En la figura N° 12 Se detalla el flujograma del proceso de la obtención del extracto acuoso liofilizado de la Mashua (*Tropaeolum Tuberosum* Ruiz & Pavón).

- 1. Recepción y selección de la materia prima:** Se seleccionó los tubérculos que se encontraron en buen estado de conservación: adultas, enteras, sanas y frescas. Los tubérculos de la mashua negra e amarilla chaucha deben estar fisiológicamente maduras.
- 2. Remojo:** Esta operación se realizó después de la selección. El tubérculo se pone en remojo por un tiempo de 15 a 20 minutos. A fin de humedecer los restos de tierra que pueden contener y que será difícil en la selección. La calidad de agua para el remojo de la mashua fue en una relación de 2:1 respectivamente.
- 3. Lavado:** El tubérculo de la mashua, fue sometido a lavado con agua potable. Esta operación del lavado se realizó en tinajas por lo que se procedió a efectuar enjuagues sucesivos por un tiempo de 5 a 10 minutos. La finalidad de este proceso es eliminar todas las impurezas que pudieran tener, y así se obtuvo tubérculos limpios y seleccionados.
- 4. Cortado de la materia prima:** En esta operación se realizó utilizando un cortador graduable, se empleó un solo tipo de corte transversal. Con un espesor de 10 mm para todo el proceso.
- 5. Secado de la materia prima:** Los tubérculos fueron lavados en agua a chorro directo, hasta quedar completamente limpias; seguidamente fueron colocadas en el área de secado a una temperatura de 40°C durante 7 días.
- 6. Obtención del extracto acuoso:** Los tubérculos secos fueron desmenuzadas, pesadas y sometidas a cocción a una temperatura de 60 a 70°C durante 2 horas, empleando el agua como líquido extractivo.
- 7. Filtración y refrigeración del extracto acuoso:** El extracto acuoso fue filtrado con algodón y se puso en refrigeración por 3 días (etapa muy importante porque permite la sedimentación de las partículas insolubles y extrañas). Cumplido los 3 días se procedió a filtrar con papel filtro.

- 8. Concentración de los extractos:** El extracto acuoso obtenido se concentró por cocción a temperatura entre 60 a 70°C.
- 9. Pre-congelación y liofilización del extracto acuoso:** El extracto acuoso pre-congelado a -32°C por 24 horas; al terminar fue liofilizado, por el método de desecación donde el proceso consistió en deshidratar el extracto acuoso por congelación del producto húmedo a una temperatura y presión vapor de -82°C y 1.33×10^{-3} mBAR duran e 50 horas con finalidad de deshidratar el extracto acuoso por sublimación del hielo en condiciones de vacío. Al suministrar calor el hielo sublima y se evita el paso por la fase líquido.
- 10. Pesado, envasado y rotulado del extracto liofilizado:** El extracto obtenido se pesó en una balanza analítica para luego envasarlo y rotular la fecha de almacenamiento.
- 11. Almacenado:** Almacenar en un ambiente seco a temperatura menor de 25°C, en frasco con cierre hermético y alejado de la luz durante 15 días.

3.6.2. SEGUNDA ETAPA: ETAPA EXPERIMENTAL

3.6.2.1. Fase adaptativa

a) Manejo y cuidado de las ratas

Las ratas wistar fueron sometidos a condiciones de aclimatación y acondicionamiento por 7 días, con la finalidad de que se adapten a su entorno ambiental y adquirir el peso para su inclusión al ensayo; con el objetivo de tener ratas menos estresadas y más sanas, que proporcione un mejor resultado experimental. Además durante este periodo estuvieron bajo observación permanente para detectar cambios en el comportamiento, enfermedades, heridas o muerte. A los animales se les alojaron en jaulas, con acceso libre a una dieta ad libitum más agua. Donde se mantuvieron en condiciones estándar de laboratorio a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, una humedad relativa del $50 \pm 15\%$ y condiciones normales de iluminación (12 horas de luz/12 horas de oscuridad). Durante todo el proceso del proceso de investigación que fueron 31 días.

Los animales de experimentación fueron pesados en una balanza digital, el pesado de las ratas wistar fueron anotados en las fichas de identificación.

b) Alimentación habitual

A los animales de experimentación se les brindo una alimentación y agua ad libitum cada 12 horas, para la conservación de la salud de los animales durante esta fase de adaptación.

c) Manejo de lecho o jaulas

Las ratas wistar se mantuvieron en jaulas (material macrolon, medidas internas de cubeta 220 x 220 x 145 h mm, superficie basal de 500 cm² y etiquetero en acero inoxidable de AISI – 304) las cuales fueron de fácil limpieza para evitar contaminaciones. Asimismo las unidades biológicas se mantuvieron en jaulas individuales para tener el control apropiado del consumo de alimentos durante las tres fases del estudio experimental. El cambio de lecho se realizó a diario y de ese modo se mantuvo limpio y se evitó enfermedades.

3.6.2.2. Fase pre – experimental***a) Inducción experimental de hiperglucemia***

La inducción a diabetes mellitus a la unidad experimental se realizó por medio del aloxano de la siguiente manera:

Posterior al ayuno de 12 horas, a los animales de experimentación se les tomo el primer dosaje a las 13 horas, una muestra de sangre de la cola con el pinchazo con la lanceta para luego darnos los resultados el glucómetro; con la primera muestra se determinó el valor de glicemia basal de las ratas wistar; para luego la administración de aloxano que se realizó posterior al primer dosaje que dio a las 13 horas, a una solución al 5 % con una dosis de 100 mg/kg/d, procediendo luego de 72 horas a la siguiente medición del segundo dosaje con el fin de encontrar la inducción experimental de hiperglicemia.

3.6.2.3. Fase experimental***a) Tratamiento de los grupos***

Para el estudio experimental se utilizaron 36 ratas adultas de ambos sexos de la cepa wistar, sanas, distribuidas en 5 grupos, 1 grupo control positivo y 4 grupos experimentales que detallamos a continuación:

- ***Grupo control positivo (Insulina):***

Estuvo conformado por 04 ratas experimentales clínicamente sanas de edad adultas, con hiperglucemia, posteriormente se administró la insulina lantus con una dosis de 30 UI interdiario durante 28 días, con una alimentación y agua ad libitum.

- ***Grupo experimental 1***

Estuvo conformado por 08 ratas wistar experimentales de ambos sexos, clínicamente sanas y adultas, con hiperglucemia y tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua negra con una dosis de 50 mg/kg de peso por 28 días, con una alimentación y agua ad libitum.

- ***Grupo experimental 2***

Estuvo conformado por 08 ratas wistar experimentales de ambos sexos, clínicamente sanas y adultas, con hiperglucemia y tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua negra con una dosis de 100 mg/kg de peso por 28 días, con una alimentación y agua ad libitum.

- ***Grupo experimental 3***

Estuvo conformado por 08 ratas wistar experimentales de ambos sexos, clínicamente sanas y adultas, con hiperglucemia y tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua amarilla chaucha con una dosis de 50 mg/kg de peso por 28 días, con una alimentación y agua ad libitum.

- ***Grupo experimental 4***

Estuvo conformado por 08 ratas wistar experimentales de ambos sexos, clínicamente sanas y adultas, con hiperglucemia y tratadas con extracto acuoso liofilizado de mashua amarilla chaucha con una dosis de 100 mg/kg de peso por 28 días, con una alimentación y agua ad libitum.

b) Evaluación

El periodo de evaluación se realizó por muestras: la primera muestra de dosaje fue la basal (pre tratamiento) día 1, el día 3 se realizó la segunda muestra de dosaje (hiperglucemia),

los días 7, 14, 21 fueron las demás muestras durante la investigación y la muestra final se realizó el día 28. Durante todo el procedimiento se evaluó lo siguiente:

- **Peso corporal**

Se realizó un control de peso corporal en la balanza analítica a todas las ratas wistar, para determinar la variación de pesos y verificar que durante el pos tratamiento se encuentre en buenas condiciones, de igual manera el control de peso se realizó durante los 28 días.

- **Determinación de los concentración de glucosa:**

La determinación de los concentración de glucosa: el primer dosaje se realizó el día 1 (glucosa basal) después de las 12 horas de ayuno de las ratas wistar, el segundo dosaje se realizó el día 3 (hiperglicemia), después durante los días 7, 14, 21 y el final del dosaje se realizó el día 28. Todos los animales fueron puestos en ayunos 12 horas antes de la toma de muestra, para el respectivo análisis bioquímico.

Los animales de experimentación fueron anotados su concentración de glucosa en las fichas de identificación. (Anexo C y D)

3.7. MATERIALES

3.7.1. Material alimentario:

- Extracto acuoso liofilizado de la mashua negra.
- Extracto acuoso liofilizado de la mashua amarilla chaucha.

3.7.2. Material biológica:

- Ratras, cepa wistar, sexo hembra.
- Ratras, cepa wistar, sexo macho.

3.7.3. Materiales de laboratorio:

- Agujas descartables de tuberculina N° 25.
- Jeringas descartables 1 ml.
- lancetas
- Vasos de precipicio 25 ml.
- Hoja de bisturí.

- Cronómetro digital.
- Tijeras quirúrgicas
- Algodón 96%.
- Papel toalla.
- Papel filtro.
- Ollas medianas.
- Bandejas metálicas
- Jaulas tipo 500 para ratas, material macroion, reja en acero inoxidable AISI 304.
- Estantes de rejillas, rack en acero inoxidable.
- Biberones.

3.7.4. Material de bioseguridad:

- Guantes quirúrgicos N° 7 y 8.
- Mandil de laboratorio.
- Mascarillas descartables.
- Gorro.

3.7.5. Equipos e instrumentos de laboratorio:

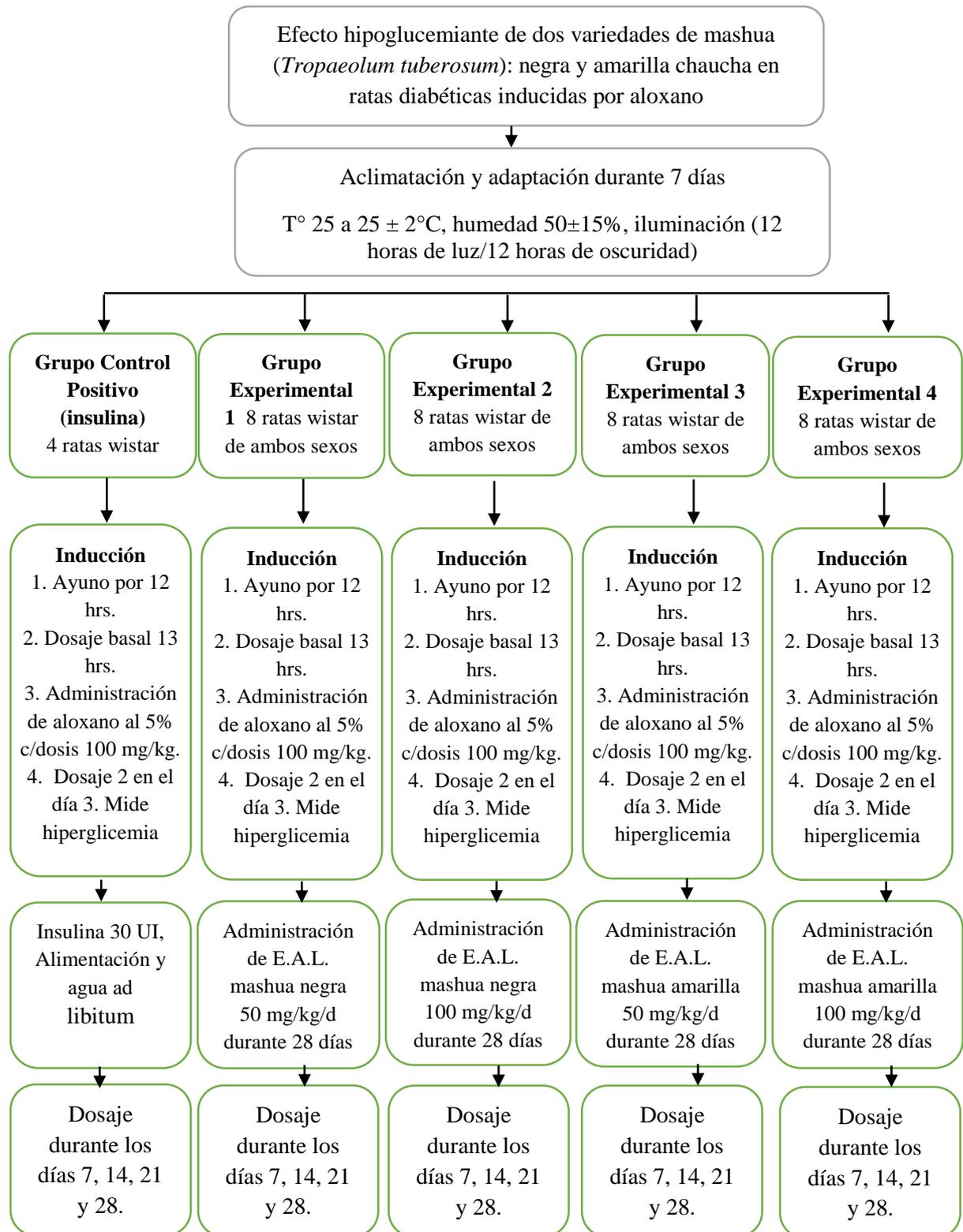
- Liofilizador thermo T° -82°C y presión vapor 1.33×10^{-3} mBAR.
- Balanza digital.
- Balanza digital.
- Congeladora.
- Estufa, cocina electrónica.
- Glucómetro.
- Calculadora.
- Computadora.

3.6.7. Insumos químicos y farmacológicos:

- Reactivo de aloxano. (Anexo B)
- Tiras reactivas, teste. Accu - Chek
- Insulina.
- Alcohol medicinal

3.8. DISEÑO EXPERIMENTAL

FIGURA N° 13: ESQUEMA DE LA METODOLOGÍA PARA ENSAYO DEL EFECTO HIPOGLUCEMIANTE



Fuente: Elaboración propia del proyecto de investigación

3.9. TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE DATOS

3.9.1. Peso corporal

Se pesaron a todos los animales de experimentación para calcular la dosis y volumen de administración de la sustancia a estudiar, esto se realizó tanto para la administración del aloxano y extracto acuoso liofilizado de la mashua.

3.9.2. Bioquímica clínica

3.9.2.1. Toma de muestra:

- *Técnica de la punción venosa*

Vena caudal: Utilización de la vía de la vena de la cola para la obtención de sangre, esta técnica que están descritas tanto para la inyección como la extracción de sangre. La toma de muestra del grupo positivo y grupos experimentales se realizó el día basal (día 1), día inicial (hipoglucemia inducida) a las 72 horas y cada 7 días de estudio. Las muestras de sangre por punción venosa fueron de la siguiente manera:

Procedimiento:

- Se sujetó al animal adecuadamente, de tal forma que quede en posición de cubito dorsal en la palma de la mano del manipulador.
- Rasurar o depilar la zona baja de la extremidad para visualizar la vena.
- Se desinfecto con alcohol la zona de la cola.
- La vena se ve lateralmente cerca de la base de la cola, se requiere buena iluminación y dilatación para observarse mejor.
- Para facilitar la muestra de sangre es bueno presionar proximalmente al sitio de punción con lanceta. Si la sangre no sale, se puede “ordeñar” la cola.
- Se obtuvo una gota homogénea y aplico directamente sobre la tira reactiva del glucómetro
- Limpiar los restos de sangre si hubiera de los animales de experimentación con torundas o algodón.
- Se procesó la muestra para su respectivo análisis.

3.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS

La utilización de animales como unidades biológicas en el ámbito de investigación científica, son fundamentales para el establecimiento de nuevos postulados y la constante validación de los mismos. De tal manera las condiciones serán.

3.9.1. Instalaciones

Las instalaciones destinadas para el alojamiento de los animales de experimentación estarán destinados a cubrir todas sus necesidades de la muestra biológica, de experimentación satisfaciendo el bienestar del animal y las necesidades de la investigación.

En términos generales se considera:

- Proporcionar el espacio adecuado que permita movimientos y adopciones de las posturas normales de la muestra biológica y proteger de amenazas externas.
- Ofrecer la adecuada ventilación conforme a las necesidades biológicas.
- Proporcionar jaulas de material resistente al lavado desinfección frecuente que permita la observación de animales.

3.10. DISEÑO DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Los resultados obtenidos en los diferentes grupos sean este control positivo y grupos experimentales, fueron expresados en términos estadísticos, según tipo de estudio. Se calculó el promedio y desviación estándar como medidas de tendencia central, que serán representados mediante cuadros y gráficos. De igual manera para recolección de datos se empleó el programa de Excel 2010.
- Para el análisis se consideró como variable la concentración de glucosa en sangre mg/dl) y se analizaron diferentes dosis de tratamientos con mashua negra y amarilla chaucha. Para comparar los tratamientos, los resultados de los mismos se sometieron al modelo estadístico ANOVA, en donde se establece si alguno de los tratamientos administrados es diferente. Además se utilizó la prueba TUKEY, para encontrar cual tratamiento administrado es diferente, a un nivel de significancia 0.05.
- Para la comparación de las concentraciones finales de glucosa, entre el grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4 se usó la prueba estadística de T Student. Dónde:

La regla de decisión es; Si:

1. Significación es < 0.05 : se rechaza H_0 y acepta la H_a
2. Significancia es > 0.05 : se acepta H_0 y rechaza la H_a

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA BASAL, INICIAL, DURANTE Y FINAL EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES

TABLA N° 12: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA BASAL, INICIAL, DURANTE Y FINAL EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.

Grupos	Concentración de glucosa (mg/dl)					
	Basal	Inicial	Durante el tratamiento			Final
			Día 7	Día 14	Día 21	
Grupo C. Positivo	58	135.75	72	69.75	66.75	65
Grupo Exp. 1	64.62	140.62	118.37	100.87	93.25	80.25
Grupo Exp. 2	67.25	131	108.32	91.25	80.5	64.5
Grupo Exp. 3	66.75	125	119.75	114.5	104.75	105
Grupo Exp. 4	55.75	126	117.25	113.25	105.87	97.37

Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI
 Grupo Exp 1: Mashua negra 50 mg/kg/d
 Grupo Exp 2: Mashua negra 100 mg/kg/d

Grupo Exp 3: Mashua amarilla 50 mg/kg/d
 Grupo Exp 4: Mashua amarilla 100 mg/kg/d

En la tabla N° 12: Se observa la concentración de glucosa basal, inicial, durante el tratamiento a los 7, 14, 21 días, y final del tratamiento en ratas wistar del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

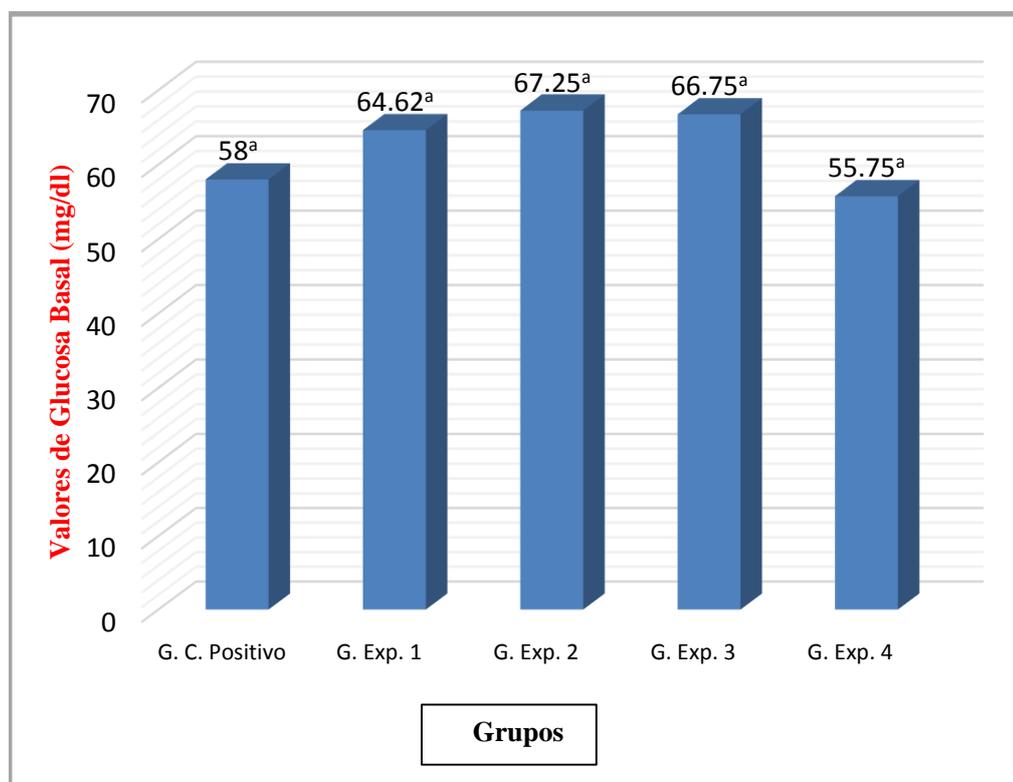
Se aprecia las concentraciones de glucosa: **basal**, antes de la administración del aloxano en ratas wistar, son similares las concentraciones de glucosa del grupo control positivo y grupos experimentales. **Inicial**, después de las 72 horas de la inducción, se observa hiperglucemia en concentración de glucosa inicial, del grupo experimental 1 muestra mayor hiperglucemia, fueron 140.62 mg/dl y muestra menor hiperglucemia el grupo experimental 3, fueron 125 mg/dl; posteriormente se realizaron los siguientes concentraciones de **glucosa durante** el tratamiento a los 7, 14, 21 días y el **final** se realizó en el día 28. Se aprecia la concentración de glucosa final del grupo experimental 2, la disminución fue mayor 64.5 mg/dl, llegando a la concentración de glucosa basal, al recibir

tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d; EL grupo experimental 3 muestra menor disminución de la concentración de glucosa final fueron en promedio 105.0 md/dl, no llegando a la concentración de glucosa basal , al recibir tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d.

Se determinó el efecto hipoglucemiante de dos variedades de mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*): mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d, presento una disminución de los concentración de glucosa final en un 43% con respecto a los concentración de glucosa inicial (hiperglucemia),tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d presentan una mayor disminución de la concentración de glucosa final en un 50.1% con respecto a la concentración de glucosa inicial (hiperglucemia); también se aprecia tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d, presento una disminución de la concentración de glucosa final en un 16% con respecto a los concentración de glucosa inicial (hiperglucemia) y tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d presentan una disminución de la concentración de glucosa final en un 23% con respecto a la concentración de glucosa inicial (hiperglucemia).

Esto demuestra que el tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, tiene un efecto hipoglucemiante muy importante al disminuir la concentración de glucosa con relación al tratamiento con insulina lantus 30 UI. Mientras el tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, no tiene un efecto hipoglucemiante al no disminuir la concentración de glucosa con relación al tratamiento con insulina lantus 30 UI.

**GRÁFICO N° 1: CONCENTRACIÓN GLUCOSA BASAL EN RATAS
WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS
EXPERIMENTALES.**



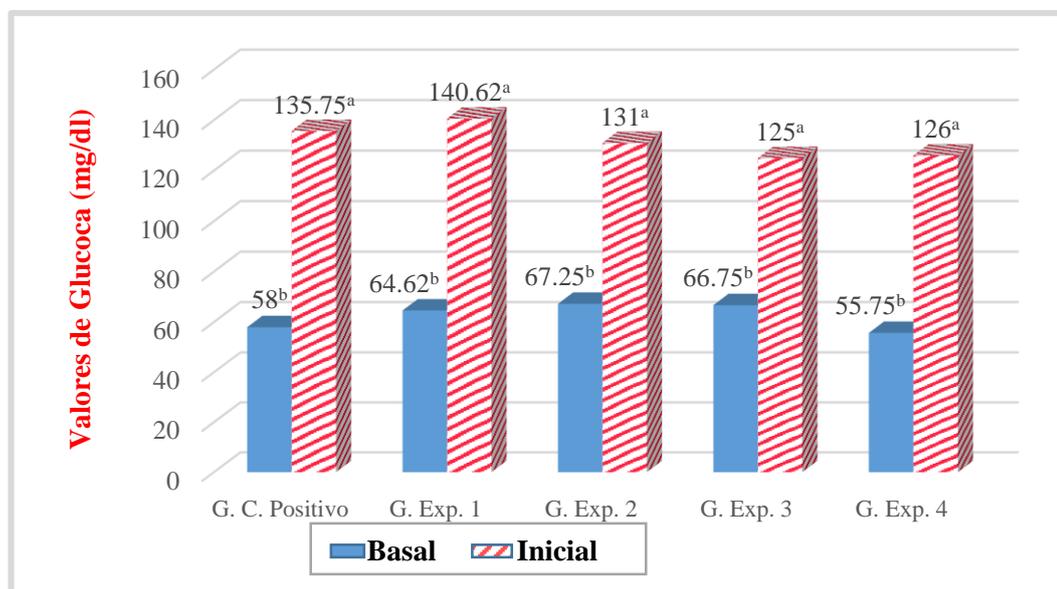
En el gráfico N° 1: Se observa la concentración de glucosa basal del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p > 0.05$) no observándose diferencias estadísticamente significativas por lo tanto se acepta la H_0 , la aplicación de la prueba de tukey la letra “a” indican que no existen diferencias significativas entre la concentración de glucosa basal del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

Para la concentración de glucosa normales en el ensayo de diabetes mellitus tipo 2 los animales presentaron niveles similares a los hallados por otros autores (Angel y Paulett, 2013) ⁽¹⁶⁰⁾ la concentración de glucosa que mostraron en los grupos experimentales (Grupo 1: basal 89.96 mg/dl; Grupo 2: basal 88.79 mg/dl; Grupo 3: basal 85.88 mg/dl; Grupo 4: basal 86.60 mg/dl).

De igual manera nos muestra es el estudio realizado por (Jossy y Janet, 2011) ⁽¹⁶¹⁾ la concentración de glucosa sérica en ratas albinas post administración de Extreptozotocin, el basal que presento en los grupos (grupo 1: 81.55 mg/dl; grupo 2: 87.11 mg/dl; grupo 3: 89.84 mg/dl; grupo 4: 87.16 mg/dl; grupo 5: 89.06 mg/dl) en promedio 86.94 md/dl, las muestras de sangre fueron después de las 8 horas de ayuno previos. Estos ensayos se desarrollan fundamentalmente en animales de experimentación o de laboratorio. Es de gran importancia la necesidad de mantener una proyección adecuada en cuanto a las consideraciones bióticas con los animales, la manipulación, la alimentación y sus consideraciones de vida.

Por consiguiente la concentración de glucosa basal del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4, se aprecia fueron en promedio 62.47 mg/dl estos fueron similares, mas no iguales a los hallados por los autores ya mencionados ^(160, 161). Esto pueda a que estuvieron sometidas a diferentes condiciones ambientales o debido a la alimentación que recibieron los días de aclimatación.

GRÁFICO N° 2: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA BASAL Y VALORES DE GLUCOSA INICIAL (HIPERGLUCEMIA) EN RATAS WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES.



En el gráfico N° 2: Se observa la concentración de glucosa basal y concentración de glucosa inicial del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p < 0.05$) observándose diferencias estadísticamente significativas por lo tanto se rechaza la H_0 , la aplicación de la prueba de tukey las letras “a” y “b” indican que existen diferencias significativas entre la concentración de glucosa basal y concentración de glucosa inicial (hiperglucemia) tanto del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

Los estudios de investigación nos muestran una amplia variación de dosis y vías de administración de aloxano en la inducción de diabetes mellitus experimental en ratas wistar, entre ellos podemos mencionar por vía: **Intraperitoneal:** 100 mg/kg de aloxano disuelto en suero fisiológico, aloxano al 5%, a una dosis de 135 mg/kg, 200 mg / kg en buffer de citratos 0.1 M, pH 4.5, durante tres días consecutivos, 100 mg/kg disuelto en buffer citrato 0,3 M pH 4,5, 150 mg/kg diluida al 2 % en cloruro de sodio 0.9%. **Intravenosa:** 42 mg/kg, 100 mg/kg, 42 mg/kg en solución acuosa al 2% (Lerco et al, 2003) ⁽¹⁵⁶⁾. **Subcutánea:** Kirschbaum et al, en 1946 Indujeron a hiperglicemia con aloxano a una dosis de 200 mg/kg, vía sub cutánea a ratas normoglicemicas, que a las 46 horas sus glicemias aumentaron considerablemente de 110. 6 mg/dl a 353.6 mg/dl, 150

mg/kg, Ahmadvand et al 2012 indujeron a diabetes con la dosis de 120 mg/kg y la glicemia en 48 horas paso de 81 mg/dl a 365 mg/dl ⁽¹⁵⁹⁾, 120 mg/dl (Ahmadvand et al 2014) ⁽¹⁶⁰⁾.

Los niveles elevados de glucosa sanguínea observados a las 72 horas de la administración de aloxano son indicativos de un cuadro de hiperglicemia por daño selectivo de las células beta pancreáticas causado por el aloxano (Murillo et al, 2006) ⁽¹⁴⁷⁾, al ser un compuesto químico hidrofílica e inestable, tiene una forma similar a la de la glucosa molecular, que es responsable de su absorción selectiva y la acumulación por la célula beta pancreática (Gorus et al, 1982) ⁽¹⁴⁸⁾, la similitud en la forma permite que se transporte en el citosol por el transportador de glucosa (GLUT2) en la membrana plasmática de las células beta (Elsner et al, 2002) ⁽¹⁴⁹⁾, generando radicales hidroxilos, por lo tanto, puede resumirse que la toxicidad de la célula beta pancreática resulta debido al ciclo redox y generación de reactivas de oxígeno (ROS) tóxico en combinación con la hidrofilia y la similitud de glucosa de la forma molecular de aloxano (Ankur et al, 2012) ⁽¹⁵¹⁾, produciéndose una masiva reducción en la liberación de insulina por la destrucción selectiva de las células beta de los islotes de Langerhans que han sido atribuidas a la generación de radicales libres tóxicos que inducen ruptura del DNA (López et al, 2001) ⁽¹⁵⁰⁾. El aloxano provoca una diabetes mellitus insulino-dependiente. La dosis de aloxano requerido para inducir la diabetes depende de la especie animal, la vía de administración y el estado nutricional (Federiuk et al, 2004). ⁽¹⁵²⁾

En el presente trabajo de investigación se optó por la utilización de aloxano al 5%, como inductor a diabetes mellitus experimental en ratas wistar, a una dosis de 100 mg/kg/p vía subcutánea. A las 72 horas, el grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4 presentaron hiperglucemia en la concentración de glucosa basal, fueron en promedio 62.47 mg/dl incrementándose la concentración de glucosa inicial en promedio 131.67 mg/dl, lo cual concuerda con lo que indica Szkudelski, 2001 que la dosis vía subcutánea debe ser 2 a 3 veces superior comparada con la dosis intravenosa ⁽¹⁶¹⁾. También se observó algunos cambios en las ratas wistar diabéticas, además de presentar hiperglucemia que se caracteriza por el olor fuerte en la orina, aumento en el volumen de orina, caída de pelos, pérdida de peso y debilidad general, estos parámetros fueron observados pero no fueron objeto de medición.

TABLA N° 13: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA DURANTE EL TRATAMIENTO DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS EXPERIMENTALES

Grupos	Concentración de glucosa (mg/dl)		
	Días de tratamiento		
	Día 7	Día 14	Día 21
Grupo C. Positivo	72 ^b	69.75 ^c	66.75 ^c
Grupo Exp. 1	118.37 ^a	100.87 ^{ab}	93.25 ^{ab}
Grupo Exp. 2	108.32 ^a	91.25 ^b	80.5 ^b
Grupo Exp. 3	119.75 ^a	114.5 ^a	104.75 ^a
Grupo Exp. 4	117.25 ^a	113.25 ^a	105.87 ^a

a,b,ab,c. Letras diferentes indican diferencia estadística significativa ($p < 0.05$).

Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI.
Grupo Exp 1: Mashua negra 50 mg/kg/d.

Grupo Exp 2: Mashua negra 100 mg/kg/d.

Grupo Exp 3: Mashua amarilla 50 mg/kg/d.

Grupo Exp 4: Mashua amarilla 100 mg/kg/d.

En la tabla N° 13: Se observa la concentración de glucosa durante el tratamiento del grupo control positivo y experimental 1, 2, 3 y 4. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, con un nivel de confianza que es 95%, donde ($p < 0.05$) observándose diferencias estadísticamente significativas por lo tanto se rechaza la H_0 , la aplicación de la prueba de tukey las letras “a”, “b”, “ab” y “c” indican que existe diferencias significativas entre la concentración de glucosa durante los días tratamiento del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

De acuerdo a la estadística aplicada, después de la primera semana de tratamiento post inducción a hiperglucemia con aloxano, se realizó el siguiente dosaje de glucosa durante el proyecto de investigación en el día 7. Se observa en la tabla N° 13 el grupo control positivo con administración vía subcutánea de la insulina lantus 30 UI, existe una diferencia significativa donde los concentración de glucosa presentaron una disminución significativa, llegando a los concentración de glucosa basal. En los grupos experimentales 1, 2, 3 y 4 no se aprecia las diferencias estadísticamente significativas. También se observa los valores de la glucosa durante el tratamiento del día 14 y día 21, donde en los grupos experimentales 1 y 2 con tratamiento de mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, presentan diferencias estadísticamente significativas disminuyendo los concentración de glucosa durante el tratamiento, sin embargo en los grupo experimental 3 y 4 con tratamiento de mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d no presentan diferencias estadísticamente significativas.

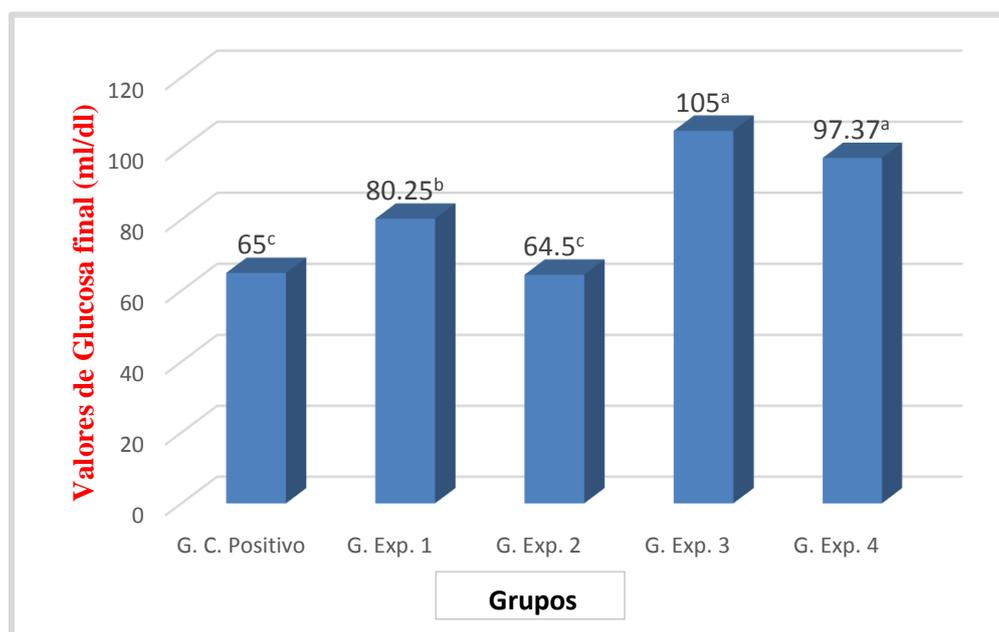
Es ampliamente aceptado que la diabetes mellitus incrementa la producción de radicales libres derivados del oxígeno: anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radical hidroxilo (OH^\cdot), superando los mecanismos de protección del organismo contra ellos. Bajo estas circunstancias pueden establecerse unas condiciones patológicas conocidas como estrés oxidante, las cuales pueden ser de tipo oxidante o nitrosante, dependiendo de las reacciones que predominen. ⁽⁴⁶⁾

Los flavonoides desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo sus propiedades antirradicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidróxido y superóxido, especies altamente reactivas de esta manera bloquean la acción deletérea de dichas moléculas sobre las células. Se cree que el yacón protege de las complicaciones producidas por la diabetes y esto es compatible según la concentración hallada de polifenoles, taninos y flavonoides. ⁽⁵⁵⁾

Los flavonoides son apreciados por su amplia actividad farmacológica: pueden unirse a los polímeros biológicos como: enzimas, transportadores de hormonas y ADN, que los iones metálicos transitorios, tales como hierro, cobre y zinc, catalizan el transporte de electrones y depuran radicales libre. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal e inflamaciones. ⁽⁹⁶⁾

La disminución de la concentración de glucosa es significativa del grupo control positivo cuyo tratamiento con insulina lantus 30 UI. Mientras en los grupos experimentales 1 y 2 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, se aprecia una disminución significativa, llegando a la concentración de glucosa basal, es muy probable que los flavonoides (antocianinas) sean responsables de la disminución de la concentración de glucosa, ya que se ha demostrado que participan en las etapas iniciales de acción de la insulina, en el hígado y músculos en ratas ⁽⁸⁹⁾, para los efectos biológicos finales de la insulina, entre ellas deducir la glucosa. Sin embargo, en los grupos experimentales 3 y 4 cuyo tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, no presenta disminución de la concentración de glucosa, esto se debe que la mashua amarilla chaucha contiene flavonoides más no antocianinas.

**GRÁFICO N° 3: CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA FINAL EN RATAS
WISTAR DEL GRUPO CONTROL POSITIVO Y GRUPOS
EXPERIMENTALES.**



En el gráfico N° 3: Se observa la concentración de glucosa final del grupo control positivo y experimental 1, 2, 3 y 4. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p < 0.05$) observándose diferencias estadísticas significativas por lo tanto se rechaza la H_0 , la aplicación de la prueba de tukey las letras “a”, “b”, “c” indican que existen diferencias significativas entre la concentración de glucosa final del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.

De acuerdo a la estadística aplicada, en el resultado **final de glucosa** en el día 28, se observa en el gráfico N° 3 el grupo control positivo y grupo experimental 2 cuyo tratamiento fue insulina 30 UI y mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d, se muestra la disminución de la concentración de glucosa llegando a la concentración de glucosa basal; el grupo experimental 1 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d también presento disminución de la concentración de glucosa, mas no llegando a los valores de la glucosa basal. En los grupos experimentales 3 y 4 cuyo tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, presento una disminución no significativa, donde se aprecia que la concentración de glucosa final no disminuyó, por lo tanto, no llegando a la concentración de glucosa basal.

Las enfermedades metabólicas, como la diabetes mellitus, tienen grandes posibilidades de tener una participación de elementos oxidativos en su génesis, evolución o complicaciones ya que pueden generar estados oxidantes o afectar la generación o la eficiencia de recuperación de los mecanismos antioxidantes (Calderón et al, 2013) ⁽¹⁵⁵⁾. Los tubérculos mashua color púrpura (negra) presentan ocho a diez veces más capacidad antioxidante que los tubérculos de color amarillo (Campos et al, 2006) ⁽⁴¹⁾. Esta actividad antioxidante más alta, se correlaciona con el alto contenido de antocianinas. Las antocianinas se producen como un mecanismo de protección frente a factores de estrés ambiental, incluyendo la luz UV, temperaturas frías, y la sequía (Pascual-Teresa y Sánchez-Ballesta) ⁽⁵⁸⁾, los estudios en animales llegaron a una conclusión coherente, que las antocianinas son absorbidas principalmente en sus formas intactas, alcanzando rápidamente el sistema circulatorio dentro de 0.25-2 horas después del consumo y finalmente se elimina a través de la orina dentro de 6-8 horas (Morazzoni et al, 1991) ⁽¹⁵⁷⁾. La mashua negra tiene 131.9 mg de antocianinas por cada 100 gr de mashua (Chirinos et al, 2006) ⁽⁶¹⁾ en cambio la mashua amarilla tiene un contenido de 10-41 mg de antocianinas por cada 100 mg de mashua (Campos et al, 2006) ⁽⁴¹⁾ y estas antocianinas actúan sobre la diabetes, mejorando el estrés oxidativo, como antiinflamatorio, protegiendo a las células beta del páncreas, regulando el metabolismo de los lípidos y sirviendo de hipoglucemiante (Honghui Guo y Min Xia, 2014) ⁽¹⁵⁶⁾.

El efecto hipoglucemiante de mashua negra a dosis de 100 mg/kg/d, puede darse a la cantidad de antioxidante de la mashua, gracias a las antocianinas y contenido de compuestos fenólicos totales, también se aprecia el efecto hipoglucemiante a dosis de 50 mg/kg/d mas no llegando a la concentración de glucosa basal. Varios trabajos de investigación muestran el efecto hipoglucemiante de los compuestos fenólicos de distintas plantas: *Geranium rukii*, extracto etanólico de hojas de *Annona muricata* L “guanábana”, *Cnidioscolus chayamansa* “chaya”, la mashua negra tiene un contenido de fenólicos totales de $314,12 \pm 1,23$ mg de ácido gálico/100g (Inostroza et al, 2015) ⁽¹⁴⁾. Así mismo se aprecia el tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, presento una disminución no significativa de concentración de glucosa final, porque la mashua amarilla tiene un contenido de 10-41 mg de antocianinas por cada 100 mg de mashua. ⁽⁴¹⁾

4.2. EFECTO HIPOGLUCEMIANTE A DIFERENTES DOSIS DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE MASHUA NEGRA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS

TABLA N° 14: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 50 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.

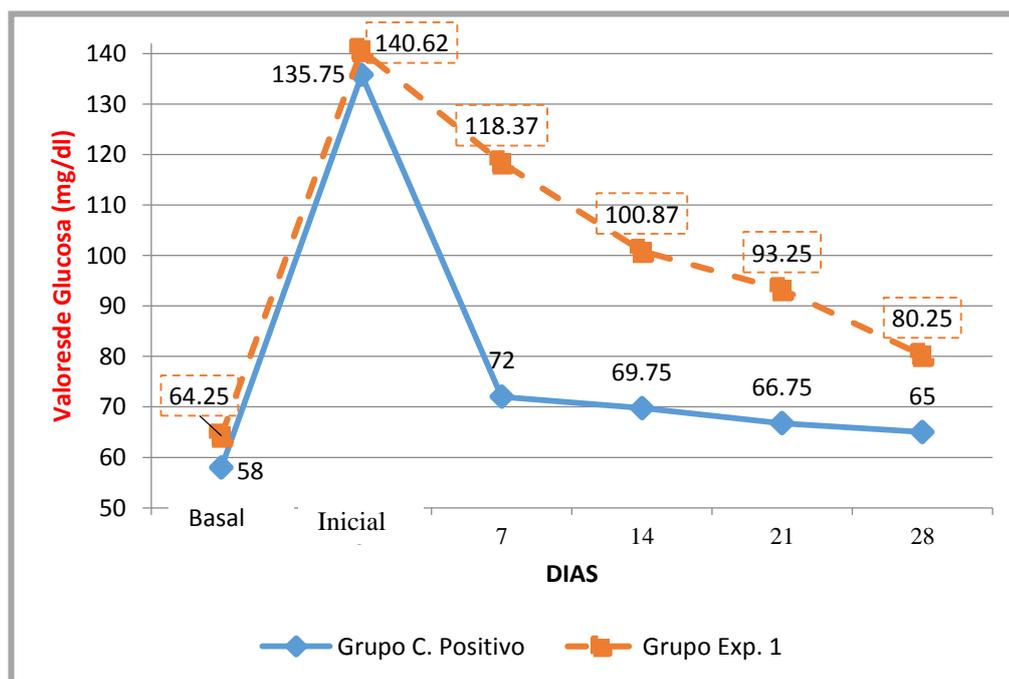
Grupos	Tratamiento	Concentración de glucosa (mg/dl)					
		Basal	Inicial	Durante el tratamiento			Final
				Día 7	Día 14	Día 21	
Grupo C. Positivo	Insulina Lantus 30 UI	58 ^b	135.75 ^a	72 ^b	69.75 ^b	66.75 ^b	65 ^b
Grupo Exp. 1	Mashua Negra 50 mg/kg/d	64.62 ^e	140.62 ^a	118.37 ^b	100.87 ^c	93.25 ^{cd}	80.25 ^d

a,b,c,d,e Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05)

Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI

Grupo Exp 1: Mashua negra 50 mg/kg/d

GRÁFICO N° 4: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 50 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS



En la tabla N° 14 y el gráfico N° 4: Se observa el efecto hipoglucemiante de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) a dosis de 50 mg/kg/d, sobre los valores de la glucosa basal, inicial, durante el tratamiento y final del grupo control positivo con el grupo experimental 1.

Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p < 0.05$) observándose diferencias estadísticamente significativas; por lo tanto se rechaza la H_0 , la aplicación de la prueba de tukey las letras “a”, “b”, “c”, “d” y “e” indican que si existe diferencias significativas del grupo control positivo cuyo tratamiento con insulina 30 UI, frente al grupo experimental 1 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d, donde presento disminución de la concentración de glucosa mas no llegando a los valores de la glucosa basal del grupo control positivo.

En un estudio en ratas diabéticas divididas en cuatro grupos: un grupo control, un grupo alimentado con una dieta adicionada con cianidina-3-glucósido, un grupo alimentado con una dieta alta en grasa y un grupo alimentado una dieta alta en grasa adicionada con cianidina-3glucosido, encontrado que el peso del tejido adiposo fue significativamente mayor en el grupo alimentado con la dieta alta en grasa, sin embargo, el grupo al que se le administró la cianidina-3-glucósido disminuyó significativamente el peso del tejido adiposo. ⁽¹⁵⁶⁾ La diabetes está asociada con la hiperglucemia y el estrés oxidativo hiperlipidemia inducida. Por lo tanto, existe una fuerte justificación para el uso de antioxidantes terapéuticos para tratar y prevenir las complicaciones diabéticas. ⁽¹⁵⁸⁾

Como efecto hipoglucemiante de mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado, los antioxidantes antocianina ricos están mediadas a través de disminuciones en la generación de radicales libres, así como aumentos en la superóxido dismutasa hepática (SOD) y las actividades de catalasa (CAT). El estrés oxidativo juega un papel muy importante en el desarrollo de la diabetes mellitus tipo 2. ⁽¹⁵⁸⁾

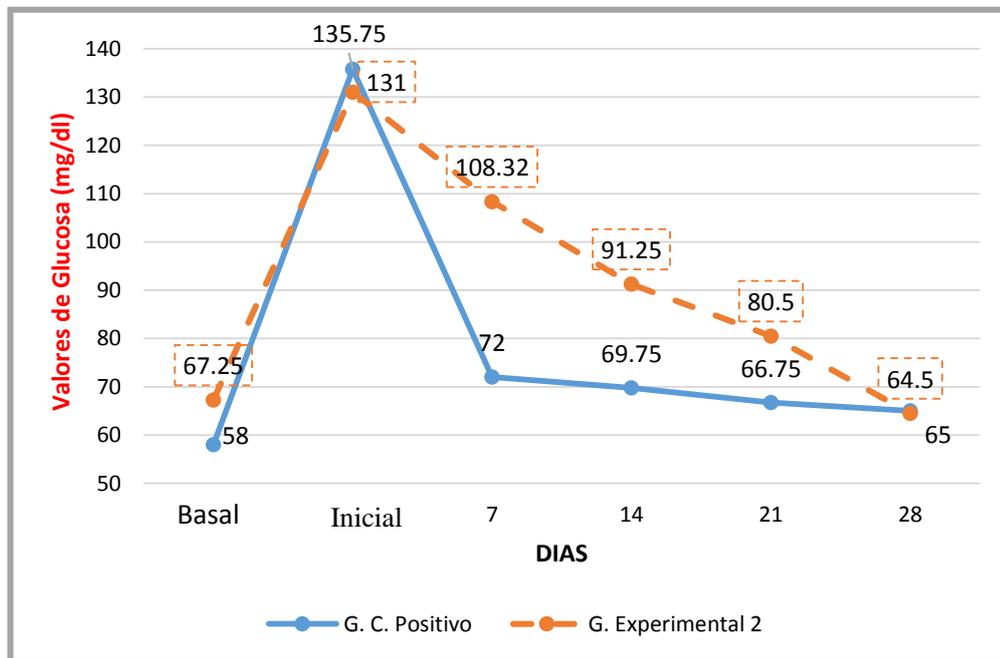
Los concentración de glucosa presento disminución mas no llegando a la concentración de glucosa basal, este resultado indica que el efecto hipoglucemiante de mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d, tiene una lenta respuesta hipoglucemiante, por consiguiente, se puede indicar que la dosis de 100 mg/kg/d presenta mayor efecto hipoglucemiante.

TABLA N° 15: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 100 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS

Grupos	Tratamiento	Concentración de glucosa (mg/dl)					
		Basal	Inicial	Durante			Final
				Día 7	Día 14	Día 21	
Grupo C. Positivo	Insulina Lantus 30 UI	58 ^b	135.75 ^a	72 ^b	69.75 ^b	66.75 ^b	65 ^b
Grupo Exp. 2	M. Negra 100 mg/kg/d	67.25 ^a	131 ^a	108.32 ^b	91.25 ^c	80.5 ^c	64.5 ^d

^{a,b,c,d} Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05)
 Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI
 Grupo Exp 2: Mashua negra 100 mg/kg/d

GRÁFICO N° 5: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA NEGRA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 100 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS



En la tabla N° 15 y el gráfico N° 5: Se observa el efecto hipoglucemiante de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) a dosis de 100 mg/kg/d, sobre la concentración de glucosa basal, inicial, durante y final del tratamiento del grupo control positivo con el grupo experimental 2. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA,

trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p < 0.05$) observándose diferencias estadísticamente significativas por lo tanto se rechaza la H_0 . La aplicación de la prueba de tukey las letras “a”, “b”, “c”, “d” y “e”, indican que si existe diferencias significativas del grupo control positivo cuyo tratamiento con insulina 30 UI frente al grupo experimental 2 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d, donde la concentración de glucosa presento una disminución llegando a la concentración de glucosa basal del grupo control positivo.

El aloxano inducido a las ratas genera especies reactivas de oxígeno (ROS) en una reacción redox cíclica con su producto de reducción, ácido dialurico. La autooxidación de ácido dialurico genera radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo (Lenzen, 2008) ⁽¹³⁴⁾ y también se demostró que los frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y contra los radicales peróxido (ROO.), superóxido (O_2^-), hidroxilo (-OH) y oxígeno singlete ($1O_2$) (Wang y Lin, 2000) ⁽⁶²⁾.

Estudios de los frutos que presentan antocianinas de cianidina 3-glucosido solo o junto con otras cianidinas y sus glicósidos ha sido ampliamente investigado por sus capacidades antioxidantes en diferentes condiciones experimentales (Kahkonen y Heinonen, 2003) ⁽⁸¹⁾. Las implicaciones terapéuticas de C3G dietético para la prevención y mejora de enfermedades diabéticas fueron investigados en alimentos ricos en C3G como el arroz de negro, Arroz negro 10-493 mg/100 g de PF de C3G (Ryu et al, 1998) ⁽⁶³⁾, maíz morado. ⁽¹³⁴⁾

Las actividades antioxidantes de C3G fueron de 3,5 a cuatro veces mayor que la de Trolox, un análogo de la vitamina E (Wang et al, 1997), la Pelargodinina tenía el valor ORAC más bajo entre las antocianinas ensayados, pero todavía era tan potente como Trolox ⁽⁹³⁾. Al disminuir el estrés oxidativo por su acción antioxidante las células β pueden estar protegidas (Roy et al, 2008) ⁽⁹⁴⁾. El efecto beneficioso de las antocianinas puede deberse a su acción directa en el radical superóxido, hidroxilo y alcoxilo, junto con su capacidad para atenuar la peroxidación de lípidos, que a su vez reduce generación de radicales libres y estrés oxidativo. ⁽⁹⁴⁾

Estudios con la fruta arándano (*Vaccinium angustifolium*) aumentaron la proliferación de las células β del páncreas ejerciendo un efecto antidiabético (Martineau et al, 2006) ⁽⁹⁵⁾, antocianinas del arándano 61.8-438 mg/100 g (Prior, et al. 1998) ⁽⁹⁶⁾. Las antocianinas de la soja negro impidieron la apoptosis de células β (Nizamutdinova et al, 2009) ⁽⁹⁷⁾. Las antocianinas C3G también demostraron ser secretagogos de insulina (aumentan la secreción) (ayaprakasam et al, 2005) ⁽⁹⁹⁾.

El efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón), puede deberse a su capacidad antioxidante y al contenido de antocianinas (cianidina-3-glucósido). Estudios mostraron que el contenido total de antocianinas de mashua negra es comparable con valores reportados para la mora (Wang y Lin, 2000) ⁽⁶²⁾, las antocianinas presentes en la mashua son de $192.63 \pm 1,28$ mg de cianidina-3-glucósido/100g y el contenido fenólico total es de $314,12 \pm 1,23$ mg de ácido gálico/100g (Inostroza et al, 2015) ⁽¹⁴⁾. Una dieta de alimentos ricas en antocianinas que contiene cianidina 3-glucosido puede mejorar la diabetes, resistencia a la insulina.

4.2. EFECTO HIPOGLUCEMIANTE A DIFERENTES DOSIS DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE MASHUA AMARILLA CHAUCHA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.

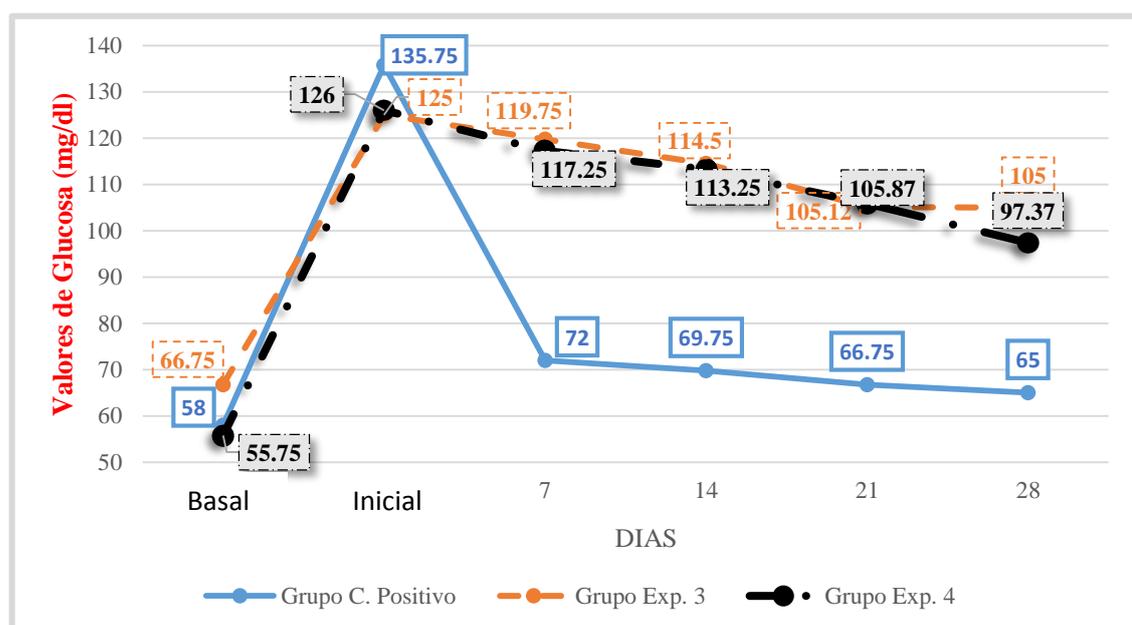
TABLA N° 16: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA AMARILLA CHAUCHA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 50 mg/kg/d Y 100 mg/kg/d SOBRE LOS CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS

Grupos	Tratamiento	Concentración de glucosa (mg/dl)					
		Basal	Inicial	Durante			Final
				Día 7	Día 14	Día 21	
Grupo C. Positivo	Insulina lantus 30 UI	58 ^b	135.75 ^a	72 ^b	69.75 ^b	66.75 ^b	65 ^b
Grupo Exp. 3	M. Amarilla 50 mg/kg/d	67.87 ^c	125 ^a	119.75 ^{ab}	114.5 ^{ab}	105.12 ^b	105 ^b
Grupo Exp. 4	M. Amarilla 100 mg/kg/d	55.75 ^d	126 ^a	117.25 ^{ab}	113.25 ^{ab}	105.87 ^{bc}	97.37 ^c

a,b,c,d Letras diferentes indican diferencia estadística significativa (p<0.05)
Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI

Grupo Exp 3: Mashua amarilla 50 mg/kg/d
Grupo Exp 4: Mashua amarilla 100 mg/kg/d

GRÁFICO N° 6: EFECTO HIPOGLUCEMIANTE DE MASHUA AMARILLA CHAUCHA (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) A DOSIS DE 50 mg/kg/d Y 100 mg/kg/d SOBRE LOS VALORES DE GLUCOSA, EN RATAS WISTAR DIABÉTICAS.



En la tabla N° 16 y el gráfico N° 6: Se observa el efecto hipoglucemiante de mashua negra (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) a dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d, sobre los valores de la glucosa basal, inicial, durante y final del tratamiento del grupo control positivo con el grupo experimental 3 y 4. Según el resultado del análisis de varianza con ANOVA, trabajándose con el nivel de confianza de 95%, donde ($p > 0.05$) no observándose diferencias estadísticamente significativas; por lo tanto se acepta la H_0 .

La aplicación de la prueba de tukey las letras “a”, “b”, “c” y “d” indican que, si existe diferencias significativas del grupo control positivo cuyo tratamiento con insulina lantus 30 UI; frente los grupos experimentales 3 y 4 cuyo tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d, donde no se observa la disminución de la concentración de glucosa, no llegando a la concentración de glucosa basal. Por lo tanto, el extracto acuoso liofilizado de mashua amarilla chaucha (*Tropaeolum tuberosum Ruiz y Pavón*) no tiene efecto hipoglucemiante sobre la concentración de glucosa. Así mismo se observa que, el grupo control positivo al recibir tratamiento con insulina a dosis 30 UI, hay una disminución significativa de los concentración de glucosa.

En un estudio de investigación sobre la capacidad antioxidante total de la variedad Amarilla chaucha no presentó cambios una vez aplicados los tratamientos de secado y cocción ($2.90 \mu\text{mol Trolox/g}$ tejido y $2.91 \mu\text{mol Trolox/g}$ tejido base seca, pero presenta mayor contenido de humedad, fibra cruda, cenizas y proteínas en sus tres estados (fresco, seco y cocido) (Paucar, 2014) ⁽¹²⁾, esto demuestra, porque no hubo un efecto hipoglucemiante con los grupos experimentales 3 y 4, por el bajo contenido de compuestos fenólicos, antocianinas ⁽⁴¹⁾. Huaccho. (2016) ⁽¹⁵⁾ estudio la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 variedades de mashua, donde los resultados fueron: Los tubérculos de coloración morada destacaron en compuestos fenólicos y antocianinas y los de coloración amarilla en contenido de carotenoides. Los compuestos fenólicos mostraron entre una moderada y buena correlación con las diferentes capacidades antioxidantes ($r^2 = 0.44 - 0.75$) siendo entre moderada y baja la correlación entre la capacidad antioxidante y las antocianinas ($r^2 = 0.42 - 0.67$).

Se ha observado que la elevación de los niveles plasmáticos de glucosa y de lípidos, una condición existente en la diabetes, está directamente relacionada con el aumento de la producción de radicales libres, que a su vez contribuyen a la disrupción de algunas de las proteínas implicadas en la cascada de señalización de la insulina y de la generación de factores de inflamación. Por lo tanto, las antocianinas juegan un papel importante al contribuir en el control de los radicales libres, previniendo o retardando las complicaciones de la diabetes. ⁽⁹²⁾

Además de la resistencia a la insulina que se presenta en la diabetes mellitus tipo 2, también se caracteriza por la disfunción de las células β del páncreas. Esto se debe a la apoptosis inducida por radicales libres que se generan por reacciones de glicación provocadas por la hiperglucemia, junto al agotamiento pancreático secundario al exceso de insulina que estas células deben producir para contrarrestar el efecto del aumento de los niveles de glucosa plasmática. ⁽¹⁵⁹⁾ Nuevamente, las antocianinas pueden intervenir en la prevención del estrés oxidativo protegiendo así las células β de la apoptosis ⁽⁹⁴⁾ y también se cree que intervienen en la proliferación de las mismas. ⁽⁹⁵⁾

En los grupos experimentales 3 y 4 cuyo tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d, se muestra una diferencia en los grupos experimentales 1 y 2 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 50 mg/kg/d y 100 mg/kg/d. Puede deberse a la cantidad de fotoquímicos presentes y su capacidad antioxidante que es ocho a diez veces menos que los tubérculos de color negro, las antocianinas totales de mashua amarilla fluctúan 10 - 41 mg/100 g y el contenido de compuestos fenólicos de la mashua amarilla fue la más baja en comparación de la mashua negra 0.92 mg g⁻¹ en (5 g) (Campos et al, 2006) ⁽⁴¹⁾.

4.4. COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA FINAL, DEL GRUPO CONTROL POSITIVO CON LOS GRUPOS EXPERIMENTALES 1, 2, 3 Y 4

TABLA N° 17: COMPARACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE GLUCOSA FINAL DEL GRUPO CONTROL POSITIVO CON LOS GRUPOS EXPERIMENTALES.

Grupos	Concentración de glucosa (mg/dl)		
	Tratamiento	Final Día 28	Prueba t Student
Grupo C. Positivo	Insulina lantus 30 UI	65	...
Grupo Exp. 1	M. Negra 50 mg/kg/d	80.25	-2.857
Grupo Exp. 2	M. Negra 100 mg/kg/d	64.5	0.137
Grupo Exp. 3	M. Amarilla 50 mg/kg/d	105	-6.402
Grupo Exp. 4	M. Amarilla 50 mg/kg/d	97.37	-7.818

Grupo C. Positivo: Insulina lantus 30UI
 Grupo Exp 1: Mashua negra 50 mg/kg/d
 Grupo Exp 2: Mashua negra 100 mg/kg/d

Grupo Exp 3: Mashua amarilla 50 mg/kg/d
 Grupo Exp 4: Mashua amarilla 100 mg/kg/d

En la tabla N° 17: Se muestra la comparación de las concentraciones de glucosa final del grupo control positivo con los grupos experimentales 1,2, 3 y 4. Según los resultados de la prueba t Student, usando el nivel confianza de 95% y el valor tabular $\alpha=0.05$ (se divide el valor tabular entre 2 teniendo el resultado de $\alpha=0.025$), se obtuvo el grado de libertad 10, con un valor de $\leq \pm 2.228$ la zona de aceptación, donde (t calculado= 0.137) del grupo experimental 2 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d, está dentro de la zona de aceptación de H_0 , es decir no hay diferencia estadísticamente significativa entre el grupo control positivo cuyo tratamiento con insulina 30 UI y el grupo experimental 2 cuyo tratamiento con mashua negra a dosis de 100 mg/kg/d.

Con los grupos experimentales 1, 3 y 4 según sus datos obtenidos del resultado de t Student, no corresponde a la zona de aceptación, por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula H_0 , significando que si hay diferencias estadísticamente significativas.

La abundancia de las seis antocianidinas comunes en las partes comestibles de las plantas varía considerablemente. En un estudio de Kong et al. (2003) ⁽⁵⁷⁾ estimaron el siguiente orden de abundancia: Cianidina (50%), Pelargonidina (12%), Peonidina (12%), Delfinidina (12%), Petunidina (7%), y Malvidina (7%). En otra investigación el orden de abundancia se estimó en Cianidina (30%), Delfinidina (22%), Pelargonidina (18%), Peonidina (7,5%), Malvidina (7,5%) y Petunidina (5%). En ambos informes, los tres antocianidinas no metiladas (Cianidina, Delfinidina y Pelargonidina) mostraron ser más generalizada que los tres antocianinas metiladas (Peonidina, Malvidina, y Petunidina). Teniendo en cuenta que más del 90% de antocianinas contienen glucosa como azúcar glicosilar. La cianidina -3 glucosido es la antocianina más extendida en la naturaleza (Kong et al, 2003) ⁽⁵⁷⁾ y es la más potente, las actividades antioxidantes de C3G fueron de 3,5 a cuatro veces mayor que la de Trolox, un análogo de la vitamina E (Wang et al, 1997) ⁽⁹³⁾, la Pelargonidina tenía el valor ORAC más bajo entre las antocianinas ensayados, pero todavía era tan potente como Trolox.

Estudios demostraron que los frutos ricos en antocianinas evidencian una alta actividad antioxidante contra la presencia de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y contra los radicales peróxido (ROO.), superóxido (O₂.-), hidroxilo (-OH) y oxígeno singlete (1O₂) (Ryu et al, 63) ⁽⁶²⁾. Las antocianinas son eficaces en la prevención del desarrollo de la oxidación que pueden conducir a la diabetes (Ghosh y Konishi, 2007) ⁽⁸⁹⁾. Hay estudios que demuestran que las antocianinas ayudan a la protección de las células beta, disminuyendo el estrés oxidativo por su acción antioxidante (Ryu et al, 2008) ⁽⁹⁴⁾. El extracto de la fruta arándano (*Vaccinium angustifolium*) aumentó la proliferación de las células β del páncreas ejerciendo un efecto antidiabético gracias a las antocianinas (Martineau et al, 2006) ⁽⁹⁵⁾. El tratamiento con antocianinas de cubiertas de las semillas de soja negro impidió la apoptosis de células β (Nizamutdinova et al, 2009) ⁽⁹⁷⁾. La antocianina purificada aumento las funciones de las células β de ratones C57BL / 6 (Jayaprakasam et al, 2006) ⁽⁹⁸⁾ también se informó de que varios compuestos presentes en la piel de uvas enteras son capaces de aumentar la secreción de insulina (Zhang et al, 2004) ⁽¹⁰⁰⁾. En otro estudio se llegó a la conclusión, que las antocianinas y antocianidinas son secretagogos de insulina (aumentan la secreción). Estos resultados indican que el número de grupos hidroxilo en el anillo B de las antocianinas juegan un papel importante en su capacidad de secretar insulina (Jayaprakasam et al, 2005) ⁽⁹⁹⁾.

Gracias a distintos estudios, sobre los efectos benéficos de las antocianinas sobre la salud como: efectos oculares (Ghosh et al, 2007; Jang et al, 2005; Chu et al, 2011) ^(89, 90, 91), Alzheimer, función cerebral (Krikorian et al, 2010; Krikorian et al, 2010) ^(87, 88), anticancerígeno (Stoner et al, 1999) ⁽⁸⁵⁾, protección contra las enfermedades cardiovasculares (Kahkonen et al, 2003; Youdin et al, 200) ^(82, 83), diabetes y demás enfermedades, la demanda de antocianinas a nivel mundial aumenta cada año, se calcula entre 1200 y 1300 toneladas anuales. Los principales países consumidores son Japón y Estados Unidos y en menor escala Francia, Inglaterra, Alemania, España, Bélgica y Venezuela. La producción global de antocianinas está orientada a las empresas productoras de productos de bebidas, saborizantes de yogur y golosinas (Human, 2013) ⁽⁷⁸⁾. Las antocianinas como otros bio-colores tienen un alto valor de mercado, con variaciones de precios, desde US \$1250 a \$2000 por kg (Riaz et al, 2016) ⁽⁷⁷⁾

Las propiedades antidiabéticas de mashua puede deberse a la cantidad de fotoquímicos presentes en mashua negra, por su capacidad antioxidante como compuestos fenólicos, antocianinas. La variedades de mashua del color púrpura (negra) que se utilizó para el tratamiento de diabetes mellitus, donde se observa la disminución de concentración de glucosa final, llegando la disminución a la concentración de glucosa basal, debido que presentan ocho a diez veces más capacidad antioxidante que los tubérculos de color amarillo lo cual concuerda con lo que indica (campos et al, 2006) ⁽⁴¹⁾. En una investigación, el contenido de antocianinas totales de extractos de mashua negra fueron: $192,63 \pm 1,28$ mg de cianidina-3-glucósido/100g peso fresco (PF) (Inostroza et al, 2015) ⁽¹⁴⁾, en cambio las antocianinas totales de la mashua amarillas (5 g.), fluctuaban entre 0,5-2.05 mg (10-41 mg/100 g de PF) (campos et al, 2006) ⁽⁴¹⁾.

V. CONCLUSIONES

1. Se determinaron las concentraciones de glucosa basal, inicial, durante y final del tratamiento del grupo control positivo y grupos experimentales 1, 2, 3 y 4.
2. El extracto acuoso liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) negra a dosis de 100 mg/kg/d, demostró ser más efectiva como hipoglucemiante, en la concentración de glucosa durante y final del tratamiento, la disminución fue llegando a la concentración de glucosa basal, demostrando ser más efectiva que la dosis de 50 mg/kg/d, siendo estadísticamente significativa.
3. El extracto acuoso liofilizado de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón) amarilla chaucha, a dosis de 50 y 100 mg/kg/d, la disminución de la concentración de glucosa no alcanzo a la concentración de glucosa basal, lo que nos indica que su efecto hipoglucemiante es menor, siendo estadísticamente no significativo.
4. Mediante los resultados de la prueba t Student, en comparación con el grupo control positivo y los grupos experimentales 1, 2, 3, y 4, el grupo experimental 2 cuyo tratamiento con mashua negra en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d, presento mayor efecto hipoglucemiante que a dosis de 50 mg/kg/d; en los grupos experimental 3 y 4 cuyo tratamiento con mashua amarilla chaucha en forma de extracto acuoso liofilizado a dosis de 100 mg/kg/d, presentaron menor efecto hipoglucemiante.

VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda tener los materiales farmacológicos antes de iniciar el proyecto y hacer el uso adecuado de aloxano en dosis adecuadas para investigaciones posteriores, por ser un reactivo que causa daño o destrucción de importantes órganos como el páncreas debido que puede ocasionar muerte de los animales de experimentación.

- Es necesario realizar un estudio histopatológico del páncreas de las ratas wistar, para observar la lesión o degradación de las células beta.

- Realizar estudios clínicos en personas con problemas de hiperglucemias

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vásquez DB, Fernández GQ. Plantas medicinales utilizadas como alternativa de tratamiento para afecciones del sistema digestivo en los pobladores del barrio de Pucará – Huancayo [Tesis pre grado]. Huancayo: Universidad privada de Huancayo “Franklin Roosevelt”; 2016.
2. Cañigüeral S. La Fitoterapia: ¿una terapéutica para el tercer milenio?. Revista de Fitoterapia 2002; 2 (2): 101-121
3. Salaverry O. La complejidad de lo simple: plantas medicinales y sociedad moderna. Rev Peru Med Exp Salud Pública 2005; 22(4): 245-246
4. Bash E. Instituto Nacional de Estadística e Informática del Perú. Vol. 1, Perú: Enfermedades No Transmisibles Y Transmisibles. Lima; 2015. 145 p.
5. Grau A, Ortega R, Nieto C and Hermann M. Mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pav.). Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 25. International Potato Center, Lima, Peru/International Plant Genetic Resources Institute. Rome, Italy; 2003. 55 p
6. Chirinos R, Campos D, Costa N, Arbizu C, Pedreschi R, Larondelle Y. Phenolic profiles of andean mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) tubers: Identification by HPLC-DAD and evaluation of their antioxidant activity. Food Chemistry 2008; 106(3): 1285-1298.
7. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes-2017. Diabetes Care 2017; 40(Suppl. 1):S1–S2
8. Organización mundial de la salud. Informe mundial sobre diabetes. Ginebra: OMS; 2016
9. Hirst M, Williams R SD. Diabetes Atlas. Bruselas, Bélgica. Federación Internacional de la Diabetes. Diabetes voice. 2014;59(3):76.
10. Pera PI. Artículo Original Diabetes Mellitus : La Pandemia Del Siglo XXI. Rev Cient Enferm. 2012;5:1–13.
11. Shipp J, Abdel-Aal EM. Food Applications and Physiological Effects of Anthocyanins as Functional Food Ingredients. The Open Food Science Journal. 2010; 4: 7-22
12. Paucar SA. Realizo la investigación: Composición química y capacidad antioxidante de dos variedades mashua (*tropaeolum tuberosum*) amarilla chaucha

- y zapallo [Tesis pre grado]. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial. Facultad de Ciencias de la Ingeniería. Carrera de Ingeniería de Alimentos; 2014
13. Beltran AF, Mera JG. Elaboración del tubérculo mashua (*tropaeolum tuberosum*) troceada en miel y determinación de la capacidad antioxidante [Tesis pre grado]. Guayaquil: Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química; 2014
 14. Inostroza LA, Castro AJ, Hernández EM, Carhuapoma M, Yuli RA, Collado A, Córdova JS. Actividad antioxidante de *tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón (mashua) y su aplicación como colorante para yogur. *Ciencia e Investigación de la UNMSM* 2015; 18(2): 83-89
 15. Huaccho C. “Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, carotenoides y antocianinas de 84 cultivares de mashua (*tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón)” [Tesis para optar el grado de magister]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina. Escuela de Posgrado. Maestría en Tecnología de Alimentos; 2016
 16. Pacco E. “Evaluación del efecto del soleado y la cocción en la capacidad antioxidante del puré deshidratado de mashua (*tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón.)” [Tesis pre grado]. Puno: Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; 2015
 17. Hernández B Y León J. Cultivos marginados otra perspectiva de 1492. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación Roma; 1992. p: 150-151.
 18. Hermann M and Heller J, editors. Andean roots and tubers: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Promoting the conservation and use of underutilized and neglected crops. 21. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/ International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy; 1997
 19. PERU ECOLOGICO. Mashua: Morfología, distribución, hábitat y cultivo [en línea]. Perú; 2007. [Fecha de acceso 21 de septiembre del 2017]. URL disponible en: http://www.peruecologico.com.pe/flo_mashua_1.htm
 20. Barrera V, Tapia C, Monteros A (eds.). Raíces y Tubérculos Andinos: Alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). No.4. Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Quito, Ecuador - Lima, Perú; 2004: 176 p.

21. Kays Stanley J. Cultivated vegetables of the world: a multilingual onomasticon. University of Georgia. Netherlands: Wageningen Academic Publishers; 2011
22. Clavijo N, Combariza J, Barón M. Recognizing rural territorial heritage: characterization of Andean tuber production systems in Boyacá. *Agronomía Colombiana* 2011; 29(2):315-322.
23. Tapia M, Fries A, Mazar I, Rosell C. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO-Asociación Nacional de Productores Ecológicos del Perú. Lima; 2007
24. Espinosa EA, Cultivo de mashua: como alternativa en la biotecnología moderna industrial. [En línea] *Agricultura andina inka Blog*. Perú, 13 de septiembre de 2015. [Fecha de acceso 23 de septiembre del 2017]. URL disponible en: <http://edgarespinozamontesinos.blogspot.pe/2015/09/cultivo-de-mashua-como-alternativa-en.html>
25. Yzarra W, López F. manual de observaciones fenológicas. Servicio Nacional de meteorología e Hidrología (SENAMHI) y el Ministerio de Agricultura. Lima; 2012
26. Gonzales S, Almanza J, Oros R, Devaux A. PRODUCCIÓN DE OCA (*Oxalis tuberosa*), PAPALISA (*Ullucus tuberosus*) E ISAÑO (*Tropaeolum tuberosum*): Avances en la investigación del manejo agronómico. Fundación PROINPA Programa Colaborativo de Manejo, Conservación y Uso de la Biodiversidad de Raíces y Tubérculos Andinos (PBRTA). Proyecto PAPA ANDINA. Cochabamba-Bolivia; 2003
27. DRA-Puno. Tubérculos y Raíces. Boletín de información estadística agraria. Dirección de información agraria-Puno, (enero-2012)
28. Espinoza E, Monteghirfo GM, Alvarez PJ, Arnao SA. Análisis electroforético unidimensional y bidimensional de las proteínas de *Tropaeolum tuberosum* (MASHUA). *Boletín de la Sociedad Química del Perú*. 2002; 68(1):14-22
29. Cortés HB. Avances de la investigación en tres tubérculos andinos. Curso sobre manejo de la producción agraria en Laderas. Huaraz. Serie Ponencias, Resultados, Recomendaciones de Eventos Técnicos. No. 235. Bogotá, Colombia; 1981
30. Ayala G. Aporte de los cultivos andinos a la nutrición humana. En: Seminario J, editor. *Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación*. Serie: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003) No. 6. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación. Lima, Perú; 204. p. 101-112.

31. Cuya RA. Efecto de secado en bandeja y atomización sobre la actividad antioxidante de la mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz y Pavón). [Tesis para optar el grado de magister scientiae]. Lima: universidad agraria la Molina. Escuela de post grado. Especialidad de tecnología de alimentos; 2009
32. Cultivariable. Mashua [en línea] Lima, tubérculos (2018 PRE-ORDEN). [Fecha de acceso 12 de octubre del 2017]. URL disponible en: <https://www.cultivariable.com/product/mashua/mashua-tubers/mashua-lima-2-tubers/>
33. Ebay. Mashua “lágrimas de sangre” [en línea] Última actualización el 08 oct 2017. [Fecha de acceso 12 de octubre del 2017]. URL disponible en: <http://www.ebay.com/itm/MASHUA-Bloody-Tears-Tropaeolum-tuberosum-anu-mashwa-extremely-rare-tubers-/302412569481>
34. Peruvian organic foods. Mashua negra [en línea] Perú, 2017. [Fecha de acceso 12 de octubre del 2017]. URL disponible en: <http://www.superfood.com.pe/team-single1.html>
35. Suares MC, Saldaña AB. Cocina de autor: elaboración de veinte y cuatro platos en base a la mashua, melloco y oca [Tesis pre grado] Cuenca: Universidad de Cuenca. Facultad de Ciencias de la Hospitalidad. Carrera de Gastronomía; 2013
36. Hasegawa T., Nishino H. & Iwashima A. Isotiocyonates inhibit cell cycle progression of HeLa cell at G sub (2)/M phase. *Anti-Cancer-Drug* 1992; 4:273-279.
37. Pintao AM, Salome M, Pais S, Coley H, Kelland LR, Judson I.R. In vitro an in vivo antitumor activity of bencylisothiocyante: A natural product from *Tropeolum majus*. *Pnat Med* 1995; 61:233-236
38. Gonzales P, Kofer W, tuarancca T, Vivanco F, Arbizu C, Cosio E. Crop protection by volatile organic compounds from mashua: what we can learn from ancient agricultural techniques. Laboratorio de Bioanalítica, Sección Química, Pontificia Universidad Católica del Perú, and International Potato Center CIP. Lima, Peru; 2009
39. Vasquez JH, Gonzales JM, Pino JL Decrease in spermatic parameters of mice treated with hydroalcoholic extract *Tropaeolum tuberosum* “mashua”. *Rev Per Biol* 2012; 19(1):89-93
40. Quispe C, Matilla R, Chacon A, Blas R. análisis de la variabilidad morfológica del “añu” *tropaeolum tuberosum* ruiz & pavón procedente de nueve distritos de la región cusco. *ecol. apl* 2015; 14 (2): 211-222

41. Campos D, Noratto G, Chirinos R, Arbizu C, Roca W, Cisneros-Zevallos L. Antioxidant capacity and secondary metabolites in four species of Andean tuber crops: native potato (*Solanum* sp.), mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón), Oca (*Oxalis tuberosa* Molina) and ulluco (*Ullucus tuberosus* Caldas). *J Sci Food Agric* 2006; 86:1481-1488
42. Sellappan S, Akoh CC, Krewer G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. *J Agric Food Chem* 2002; 50:2432-2438
43. Gimeno E. Compuestos fenólicos: un análisis de sus beneficios para la salud. *O F F A R M* 2004; 23(6): 80-84
44. Porras-Loaiza AP, Lopez-Malo A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de ingeniería de alimentos* 2009; 3(1): 121-134
45. Dehkharghanian M, Lacroix M, Vijayalakshmi MA. Antioxidant properties of green tea polyphenols encapsulated in caseinate beads. *Dairy Sci Techno* 2009; 89(5):485-99.
46. Clifford MN. Diet-derived phenols in plasma, tissues and their implication for health. *Planta Med* 2004; 70: 1103-1114
47. Decker E A. Phenolics: prooxidants or antioxidants. *Nutritional reviews* 1997; 55(1): 396-398
48. Berra B, Caruso D, Cortesi N, Fedeli E, Rasetti M F and Galli G. Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. *Rivista italiana sost grasse* 1995; 75: 285-291
49. Peñarrieta JM, Tejada L, Mollinedo P, Vila JL, Bravo JA. Phenolic compounds in food. *Revista boliviana de química* 2014; 31(2): 68-81
50. Muñoz A, Fernández A, Ramos F, Alvarado-Ortiz C. Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Rev Soc Quím Perú* 2007; 73(1): 30-40.
51. Sánchez-Paniagua M. Biosensores amperométricos de tirosinasa para la determinación de compuestos fenólicos en medios acuosos y no acuosos [Tesis doctoral] España: Universidad Complutense de Madrid. Facultad de farmacia. Departamento de Química Física II; 2008
52. Crozier A, Jaganath I, Clifford MN. Dietary phenolics: Chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Products Reports* 2009; 26: 1001–10043.

53. Garcia B. Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina [tesis doctoral] Tarragona: Universidad de Rovira y Virgili. Departamento de Bioquímica y Biotecnología; 2005
54. Parisi O, Puocosi F, Restuccia D, Farina G, Ienma F, Picci N. Polyphenols and Their Formulations: Different Strategies to Overcome the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability. En Watson R, Preedy V, Zibadi S (editors). Polyphenols in Human Health and Disease. Italia: el Sevier; 2014. P. 29-58
55. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp 2002; 17(6): 271-278
56. Landi M, Tattini M, Gould K. Multiple functional roles of anthocyanins in plant-environment interactions. Environmental and Experimental Botany 2015; 119: 4-17
57. Kong JM, Chia LS, Goh NK, Chia TF, Brouillard R. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochemistry 2003; 64(5): 923-933.
58. Pascual-Teresa S. Sánchez-Ballesta M T. Anthocyanins: from plant to health. Phytochemical Review 2008; 7:281-299.
59. Garzón GA. Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. Acta biol. Colomb. 2008; 13(3): 27 - 36
60. Guerrero I, López E, Armenta RE. Pigmentos. En: Baudi S (aditor). Química de los alimentos. 4ta ed. México: PEARSON educación; 2006. P. 401-439
61. Chirinos R, Campos D, Betalleluz I, Giusti M, Schwartz S, Tian Q, Pedreschi R, Larondelle Y. High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detection (HPLC-DAD)/HPLC-Mass Spectrometry (MS) Profiling of Anthocyanins from Andean Mashua Tubers (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz and Pavón) and Their Contribution to the Overall Antioxidant Activity. J. Agric. Food Chem. 2006; 54: 7089-7097
62. Wang SY and Lin HS. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 2000; 48: 140-6.
63. Ryu SN, Park SZ and Ho CT. High performance liquid chromatographic determination of anthocyanin pigments in some varieties of black rice. Journal of Food and Drug Analysis 1998; 6: 729-36.

64. Wu X, Beecher GR, Holden JM, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Prior RL. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54: 4069-75.
65. Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization of red radish anthocyanins. *Journal of Food Science* 1996; 61: 322-6.
66. Koponen JM, Happonen AM, Mattila PH, Törrönen AR. Contents of anthocyanins and ellagitannins in selected foods consumed in Finland. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007; 55: 1612-9.
67. Abdel-Aal ES, Hucl P. Composition and stability of anthocyanins in blue-grained wheat. *J Agric Food Chem* 2003; 51(8):2174-2180.
68. Franceschinis L, Schebor C, Salvatori DM. Changes in Color and Anthocyanin Content of Different Dried Products Based on Sweet Cherries. En: Caivano JL, Buera M (editors). *Color in food: technological and psychophysical aspects*. USA. Boca Raton: CRC Press / Taylor & Francis; 2012. P. 181-190
69. Mercadante AZ, and Bobbio FO. Anthocyanins in foods: occurrence and physicochemical properties. En: Socaciu C (Editor.), *Food Colorants: Chemical and Functional Properties*. Romania. Boca Raton: CRC Press / Taylor & Francis; 2008. p. 241-276.
70. Heras I, Alvis A, Arrazola G. Optimización del Proceso de Extracción de Antocianinas y Evaluación de la Capacidad Antioxidante de Berenjena (Solana melonera L.). *Información Tecnológica* 2013; 24(5): 93-102
71. Odriozola-Serrano I, Soliva-Fortuny R, Martín-Belloso O. Changes in bioactive composition of fresh-cut strawberries stored under superatmospheric oxygen, low-oxygen or passive atmospheres. *Journal of Food Composition and Analysis* 2010; 23 (1): 37-43.
72. Patras A, Brunton NP, O'Donnell C, & Tiwari BK. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. *Trends in Food Science and Technology* 2010; 21: 3-11.
73. Amr A, Al-Tamimi E. Stability of the crude extracts of *Ranunculus asiaticus* anthocyanins and their use as food colorants. *International Journal of Food Science and Technology* 2007; 42 (8): 985-991.
74. Maier T, Fromm M, Schiber A, Kammerer DR, Carle R. Process and storage stability of anthocyanins and non-anthocyanin phenolics in pectin and gelatin gels

- enriched with grape pomace extracts. *Eur Food Res Technol* 2009; 229 (6): 949-960
75. Kader F, Irmouli M, Zitouni N, Nicolas JP, Metche M. Degradation of cyanidin 3-glucoside by caffeic acid o-quinone. Determination of the stoichiometry and characterization of the degradation products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1999; 47(11):4625–4630
 76. Rubinskiene M, Viskelis P, Jasutiene I, Viskeliene R, Bobinas C. Impact of various factors on the composition and stability of black currant anthocyanins. *Food Research International* 2005; 38 (8): 867- 871
 77. Riaz M, Zia-Ul-Haq, Saad B. *Anthocyanins and Human Health: Biomolecular and therapeutic aspects*. Palestina; Springer briefs in food, health, and nutrition; 2016
 78. Human A. Evaluación de la estabilidad de antocianinas presentes en los frutos de: *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (CAPACHU), *Berberis cummutata* Eichler (HUANCACHU), *Berberis humbertiana* J.F. Macbr (CHEQCHE) y *Vaccinium floribundum* Kunth (ALAYBILÍ) frente al pH y temperatura [tesis de grado] Andahuaylas: Universidad Nacional José María Arguedas. Facultad de Ingeniería. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; 2013
 79. Abdel-Aal ES, Abou-Arab AA, Gamel TH, Hucl P, Young JC, Rabalski I. Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. *J Agric Food Chem* 2008; 56: 11171-11177.
 80. Velioglu YS, Mazza G, Gao L, Oomah BD. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *J Agric Food Chem* 1998; 46: 4113-4117.
 81. Kahkonen MP, Heinonen M. Antioxidant activity of anthocyanins and their aglycones. *J Agric Food Chem* 2003; 51: 628-633.
 82. Ziberna L, Tramer F, Moze S, Vrhovsek U, Mattivi F, Passamonti S. Transport and bioactivity of cyanidin 3-glucoside into the vascular endothelium. *Free Radical Biology and Medicine* 2012; 52 (9): 1750-1759.
 83. Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. *Free Radical Biology and Medicine* 2000; 29 (1): 51-60.
 84. Tramer F, Moze S, Ademosun AO, Passamonti S, Cvorovic J. Dietary anthocyanins: Impact on colorectal cancer and mechanisms of action. En: Ettarh R

- (Editor). Colorectal Cancer - From Prevention to Patient Care. InTech, serbia; 2012. P. 123-156
85. Stoner GD, Kresty LA, Carlton PS, Siglin JC, Morse MA. Isothiocyanates and freeze-dried strawberries as inhibitors of esophageal cancer. *Toxicological Sciences* 1999; 52 (suppl 1): 95-100.
 86. Katsube N, Iwashita K, Tsushida T, Yamaki K, Kobori M. Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and the anthocyanins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2003; 51(1): 68-75
 87. Krikorian R, Eliassen JC, Boespflug EL, Nash TA, Shidler MD. Improved cognitive-cerebral function in older adults with chromium supplementation. *Nutritional Neuroscience* 2010; 13(3): 116-122.
 88. Krikorian R, Nash TA, Shidler MD, Shukitt-Hale B, Joseph JA. Concord grape juice supplementation improves memory function in older adults with mild cognitive impairment. *British Journal of Nutrition* 2010; 103(05): 730-734
 89. Ghosh D, Konishi T. Anthocyanins and anthocyanin-rich extracts: role in diabetes and eye function. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007; 16: 200-208.
 90. Jang YP, Zhou J, Nakanishi K, Sparrow JR. Anthocyanins protect against A2E photooxidation and membrane permeabilization in retinal pigment epithelial cells. *Photochem Photobiol* 2005; 81: 529-536.
 91. Chu W, Cheung SCM, Lau RAW, Benzie IFF. Bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.). En: Benzie IFF, Wachtel-Galor S (editors). *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects*. 2da ed. Boca Raton: CRC Press / Taylor & Francis; 2011. P. 55-71
 92. Feshani AM, Kouhsari SM, Mohammadi S. *Vaccinium arctostaphylos*, a common herbal medicine in Iran: Molecular and biochemical study of its antidiabetic effects on alloxan-diabetic Wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2011; 133 (1): 67-74
 93. Wang SY, Lin H. Antioxidant activity in fruit and leaves of blackberry, raspberry and strawberry is affected by cultivar and maturity. *Journal Agricultural and Food Chemistry* 2000; 48: 140-146.
 94. Roy M, Sen S, Chakraborti A. Action of pelargonidin on hyperglycemia and oxidative damage in diabetic rats: Implication for glycation-induced hemoglobin modification. *Life Sciences* 2008; 82 (21): 1102–1110

95. Martineau L, Couture A, Spoor D, Benhaddou-Andaloussi A, Harris C, Meddah, B., et al. Anti-diabetic properties of the Canadian lowbush blueberry *Vaccinium angustifolium* Ait. *Phytomedicine* 2006; 13 (9): 612–623.
96. Prior R, Cao G, Martin A, Sofic E, McEwen J, O'Brien C, et al. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 1998; 46 (7): 2686–2693
97. Nizamutdinova IT, Kim YM, Chung J, Shin SC, Jeong YK, Seo GH, et al. Anthocyanins from black soybean seed coats stimulate wound healing in fibroblasts and keratinocytes and prevent inflammation in endothelial cells. *Food and Chemical Toxicology* 2009; 47 (11): 2806–2812
98. Jayaprakasam B, Olson LK, Schutzki, RE, Tai MH, Nair MG. Amelioration of obesity and glucose intolerance in high-fat-fed C57BL/6 mice by anthocyanins and ursolic acid in Cornelian cherry (*Cornus mas*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2006; 54 (1): 243–248.
99. Jayaprakasam B, Vared SK, Olson LK, Nair MG. Insulin secretion by bioactive anthocyanins and anthocyanidins present in fruits. *J Agric Food Chem* 2005; 53: 28-31.
100. Zhang Y, Jayaprakasam B, Seeram NP, Olson LK, DeWitt D, Nair MG. Insulin secretion and cyclooxygenase enzyme inhibition by cabernet sauvignon grape skin compounds. *J Agric Food Chem* 2004; 52: 228-233.
101. Guyton A, Hall J. insulina, glucagón y diabetes mellitus. En Hall J, (Editor). *Tratado de fisiología médica: Duodécima edición*. España: el sevier: 2012. p. 939-950.
102. Frank A, Deng S, Huang X, Velidedeoglu E, Bae YS, Liu C, et al. Transplantation for type I diabetes: comparison of vascularized whole-organ pancreas with isolated pancreatic islets. *Ann Surg.* 2004; 240 (4): 631-40
103. Barret KE, Barman SM, Boitano S, Brook HL. *Ganong Fisiologia Medica*. 23^a ed. China: MCGRAW-HILL; 2010
104. Guven S, Kuenzi J A, Matfin G. Diabetes mellitus y síndrome metabólico. En: Porth C, (editor). *Fisiopatología – Salud Enfermedad un enfoque conceptual* 7^a Ed. Panamericana; 2006. p. 987-1016
105. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes mellitus tipo 1. *Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes mellitus tipo 1*. Plan de Calidad para el Sistema

- Nacional de Salud del Ministerio de Sanidad y Política Social. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco-Osteba; 2012.
106. American Diabetes Association. Diagnóstico y clasificación de diabetes mellitus I. *Diabetes Care* 2012; 35 (suppl 1)
 107. Barrió Castellanos R. Actualización de la diabetes tipo 1 en la edad pediátrica. En: AEPap (ed.). *Curso de Actualización Pediatría*. Madrid: Lúa Ediciones; 2016. P. 369-77
 108. Ministerio de salud. *Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención*. Lima: Minsa; 2015.
 109. Carrasco F, Galgani JE, Reyes M. Síndrome de resistencia a la insulina. Estudio y manejo. *Rev Med Clin Condes* 2013; 24(5) 827-837
 110. Galgani JE, Ravussin E. Postprandial whole-body glycolysis is similar in insulin-resistant and insulin-sensitive non-diabetic humans. *Diabetologia* 2012; 55:737-42
 111. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15:539-53.
 112. Gerich JE. Contributions of Insulin-Resistance and Insulin-Secretory Defects to the Pathogenesis of Type 2. *Diabetes Mellitus*. *Mayo Clin Proc* 2003; 78:447-456
 113. Grupo de trabajo de la Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes tipo 2. *Guía de Práctica Clínica sobre Diabetes tipo 2*. Plan Nacional para el SNS del MSC. Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias del País Vasco; 2008.
 114. Balestreni FF, Palacios A, Colán J, Arias ER. Nueva pesquisa de consenso de la diabetes gestacional, en función del futuro inmediato y a largo plazo del recién nacido *Rev Obstet Ginecol Venez* 2014; 74(2):138-142
 115. Lindström J, Ilanne-Parikka P, Peltonen M, Aunola S, Eriksson JG, Hemiö K, et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study. *Lancet*. 2006; 368:1673-1679.
 116. Shih ST, Davis-Lameloise N, Janus ED, Wildey C, Versace VL, Hagger V, et al. Mothers after gestational diabetes in Australia Diabetes Prevention Program (MAGDA-DPP) post-natal intervention: Study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*.2013; 14:339-52.

117. Karam J.H, Masahrani U. Hypoglycemic Disorders. En: Greenspan F.G (editor), Basic and clinical endocrinology. 7ma edicion. New York: lange medical nooks/McGraw-hill: 2004. P. 747-765
118. American Diabetes Association. Hyperglycemic crises in patients with diabetes mellitus. Diabetes Care. 2004; 27(suppl. 1): S94-S102
119. Cade WT. Diabetes-Related Microvascular and Macrovascular Diseases in the Physical Therapy Setting. Phys Ther 2008; 88 (11): 1322 – 1335.
120. American Diabetes Association. Standars of Medical Care in Diabetes-2015. Diabetes Care 2015; 38(Suppl 1): S1-S2
121. Organización mundial de la salud. Que es la diabetes [en línea] OMS: actualizado 2017 [Fecha de acceso 22 de julio del 2017] URL Disponible en: http://www.who.int/diabetes/action_online/basics/es/index3.html
122. Chawla A, Chwla R, Jaggi S. Microvasular and Macrovascular complications in diabetes mellitus: Distinct or continuum? Indian Journal of Endocrinology and Metabolism 2016; 20(4): 546-551
123. Reyes MP, Morales JA, Madrigal EO. Diabetes: Tratamiento nutricional. Med Int Mex 2009; 25(6):454-460
124. Gonzales R, Barutell L, Menendez S, Martin R. Resumen de las recomendaciones de la American Diabetes Association (ADA) 2014 para la práctica clínica en el manejo de la diabetes mellitus. Diabetes Práctica 2014; 05(Supl Extr 2):1-24
125. Nieto-Martínez R. Actividad física en la prevención y tratamiento de la diabetes. Revista venezolana de endocrinología y metabolismo 2010; 8(2):40-45
126. National institute of diabetes and digestive and kidney diseases. Nutrición, alimentación y actividad física si se tiene diabetes [en línea] actualizada 2017 [Fecha de acceso 29 de julio del 2017] URL disponible en: <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/nutricion-alimentacion-actividad-fisica>
127. Ariza R, Álvarez T. Prescripción de agentes orales a pacientes con diabetes mellitus tipo 2. Guía de tratamiento. Med Int Mex 2008; 24(1):52-58
128. Chong E, Herrera N. Diabetes mellitus tipo 2: Hipoglucemiantes orales. Revista Médico-Científica 2002; 15(1): 38-42
129. Laudo C, Puigdevall V. Las insulinas basales más recientes, ¿realmente son más novedosas? Med Clin (Barc) 2016; 147:297-99.
130. Kuzmanic A. Insulinoterapia. Rev Med Clin Condes 2009; 20(5): 605-613

131. Shiramoto M, Eto T, Iris S, Fukuzaki A, Teichert L, Tillner J, et al. single-dose new insulin glargine 300U/ml provides prolonged, stable glycaemic control in Japanese and European people with type 1 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2015; 17(3):254-260
132. Alexanderson-Rosas E, Llamas-Moreno J, Castro-Martinez M, Frenk-Baron P, Romero-Perz O, Mena-Madrazo J. Degludec: insulina de larga duración. *Med Int Méx* 2015; 31:709-718
133. Rohilla A and Shahjad Ali. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2012; 3(2): 819-823
134. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia* 2008; 51: 216–226
135. Altamirano A. Manual de manejo de animales de laboratorio. México, D.F: UNAM; 1994.p. 35-62.
136. Beltrán Alfonso CP, Villa Navarro FA. Sucesión de insectos en cadáveres de ratas Wistar (Muridae: *Rattus norvegicus*) en Bosque húmedo Premontano (Ibague - Colombia). *Revista Tumbaga* 2011; 6: 93-105
137. Rodríguez R, Vidrio H, Efraín A. Guía de farmacología y terapéutica. México: Mc Graw Hill; 2007: 29-31
138. Budavari S. The Merck Index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biological. 14a ed. United States of America: Merck; 1996.p. 904-905, 1722-1727.
139. Storer T, Usinger R, Stebbins R, Nybakken J. *Zoología General*. 6ª ed. Barcelona: OMEGA; 1982.p.281-305.
140. White W. Matching the Circadian rhythms of hypertension with pharmacotherapy. *Clin Cardiol* 2003; 26(4):10-15.
141. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio. Lima, Perú: Instituto Nacional de Salud; 2008.p. 7-10.
142. Muñoz JJ, Saldivar E, Maldonado C, Muñoz CY, Moreno MA. La habilidad para sujetar y manejar animales de laboratorio no se adquiere fácilmente. *REDVET* 2010; 12(5B): 1-11
143. Diabetes, bienestar y salud [en línea] última actualización 2014 [fecha de acceso 22 de agosto del 2017. URL disponible en: <https://www.diabetesbienestarysalud.com/tratamiento/que-es-la-curva-de-tolerancia-a-la-glucosa/2014/07/>

144. Rees A, Alcolado J. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005; 22: 359-70
145. Mayta P, Payano J, Pelaez J, Pérez M, Pichardo L, Puycan L. Efecto hipoglicemiante de la raíz del *Smallantus sonchifolius* en adultos jóvenes clínicamente sanos (estudios preliminares). Centro Internacional de la Papa (CIP). Simposio Latinoamericano de raíces y tubérculos. Lima, Perú; 2001
146. Etuk E. Animals models for studying diabetes mellitus. *Agric Biol J N Am* 2010; 1:130-4.
147. Murillo E, Tique M, Ospina L, Lombo O. Evaluación preliminar de la actividad hipoglicemiante en ratones diabéticos por aloxano y capacidad antioxidante in vitro de extractos de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.* 2006; 35 (1): 64-80
148. Gorus F, Malaisse W, Pipeleers D. Selective uptake of alloxan by pancreatic B-cells. *Biochem J* 1982; 208:513-5.
149. Elsner M, Tiedge M, Guldbakke B, Munday R, Lenzen S. Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan. *Diabetologia* 2002; 45:1542-9.
150. López G, Ventura P, Rodríguez R, Casas B, Hernández P, Arias G. Efectos de un extracto hidroalcohólico de *Bidens alba* en ratas normales y con diabetes aloxánica. *Acta Farm. Bonaerense* 2001; 20(2):89-93.
151. Ankur R, Shahjad A. Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2012; 3(2): 819-823
152. Federiuk I, Casey H, Quinn M, Wood M, Ward W. Induction of type 1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan; route of administration, pitfalls, and insulin treatment. *Comprehensive Med* 2004; 54:252-257
153. Hernández R, Ocharán-Hernández M. Farmacocinética de la insulina inhalable: ADME (absorción, distribución, metabolismo y excreción). *Rev Hosp Jua Mex* 2013; 80(1): 54-58
154. Malgor L, Valsecia M. *Farmacología médica* 2009; 2(25): 174-191
155. Calderón J, Muñoz E, Quintanar M. Estrés Oxidativo y Diabetes Mellitus. Departamento de Bioquímica, Centro de Investigación y de Estudios avanzados. Universidad Juárez del Estado De Durango 2013; 32(2): 53-66

156. Honghui Guo, Min Xia. Anthocyanins and Diabetes Regulation. En: Watson R.R., Preedy V.R. (editores) polyphenols in human health and disease. China. El Sevier: 2014. P. 83-93
157. Morazzoni P, Livio S, Scilingo A, Malandrino S. Vaccinium myrtillus nthocyanosides pharmacokinetics in rats. *Arzneimittelforschung* 1991; 41(2):128-31.
158. Folli F, Corradi D, Fanti P, Davalli A, Paez A, Giaccari A. El papel del estrés oxidativo en la patogénesis de tipo 2 diabetes mellitus micro y macromusculares; avenidas para un enfoque terapéutico basado en mecanicista. *Curr Diabetes Rev* 2011; 7(5): 313-24.
159. Ahrén, B. Type 2 diabetes, insulin secretion and β -cell mass. *Current Molecular Medicine* 2005; 5: 275–286.
160. Ramírez A, Villanueva P. Efecto hipoglicemiante del extracto acuoso liofilizado de la corteza de tabebuia obscura en ratas albinas con diabetes inducida por aloxano – imet 2012. Tesis de bachiller. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2013. 120 PP.
161. Lecca J, Rojas J. Efecto hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de abuta rufescens a., en ratas con diabetes mellitus tipo 2, inducidas con estreptozocin, Imet EsSalud, 2011. Tesis de bachiller. Iquitos, Perú. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, 2011. 137 PP.

ANEXOS

ANEXO A. FACTURA DE LA COMPRA DE RATAS CEPA WISTAR DE LA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA - AREQUIPA



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
 URB. SAN JOSE S/N - UMACOLLO Telf.: (51-54) 382038 ANEXO 1211
 AREQUIPA - AREQUIPA - AREQUIPA

01/019-0008759

http://www.ucsm.edu.pe

55-2016

SEÑOR (ES): LAURA CHIRINOS, YENY
 DIRECCION: JR. MIGUEL GRAU MZA. D1 LOTE. 9 URB. AEROPUERTO
 R.U.C.: 1046762112B FECHA: 2016 Diciembre 02
 CONDICIONES: GUIA DE REMISION:

R.U.C. N° 20141637941
FACTURA
 A 3 CDRAS DEL AEROPUE
N° 019 - 0008759

CANTIDAD	UNIDAD	DESCRIPCION	PRECIO UNITARIO	PRECIO VENTA
36.00	UNI	VENTA DE 36 RATAS ANIMALES EXPERIMENTALES S/	20.00	720.00
SON: SETECIENTOS VEINTE CON 00/100 SOLES			V. VENTA	
CANCELADO			EXONERADO	410.17
Arequipa... 02 de Diciembre... del 2016			I.G.V. %	109.83
			TOTAL	720.00

ADQUIRENTE / USUARIO

L y P Negocios y Representaciones SAC. RUC: 20124263869. D.C. 654-00777. Sede: 191 de la 18509 al 19000/71. 94-10-1015. Nº Aut. 017252181. A020494

ANEXO B. FACTURA DE LA COMPRA DEL ALOXANO X 25 GR ESPECTRUM DEL LABORATORIO GRUPOGRAT - LIMA



Av. La Marina N° 2665 Int. 201,
Urb. Maranga, San Miguel - Lima - Lima
Central telefónica: 5787118 - 5786398
RPM: #955905653 - RPC: 982549113
E-mail: info@grupograt.com
www.grupograt.com

R.U.C. 20550115752

FACTURA

001 - N° 0003250

Señores: **LAURA CHIRINOS YENY**

Dirección: **JR. MIGUEL GRAU MZA D1 LOTE. 9 URB. AEROPUERTO PUNO - SAN**

FECHA	RUC	GUIA REM. N°	ORD. DE COMPRA	COD. CLIENTE	FORMA DE PAGO	VENDEDOR
05/01/2017	10467621128	002385		10467621128	CONTADO COMERCIAL	Lima Mejia Rub
CANT.	UNID	ARTICULOS			P. UNITARIO	P. TOTAL
1	FCO	ALOXANO x 25 GR ESPECTRUM			591.52	591.52
<p>SON: GRUPOGRAT S.A.C. CANCELADO / CANCELADO 05 ENE. 2016</p> <p>SON: SEISCIENTOS NOVENTA Y OCHO y 00/100 SOLES</p>						
SUB TOTAL		S/ 591.53		IGV 18.00%	S/ 106.47	TOTAL S/ 698.00

RELIZA S.R.L. R.U.C. 20189673753 001 N° 2501 al 3500 A.L. 12076118023 FI. 04-01-2016

Lima,

ADQUIRENTE O USUARIO

ANEXO C

Ficha de Recolección de datos para los Niveles de Glucosa pre y post tratamiento

(Esta ficha se llenó para cada uno de las 36 ratas wistar de los 5 grupos).

Grupo experimental:

Sexo:

Sustancia y/o alimento:

Dosis:

FECHA	GLUCOSA BASAL ANTES DE LA ADM. DEL ALOXANO	GLUCOSA POSTADM. ALOXANO A LAS 72 HORAS (BASAL HIPERGLUCEMICO)	GLUCOSA DURANTE Y FINAL DE LAS RATAS WISTAR			
			DIA 7	DIA 14	DIA 21	DIA 28

ANEXO D

Tarjeta de identificación de los animales de experimentación pre y post tratamiento

(Esta ficha se llenó para cada uno de las 36 ratas wistar de los 5 grupos).

Grupo experimental:

Sexo:

Sustancia y/o alimento:

Dosis:

FECHAS DE INICIO, DURANTE Y FINAL	PESO (GRAMOS)	OBSERVACIONES

ANEXO E. VALORES SEMANALES DE GLUCOSA SANGUÍNEA DETERMINADA PARA LOS GRUPOS.

A continuación se detallan la concentración de glucosa obtenidos desde el día 1, semanalmente, hasta el día final. Los valores están expresados en mg/dl.

Tabla E.1. Día 1-Glucosa (mg/dl) basales

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a. c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a. c. 100 mg/kg/d</i>
57	76	77	81	60
76	54	68	76	70
51	89	54	73	68
48	53	82	65	52
	66	87	85	51
	47	58	45	53
	60	65	51	51
	72	47	58	41

Tabla E.2. Día 3-Glucosa (mg/dl) hiperglicemia

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 100 mg/kg/d</i>
134	152	128	123	119
139	148	137	131	142
141	156	119	115	136
129	132	142	144	129
	135	134	109	108
	148	123	138	116
	136	138	115	134
	118	127	125	124

Tabla E.3. Día 7 Glucosa (mg/dl) primera semana de tratamiento

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 100 mg/kg/d</i>
75	124	106	119	113
64	120	115	123	122
82	137	98	110	122
67	119	121	139	126
	118	120	98	100
	111	97	132	112
	120	114	117	125
	98	98	120	118

Tabla E.4. Día 14-Glucosa (mg/dl) segunda semana de tratamiento

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 100 mg/kg/d</i>
76	111	91	112	107
62	100	98	120	130
72	98	71	105	125
69	102	98	126	117
	107	105	102	93
	102	80	128	105
	112	104	110	118
	75	83	113	111

Tabla E.5. Día 21 -Glucosa (mg/dl) tercera semana de tratamiento

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a.c. 100 mg/kg/d</i>
70	92	79	108	96
65	91	101	111	115
69	109	82	99	118
63	83	72	117	111
	93	87	93	90
	97	63	115	100
	101	82	97	110
	80	78	98	107

Tabla E.6. Día 28-Glucosa (mg/dl) final del tratamiento

Insulina	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
65	89	67	91	90
68	86	75	102	110
71	73	59	107	102
56	80	61	113	99
	89	62	98	83
	71	70	120	101
	89	63	108	104
	65	59	101	90

ANEXO F. VALORES SEMANALES DE GLUCOSA SANGUÍNEA DETERMINADA SEGÚN DOSIS Y TRATAMIENTO.

Las concentraciones de glucosa están expresados en mg/dl.

Tabla F.1. Insulina

	Día 1	Día 3	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
rata 1	57	134	75	76	70	65
rata 2	76	139	64	62	65	68
rata 3	51	141	82	72	69	71
rata 4	48	129	67	69	63	56

Tabla F.2. *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón negra 50 mg/kg/d

	Día 1	Día 3	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
rata 1	76	152	124	111	92	89
rata 2	54	148	120	100	91	86
rata 3	89	156	137	98	109	73
rata 4	53	132	119	102	83	80
rata 5	66	135	118	107	93	89
rata 6	47	148	111	102	97	71
rata 7	60	136	120	112	101	89
rata 8	72	118	98	75	80	65

Tabla F.3. *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón negra 100 mg/kg/d

	Día 1	Día 3	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
<i>rata 1</i>	87	134	120	105	87	62
<i>rata 2</i>	58	123	97	80	63	70
<i>rata 3</i>	65	138	114	104	82	63
<i>rata 4</i>	47	127	98	83	78	59
<i>rata 5</i>	77	128	106	91	79	67
<i>rata 6</i>	68	137	115	98	101	75
<i>rata 7</i>	54	119	98	71	82	59
<i>rata 8</i>	82	142	121	98	72	61

Tabla F.4. *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón amarilla chaucha 50 mg/kg/d

	Día 1	Día 3	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
<i>rata 1</i>	81	123	119	112	108	91
<i>rata 2</i>	76	131	123	120	111	102
<i>rata 3</i>	73	115	110	105	99	107
<i>rata 4</i>	65	144	139	126	117	113
<i>rata 5</i>	85	109	98	102	96	98
<i>rata 6</i>	54	138	132	128	115	120
<i>rata 7</i>	51	115	117	110	97	108
<i>rata 8</i>	58	125	120	113	98	101

Tabla F.5. *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón amarilla chaucha 100 mg/kg/d

	Día 1	Día 3	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
<i>rata 1</i>	60	119	113	107	96	90
<i>rata 2</i>	70	142	122	130	115	110
<i>rata 3</i>	68	136	122	125	118	102
<i>rata 4</i>	52	129	126	117	111	99
<i>rata 5</i>	51	108	100	93	90	83
<i>rata 6</i>	53	116	112	105	100	101
<i>rata 7</i>	51	134	125	118	110	104
<i>rata 8</i>	41	124	118	111	107	90

ANEXO G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA, TEST PARAMÉTRICO PARA COMPARACIÓN DE MEDIAS Y LA PRUEBA DE TUKEY, PARA CADA SEMANA

E.G.1. ANOVA y la prueba de Tukey: Día 1-Glucosas (mg/dl) basales
Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	232	58	158	
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	517	64.625	194.2678571	
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	538	67.25	197.0714286	
Mashua a.c. 50 mg/kg/d	8	534	66.75	208.7857143	
Mashua a.c. 100 mg/kg/d	8	446	55.75	93.64285714	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	798.597222	4	199.6493056	1.16110564	0.346888945	2.67866711
<i>Dentro de los grupos</i>	5330.375	31	171.9475806			
<i>Total</i>	6128.97222	35				

Prueba de tukey

Insulina 30 UI	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
58	64.625	67.25	66.75	55.75
a	a	a	a	a

E.G.2. ANOVA y la prueba de Tukey Día 3- Glucosas (mg/dl) hiperglicemia

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	543	135.75	28.9166667
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	1125	140.62	159.125
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	1048	131	64
Mashua a.c. 50 mg/kg/d	8	1000	125	146.571429
Mashua a.c. 100 mg/kg/d	8	1008	126	129.428571

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	1317.59722	4	329.399306	2.85184248	0.04019828	2.67866711
<i>Dentro de los grupos</i>	3580.625	31	115.504032			
<i>Total</i>	4898.22222	35				

Prueba de tukey

Insulina 30 UI	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
135.75	140.625	131	125	126
ab	a	ab	b	ab

E.G.3. ANOVA y la prueba de Tukey Día 7-Glucosas (mg/dl) primera semana de tratamiento

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	288	72	66
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	947	118.375	121.982143
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	869	108.625	102.8392143
Mashua a.c. 50 mg/kg/d	8	958	119.75	158.214286
Mashua a.c. 100 mg/kg/d	8	938	117.25	75.0714286

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7488.80	4	1872.20	17.0462	0.00	2.67866
Dentro de los grupos	556	31	109.830	569		711
Total	10893.5	35	645			

Prueba de tukey

Insulina	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
30 UI	118.375	108.625	119.75	117.25
b	a	A	a	a

E.G.4. ANOVA y la prueba de Tukey Día 14-Glucosas (mg/dl) segunda semana de tratamiento

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	279	69.75	34.9166667
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	807	100.875	134.982143
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	730	91.25	149.642857
Mashua a.c. 50 mg/kg/d	8	916	114.5	88.5714286
Mashua a.c. 100 mg/kg/d	8	906	113.25	137.642857

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	7325.26 389	4	1831.31 597	15.3657 801	0.00	2.67866 711
<i>Dentro de los grupos</i>	3694.62 5	31	119.181 452			
<i>Total</i>	11019.8 889	35				

Prueba de tukey

	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
Insulina 30 UI	69.75	100.875	114.5	113.25
	c	ab	B	a

E.G.5. ANOVA y la prueba de Tukey Día 21-Glucosas (mg/dl) tercera semana de tratamiento

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	267	66.75	10.9166667
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	746	93.25	87.0714286
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	644	80.5	122
Mashua a.c. 50 mg/kg/d	8	838	104.75	83.0714286
Mashua a.c. 100 mg/kg/d	8	847	105.87	94.125

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	6436.37	4	1609.093	18.22752	0.00	2.678667
Dentro de los grupos	2736.62	31	88.27822	71		11
Total	9173	35				

Prueba de tukey

	mashua n. 50 mg/kg/d	mashua n. 100 mg/kg/d	mashua a.c. 50 mg/kg/d	mashua a.c. 100 mg/kg/d
Insulina 30 UI	66.75	93.25	80.5	104.75
	c	ab	B	a

E.G.6. ANOVA y la prueba de Tukey Día 28-Glucosas (mg/dl) final del tratamiento

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Insulina	4	260	65	42
Mashua n. 50 mg/kg/d	8	642	80.25	90.5
Mashua n. 100 mg/kg/d	8	516	64.5	32.5714286
Mashua a. c. 50 mg/kg/d	8	840	105	81.7142857
Mashua a. c. 100 mg/kg/d	8	779	97.375	79.4107149

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	9552.93056	4	2388.23264	34.9986228	0.00	2.67866711
<i>Dentro de los grupos</i>	2115.375	31	68.2379032			
<i>Total</i>	11668.3056	35				

Prueba de tukey

<i>Insulina</i>	<i>mashua n. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua n. 100 mg/kg/d</i>	<i>mashua a. c. 50 mg/kg/d</i>	<i>mashua a. c. 100 mg/kg/d</i>
65	80.25	64.5	105	97.375
c	b	c	a	a

ANEXO H. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ANOVA, TEST PARAMÉTRICO PARA COMPARACIÓN DE MEDIAS Y LA PRUEBA DE TUKEY, SEGÚN DOSIS Y TRATAMIENTO.

E.H.1. ANOVA y la prueba de Tukey: Insulina

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Días	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	4	232	58	158	
Día 3	4	543	135.75	28.91666667	
Día 7	4	288	72	66	
Día 14	4	279	69.75	34.91666667	
Día 21	4	267	66.75	10.91666667	
Día 28	4	260	65	42	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	16538.375	5	3307.675	58.2422597	0.00	2.77285315
<i>Dentro de los grupos</i>	1022.25	18	56.7916667			
<i>Total</i>	17560.625	23				

Prueba de tukey

<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>
58	135.75	72	69.75	66.75	65
<i>b</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>	<i>b</i>

E.H.2. ANOVA y la prueba de Tukey: *Tropaeolum tuberosum* Ruíz y Pavón negra
50 mg/kg/d

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Días	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	8	517	64.625	194.267857	
Día 3	8	1125	140.625	159.125	
Día 7	8	947	118.375	121.982143	
Día 14	8	807	100.875	134.982143	
Día 21	8	746	93.25	87.0714286	
Día 28	8	642	80.25	90.5	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	29401.1667	5	5880.2333	44.7774091	0.00	2.43769264
<i>Dentro de los grupos</i>	5515.5	42	131.321429			
<i>Total</i>	34916.6667	47				

Prueba de tukey

<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>
64.625	140.625	118.375	100.875	93.25	80.25
E	a	b	c	cd	d

**E.H.3. ANOVA y la prueba de Tukey: Tropaeolum tuberosum Ruíz y Pavón negra
100 mg/kg/d**

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Días	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	8	538	67.25	197.071429	
Día 3	8	1048	131	64	
Día 7	8	869	108-625	102.839286	
Día 14	8	730	91.25	149.642857	
Día 21	8	644	80.5	122	
Día 28	8	516	64.5	32.5714286	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	26287.10 42	5	5257.420 83	47.2135 08	0.00	2.437692 64
<i>Dentro de los grupos</i>	4676.875	42	111.3541 67			
<i>Total</i>	30963.97 92	47				

Prueba de tukey

<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>
67.25	131	108.625	91.25	80.5	64.5
<i>D</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>c</i>	<i>d</i>

**E.H.4. ANOVA y la prueba de Tukey: Tropaeolum tuberosum Ruíz y Pavón
amarilla chaucha 50 mg/kg/d**

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Días	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	8	543	67.875	162.982143	
Día 3	8	1000	125	146.571429	
Día 17	8	958	119.75	158.214286	
Día 14	8	916	114.5	88.5714286	
Día 21	8	841	105.125	74.125	
Día 28	8	840	105	81.7142857	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	16618.6667	5	3323.73333	28.0019658	0.00	2.43769264
<i>Dentro de los grupos</i>	4985.25	42	118.696429			
<i>Total</i>	21603.9167	47				

Prueba de tukey

<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 7</i>	<i>Día 14</i>	<i>Día 21</i>	<i>Día 28</i>
67.875	125	119.75	114.5	105.125	105
<i>C</i>	<i>a</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>	<i>b</i>	<i>b</i>

**E.H.5. ANOVA y la prueba de Tukey: Tropaeolum tuberosum Ruíz y Pavón
amarilla chaucha 100 mg/kg/d**

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

	Días	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Día 1	8	446	55.75	93.6428571	
Día 3	8	1008	126	129.428571	
Día 7	8	938	117.25	75.0714286	
Día 14	8	906	113.25	139.642857	
Día 21	8	847	105.875	94.125	
Día 28	8	779	97.375	79.4107143	

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
<i>Entre grupos</i>	24868.4		4973.68	48.8157		2.43769
<i>Dentro de los grupos</i>	167	5	333	271	0.00	264
			101.886			
	4279.25	42	905			
<i>Total</i>	29147.6					
	667	47				

Prueba de tukey

<i>Día 1</i>	<i>Día 3</i>	<i>Día 10</i>	<i>Día 17</i>	<i>Día 24</i>	<i>Día 31</i>
55.75	126	117.25	113.25	105.875	97.375
<i>D</i>	<i>a</i>	<i>ab</i>	<i>ab</i>	<i>bc</i>	<i>c</i>

ANEXO I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO T STUDENT PARA LA COMPARACION DEL GRUPO CONTROL - GRUPOS EXPERIMENTALES

E.I.1. T Student: insulina - mashua negra 50 mg/kg/d

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Insulina	mashua N. 50 mg/kg/d
Media	65	80.25
Varianza	42	90.5
Observaciones	4	8
Varianza agrupada	75.95	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	2.857526856	
P(T<=t) una cola	0.008514469	
Valor crítico de t (una cola)	1.812461123	
P(T<=t) dos colas	0.017028938	
Valor crítico de t (dos colas)	2.228138852	

E.I.2. T Student: insulina - mashua negra 100 mg/kg/d

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	Insulina	mashua N. 100 mg/kg/d
Media	65	64.5
Varianza	42	32.5714286
Observaciones	4	8
Varianza agrupada	35.4	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	0.13723116	
P(T<=t) una cola	0.44678589	
Valor crítico de t (una cola)	1.81246112	
P(T<=t) dos colas	0.89357178	
Valor crítico de t (dos colas)	2.22813885	

E.I.3. T Student: insulina - mashua amarilla chaucha 50 mg/kg/d

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Insulina</i>	<i>mashua A. C. 50 mg/kg/d</i>
<i>Media</i>	65	105
<i>Varianza</i>	42	81.71428571
<i>Observaciones</i>	4	8
<i>Varianza agrupada</i>	69.8	
<i>Diferencia hipotética de las medias</i>	0	
<i>Grados de libertad</i>	10	
<i>Estadístico t</i>	7.818377684	-
<i>P(T<=t) una cola</i>	7.1951E-06	
<i>Valor crítico de t (una cola)</i>	1.812461123	
<i>P(T<=t) dos colas</i>	0.0000	
<i>Valor crítico de t (dos colas)</i>	2.228138852	

E.I.4. T Student: insulina - mashua amarilla chaucha 100 mg/kg/d*Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales*

	<i>Insulina</i>	<i>mashua A. C. 100 mg/kg/d</i>
<i>Media</i>	65	97.375
<i>Varianza</i>	42	79.41071429
<i>Observaciones</i>	4	8
<i>Varianza agrupada</i>	68.1875	
<i>Diferencia hipotética de las medias</i>	0	
<i>Grados de libertad</i>	10	
<i>Estadístico t</i>	-6.4023846	
<i>P(T<=t) una cola</i>	3.90431E-05	
<i>Valor crítico de t (una cola)</i>	1.812461123	
<i>P(T<=t) dos colas</i>	0.0001	
<i>Valor crítico de t (dos colas)</i>	2.228138852	

ANEXO J. TABLA DE VALORES CRITICOS PARA LA PRUEBA DE TUKEY $q_{\alpha}(v_1, v_2)$

v ₂ ↓	A ↓	v ₁									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	0.05	18.00	29.98	32.82	37.08	40.41	43.12	45.40	47.36	49.07	50.59
	0.01	90.03	135.0	164.3	185.6	202.2	215.8	227.2	237.0	245.6	253.2
2	0.05	6.10	8.33	9.80	10.88	11.74	12.44	13.03	13.54	13.99	14.39
	0.01	14.04	19.02	22.29	24.72	26.63	28.20	29.53	30.68	31.69	32.59
3	0.05	4.50	5.91	6.82	7.50	8.04	8.48	8.85	9.18	9.46	9.72
	0.01	8.26	10.62	12.17	13.33	14.24	15.00	15.64	16.20	16.69	17.13
4	0.05	3.93	5.04	5.76	6.29	6.71	7.05	7.34	7.60	7.83	8.03
	0.01	6.51	8.12	9.17	9.96	10.58	11.10	11.55	11.93	12.27	12.57
5	0.05	3.64	4.60	5.22	5.67	6.03	6.33	6.58	6.80	6.99	7.17
	0.01	5.70	6.97	7.80	8.42	8.91	9.32	9.67	9.97	10.24	10.48
6	0.05	3.46	4.34	4.90	5.31	5.63	5.89	6.12	6.32	6.49	6.65
	0.01	5.24	6.33	7.03	7.56	7.97	8.32	8.61	8.87	9.10	9.30
7	0.05	3.34	4.16	4.68	5.06	5.36	5.61	5.82	6.00	6.16	6.30
	0.01	4.95	5.92	6.54	7.01	7.37	7.68	7.94	8.17	8.37	8.55
8	0.05	3.26	4.04	4.53	4.89	5.17	5.40	5.60	5.77	5.92	6.05
	0.01	4.74	5.63	6.20	6.63	6.96	7.24	7.47	7.68	7.87	8.03
9	0.05	3.20	3.95	4.42	4.76	5.02	5.24	5.43	5.60	5.74	5.87
	0.01	4.60	5.43	5.96	6.35	6.66	6.91	7.13	7.32	7.49	7.65
10	0.05	3.15	3.88	4.33	4.65	4.91	5.12	5.30	5.46	5.60	5.72
	0.01	4.48	5.27	5.77	6.14	6.43	6.67	6.87	7.05	7.21	7.36
11	0.05	3.11	3.82	4.26	4.57	4.82	5.03	5.20	5.35	5.49	5.61
	0.01	4.39	5.14	5.62	5.97	6.25	6.48	6.67	6.84	6.99	7.13
12	0.05	3.08	3.77	4.20	4.51	4.75	4.95	5.12	5.27	5.40	5.51
	0.01	4.32	5.04	5.50	5.84	6.10	6.32	6.51	6.67	6.81	6.94
13	0.05	3.06	3.73	4.15	4.45	4.69	4.88	5.05	5.19	5.32	5.43
	0.01	4.26	4.96	5.40	5.73	5.98	6.19	6.37	6.53	6.67	6.79
14	0.05	3.03	3.70	4.11	4.41	4.64	4.83	4.99	5.13	5.25	5.36
	0.01	4.21	4.89	5.32	5.63	5.88	6.08	6.26	6.41	6.54	6.66
15	0.05	3.01	3.67	4.08	4.37	4.60	4.78	4.94	5.08	5.20	5.31
	0.01	4.17	4.83	5.25	5.56	5.80	5.99	6.16	6.31	6.44	6.55
16	0.05	3.00	3.65	4.05	4.33	4.56	4.74	4.90	5.03	5.15	5.26
	0.01	4.13	4.78	5.19	5.49	5.72	5.92	6.08	6.22	6.35	6.46

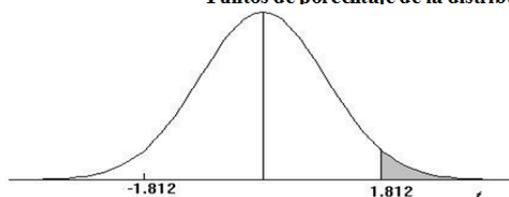
V ₂ ↓	A ↓	V ₁								
		12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	0.05	51.96	53.20	54.33	55.36	56.32	57.22	58.04	58.83	59.56
	0.01	260.0	266.2	271.8	277.0	281.8	286.3	290.4	294.3	298.0
2	0.05	14.75	15.08	15.38	15.65	15.91	16.14	16.37	16.57	16.77
	0.01	33.40	34.13	34.81	35.43	36.00	36.53	37.03	37.50	37.95
3	0.05	9.95	10.15	10.35	10.53	10.69	10.84	10.98	11.11	11.24
	0.01	17.53	17.89	18.22	18.52	18.81	19.07	19.32	19.55	19.77
4	0.05	8.21	8.37	8.52	8.66	8.79	8.91	9.03	9.13	9.23
	0.01	12.84	13.09	13.32	13.53	13.73	13.91	14.08	14.24	14.40
5	0.05	7.32	7.47	7.60	7.72	7.83	7.93	8.03	8.12	8.21
	0.01	10.70	10.89	11.08	11.24	11.40	11.55	11.68	11.81	11.93
6	0.05	6.79	6.92	7.03	7.14	7.24	7.34	7.43	7.51	7.59
	0.01	9.49	9.65	9.81	9.95	10.08	10.21	10.32	10.43	10.54
7	0.05	6.43	6.55	6.66	6.76	6.85	6.94	7.02	7.09	7.17
	0.01	8.71	8.86	9.00	9.12	9.24	9.35	9.46	9.55	9.65
8	0.05	6.18	6.29	6.39	6.48	6.57	6.65	6.73	6.80	6.87
	0.01	8.18	8.31	8.44	8.55	8.66	8.76	8.85	8.94	9.03
9	0.05	5.98	6.09	6.19	6.28	6.36	6.44	6.51	6.58	6.64
	0.01	7.78	7.91	8.03	8.13	8.23	8.32	8.41	8.49	8.57
10	0.05	5.83	5.93	6.03	6.11	6.20	6.27	6.34	6.40	6.47
	0.01	7.48	7.60	7.71	7.81	7.91	7.99	8.07	8.15	8.22
11	0.05	5.71	5.81	5.90	5.99	6.06	6.14	6.20	6.26	6.33
	0.01	7.25	7.36	7.46	7.56	7.65	7.73	7.81	7.88	7.95
12	0.05	5.62	5.71	5.80	5.88	5.95	6.03	6.09	6.15	6.21
	0.01	7.06	7.17	7.26	7.36	7.44	7.52	7.59	7.66	7.73
13	0.05	5.53	5.63	5.71	5.79	5.86	5.93	6.00	6.05	6.11
	0.01	6.90	7.01	7.10	7.19	7.27	7.34	7.42	7.48	7.55
14	0.05	5.46	5.55	5.64	5.72	5.79	5.85	5.92	5.97	6.03
	0.01	6.77	6.87	6.96	7.05	7.12	7.20	7.27	7.33	7.39
15	0.05	5.40	5.49	5.58	5.65	5.72	5.79	5.85	5.90	5.96
	0.01	6.66	6.76	6.84	6.93	7.00	7.07	7.14	7.20	7.26
16	0.05	5.35	5.44	5.52	5.59	5.66	5.72	5.79	5.84	5.90
	0.01	6.56	6.66	6.74	6.82	6.90	6.97	7.03	7.09	7.15

v ₂ ↓	α ↓	v ₁									
		2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
17	0.0	2.9	3.6	4.0	4.3	4.5	4.7	4.8	4.9	5.1	5.2
	5	8	3	2	0	2	1	6	9	1	1
	0.0	4.1	4.7	5.1	5.4	5.6	5.8	6.0	6.1	6.2	6.3
18	0.0	2.9	3.6	4.0	4.2	4.4	4.6	4.8	4.9	5.0	5.1
	5	7	1	0	8	9	7	2	6	7	7
	0.0	4.0	4.7	5.0	5.3	5.6	5.7	5.9	6.0	6.2	6.3
19	0.0	2.9	3.5	3.9	4.2	4.4	4.6	4.7	4.9	5.0	5.1
	5	6	9	8	5	7	5	9	2	4	4
	0.0	4.0	4.6	5.0	5.3	5.5	5.7	5.8	6.0	6.1	6.2
20	0.0	2.9	3.5	3.9	4.2	4.4	4.6	4.7	4.9	5.0	5.1
	5	5	8	6	3	5	2	7	0	1	1
	0.0	4.0	4.6	5.0	5.2	5.5	5.6	5.8	5.9	6.0	6.1
24	0.0	2.9	3.5	3.9	4.1	4.3	4.5	4.6	4.8	4.9	5.0
	5	2	3	0	7	7	4	8	1	2	1
	0.0	3.9	4.5	4.9	5.1	5.3	5.5	5.6	5.8	5.9	6.0
30	0.0	2.8	3.4	3.8	4.1	4.3	4.4	4.6	4.7	4.8	4.9
	5	9	9	4	0	0	6	0	2	3	2
	0.0	3.8	4.4	4.8	5.0	5.2	5.4	5.5	5.6	5.7	5.8
40	0.0	2.8	3.4	3.7	4.0	4.2	4.3	4.5	4.6	4.7	4.8
	5	6	4	9	4	3	9	2	3	4	2
	0.0	3.8	4.3	4.7	4.9	5.1	5.2	5.3	5.5	5.6	5.6
60	0.0	2.8	3.4	3.7	3.9	4.1	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7
	5	3	0	4	8	6	1	4	5	5	3
	0.0	3.7	4.2	4.6	4.8	4.9	5.1	5.2	5.3	5.4	5.5
120	0.0	2.8	3.3	3.6	3.9	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5	4.6
	5	0	6	9	2	0	4	6	8	6	4
	0.0	3.7	4.1	4.5	4.7	4.8	5.0	5.1	5.2	5.3	5.3
-	0.0	2.7	3.3	3.6	3.8	4.0	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5
	5	7	1	3	6	3	7	9	9	7	5
	0.0	3.6	4.1	4.4	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2
	0.0	2.7	3.3	3.6	3.8	4.0	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5
	5	7	1	3	6	3	7	9	9	7	5
	0.0	3.6	4.1	4.4	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2
	0.0	2.7	3.3	3.6	3.8	4.0	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5
	5	7	1	3	6	3	7	9	9	7	5
	0.0	3.6	4.1	4.4	4.6	4.7	4.8	4.9	5.0	5.1	5.2

v ₂ ↓	α ↓	v ₁								
		12	13	14	15	16	17	18	19	20
17	0.05	5.31	5.39	5.47	5.55	5.61	5.68	5.74	5.79	5.84
	0.01	6.48	6.57	6.66	6.73	6.80	6.87	6.94	7.00	7.05
18	0.05	5.27	5.35	5.43	5.50	5.57	5.63	5.69	5.74	5.79
	0.01	6.41	6.50	6.58	6.65	6.72	6.79	6.85	6.91	6.96
19	0.05	5.23	5.32	5.39	5.46	5.53	5.59	5.65	5.70	5.75
	0.01	6.34	6.43	6.51	6.58	6.65	6.72	6.78	6.84	6.89
20	0.05	5.20	5.28	5.36	5.43	5.49	5.55	5.61	5.66	5.71
	0.01	6.29	6.37	6.45	6.52	6.59	6.65	6.71	6.76	6.82
24	0.05	5.10	5.18	5.25	5.32	5.38	5.44	5.50	5.54	5.59
	0.01	6.11	6.19	6.26	6.33	6.39	6.45	6.51	6.56	6.61
30	0.05	5.00	5.08	5.15	5.21	5.27	5.33	5.38	5.43	5.48
	0.01	5.93	6.01	6.08	6.14	6.20	6.26	6.31	6.36	6.41
40	0.05	4.91	4.98	5.05	5.11	5.16	5.22	5.27	5.31	5.36
	0.01	5.77	5.84	5.90	5.96	6.02	6.07	6.12	6.17	6.21
60	0.05	4.81	4.88	4.94	5.00	5.06	5.11	5.16	5.20	5.24
	0.01	5.60	5.67	5.73	5.79	5.84	5.89	5.93	5.98	6.02
120	0.05	4.72	4.78	4.84	4.90	4.95	5.00	5.05	5.09	5.13
	0.01	5.44	5.51	5.56	5.61	5.66	5.71	5.75	5.79	5.83
8	0.05	4.62	4.68	4.74	4.80	4.85	4.89	4.93	4.97	5.01
	0.01	5.29	5.35	5.40	5.45	5.49	5.54	5.57	5.61	5.65

ANEXO K. DISTRIBUCIÓN t DE STUDENT

Puntos de porcentaie de la distribución t



Eiemplo

Para = 10 grados de libertad:

$$P\{t > 1.812\} = 0.05$$

$$P\{t < -1.812\} = 0.05$$

D r	Puntos de porcentaie de la distribución t								
	0,25	0,2	0,15	0,1	0,05	0,025	0,01	0,005	0,0005
1	1,000	1,376	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,656	636,578
2	0,816	1,061	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,600
3	0,765	0,978	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,741	0,941	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,727	0,920	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,718	0,906	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,711	0,896	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,706	0,889	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,703	0,883	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,700	0,879	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,697	0,876	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,695	0,873	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,694	0,870	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,692	0,868	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,691	0,866	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,690	0,865	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,689	0,863	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,688	0,862	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,688	0,861	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,687	0,860	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,686	0,859	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,686	0,858	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,685	0,858	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,768
24	0,685	0,857	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,684	0,856	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,684	0,856	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,684	0,855	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,689
28	0,683	0,855	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,683	0,854	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,660
30	0,683	0,854	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
40	0,681	0,851	1,050	1,303	1,684	2,021	2,423	2,704	3,551
60	0,679	0,848	1,045	1,296	1,671	2,000	2,390	2,660	3,460
120	0,677	0,845	1,041	1,289	1,658	1,980	2,358	2,617	3,373
	0,674	0,842	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,290

ANEXO L. PANEL FOTOGRÁFICO DEL EXTRACTO ACUOSO LIOFILIZADO DE MASHUA ((*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón): NEGRA Y AMARILLA CHAUCHA

FOTOS N° 01: Planta de *Tropaeolum tuberosum* y la muestra alimentaria el tubérculo de dos variedades: mashua negra y amarilla chaucha.



FOTOS N° 02: Cortado de la materia prima y secado del tubérculo a una temperatura de 40°C durante 7 días.



FOTOS N° 03: Obtención del extracto acuoso, sometidas a cocción a una temperatura de 60 a 70°C, empleando el agua como liquido extractivo.



FOTOS N° 04: Filtración del extracto acuoso con algodón y refrigeración por 3 días, para la sedimentación de las partículas insolubles y extrañas.



FOTOS N° 05: liofilización de extracto acuoso donde consistió en deshidratar el extracto acuoso congelado a una temperatura y presión vapor de -82°C y 1.33×10^{-3} m BAR durante 50 horas.



FOTOS N° 06: Envasado, rotulado del extracto acuoso liofilizado donde se pesó en una balanza analítica para luego con respectivo rotulado fue almacenado.



PANEL FOTOGRÁFICO DE HIPERGLUCEMIA INDUCIDA Y TRATAMIENTO DE DOS VARIEDADES DE MASHUA: NEGRA Y AMARILLA CHAUCHA

FOTOS N° 07: Materiales de laboratorio para la muestra se sangre y reactivos químicos para la inducción de hiperglicemia



FOTOS N° 08: Selección de las ratas cepa wistar, marcaje de los animales de experimentación y pesado de los animales de experimentación.



FOTOS N° 09: Al seleccionar los animales de experimentación, se da paso a la recolección de datos de sangre, es bueno presionar proximalmente al sitio de punción con lanceta. Si la sangre no sale, se puede “ordeñar” la cola.



FOTOS N° 10: Se extrajo la sangre en las tiras reactivas para luego obtener los resultados en el glucómetro.



FOTOS N° 11: Preparación de solución del aloxano para la administración de la inducción hiperglucemiante, con solución de aloxano al 5% a una dosis de 100 mg/kg de peso.



FOTOS N° 12: Administración de aloxano por vía intraperitoneal y el proceso de la muestra para su respectivo análisis después de la inducción a diabetes mellitus tipo 2.

