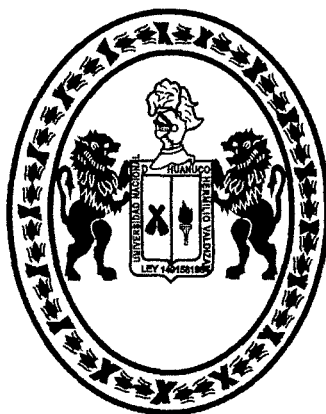


UNIVERSIDAD NACIONAL “HERMILIO VALDIZÁN”

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA



TESIS

**SEMILLA DE CHÍA (Salvia hispanica) EN EL CONTROL
DE DIABETES MELLITUS INDUCIDA POR ALOXONO EN
RATAS ALBINAS.**

TESISTA

CATAY CARRILLO, HELEN JUDITH

**PARA OBTENER EL TITULO PROFESIONAL DE:
MÉDICO VETERINARIO**

**HUÁNUCO – PERÚ
2015**

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **HELEN JUDITH CATAY CARRILLO**, declaro que soy el autor del presente trabajo, que ha sido realizado en su totalidad y no lo he publicado para obtener otros grados o títulos.

DEDICATORIA

A Dios, por regalarme el milagro de la vida, ser el autor de mi salvación, colmarme de bendiciones y por ser mi guía en toda circunstancia.

A mis padres Alfredo y Gladys por el incesante apoyo que me brindan en todo momento.

A mi asesor Mg. M.V. Marcé, Pérez Saavedra por ser un gran amigo durante mis años de estudios en la universidad.

A mis queridos amigos, Marco, Kelma, Fiorela, Erika, Olinda, Makyimer, Néstor, Ana Sofía y Jesús; quienes fueron mi soporte durante todos estos años de estudio.

AGRADECIMIENTOS

Mi principal agradecimiento a Dios, por estar conmigo en todo momento, por escuchar mis oraciones y permitirme comenzar y culminar la carrera profesional que anhelé toda mi vida.

A mi asesor Mg .M.V. Marcé Ulises Pérez Saavedra, quien merece mi cariño y gratitud, por sus aportes en mi vida personal y profesional, su amistad y apoyo incondicional.

Al Mg. M.V. José Goicochea Vargas, por la asesoría en trayecto de toda la investigación, por su tiempo, sus aportes continuos para el trabajo y disposición constante.

Al M. Sc. Julio Díaz Zegarra y a la Mg. Ernestina Ariza Ávila por su tiempo y apoyo brindado en toda investigación.

Al Sr. Alberto Cabezas quien me guio en las primeras estancias de la investigación, por sus valiosos aportes, y su buena disposición.

Al Sr. Walter Castillo Rivera por su apoyo a la investigación.

Al Bach. Marco F. Durand Torres, por ser mi amigo y brindarme su apoyo en todo el trayecto de la investigación.

CONTENIDO

	Pág.
ÍNDICE DE CONTENIDO	i
ÍNDICE DE TABLAS.	iii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.	iv
ÍNDICE DE FIGURAS.	v
ÍNDICE DE ANEXOS	vi
RESUMEN.	vii
SUMMARY.	viii

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. MARCO TEÓRICO.	3
2.1. Diabetes mellitus.	3
2.1.1. Introducción.	3
2.1.2. Fisiopatología.	5
2.1.3. Tipos de diabetes mellitus.	6
2.1.4. Diagnóstico.	8
2.1.5. Diagnóstico para diabetes mellitus en ratas.	9
2.1.6. Tratamiento.	9
2.2. Diabetes experimental.	11
2.2.1. Aloxano.	12
2.3. CHÍA (<i>Salvia hispanica</i>).	16
2.3.1. Generalidades.	16
2.3.2. Propiedades nutricionales de Chía.	17
2.3.3. Ácidos grasos.	18
2.3.4. Proteínas y aminoácidos contenidos en la semilla de Chía.	21
2.3.5. Vitaminas y minerales contenidos en la semilla de Chía.	22
2.4. Hipótesis.	24
III. MARCO METODOLÓGICO.	25
3.1. Materiales.	25
3.1.1. Material biológico.	25
3.1.2. Equipos y Reactivos.	25
3.2. Metodología.	26

3.2.1. Selección de unidades experimentales.	26
3.2.2. Preparación de Semillas de Chía.	26
3.2.3. Determinación de la concentración de glucosa.	27
3.2.4. Inducción de diabetes mellitus a las ratas albinas.	28
3.2.5. Estudio histopatológico de las lesiones del tejido pancreático.	28
3.2.6. Análisis estadístico.	29
3.2.7. Diseño experimental para el tratamiento de diabetes mellitus.	30
IV. RESULTADOS.	31
4.1. Inducción de la diabetes experimental mediante aloxano.	31
4.2. Efecto de la semilla de Chía sobre los niveles de glicemia en ratas albinas aloxanizadas.	32
4.3. Análisis histopatológico del páncreas de ratas aloxanizadas y sometidas al tratamiento con Chía.	35
V. DISCUSIÓN	38
CONCLUSIONES.	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	42
ANEXOS.	48

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Determinación de la dosis de aloxano a través de prueba piloto en ratas albinas.	28
Tabla 2. Niveles de glicemia basal y a las 48 h. post aloxanización en ratas albinas.	31
Tabla 3. Promedio \pm DE, de los niveles de glicemia del G ₁ (control) y G ₂ (experimental) durante los días de tratamiento en ratas aloxanizadas.	33

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Pág.
Gráfico 01. Gráfico de comparación de medias estimadas de nivel de glucosa en sangre del G ₁ y G ₂ . Donde se observa, efecto tratamiento, tiempo e interacción.	34

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Microfotografía correspondiente a una rata albina perteneciente G1, suplementada con Chía. Al día 10 del tratamiento.	35
Figura 2. Microfotografía del parénquima pancreático al día 10 del experimento, correspondiente a una rata albina del G1.	36
Figura 3. Microfotografía del parénquima pancreático al día 10 del experimento, correspondiente a una rata albina del G ₁	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Datos generales correspondientes a las 15 ratas albinas.	49
Anexo 2. Metodología.	50
Anexo 3. Pruebas estadísticas.	57
Anexo 4. Resultados histopatológicos del islote de Langerhans en una rata albina sana.	67

RESUMEN

SEMILLA DE CHIA (*Salvia hispánica*) EN EL CONTROL DE DIABETES MELLITUS INDUCIDA POR ALOXANO EN RATAS ALBINAS

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNHEVAL con el objetivo de evaluar el efecto hipoglicemiante de la semilla de Chía (*Salvia hispánica*). Se utilizaron 15 ratas machos, de la cepa Holtzman, de 5 meses, con peso promedio de 342g \pm 33, las cuales fueron distribuidas de manera aleatoria en dos grupos (G₁: experimental (n=10), y G₂: control (n=5)). La diabetes experimental fue inducida mediante la aplicación SC de aloxano, diluido en 0.5 mL de agua destilada a dosis de 90 mg/kg a todos los animales, produciendo una destrucción aparente de las estructuras citológicas de las células B en los islotes y una franca necrosis. Los niveles de glicemia incrementaron de manera abrupta y significativa a los 48 horas postaloxanización de 66.6 mg/dL \pm 14,51 a 349,6 mg/dl, para luego descender de manera progresiva en el G₁ tratados con semilla tritura de Chía la dosis de 0,5 g/animal a 169 mg/dL. al décimo día del tratamiento, encontrándose efecto tratamiento frente al grupo control (P=0,01). Las lesiones histopatológicas revelaron una leve reparación celular al 10 día en el grupo tratado. Por los resultados obtenidos, se considera que las semillas de Chía empleadas en la dieta es una alternativa coadyuvante que debemos tomar en cuenta en el tratamiento y control de la diabetes mellitus en animales y en humanos.

Palabras claves: Rata, aloxano, diabetes, Semillas de Chía (*Salvia hispánica*),

SUMMARY

CHIA SEED (*Salvia hispanica*) IN CONTROL OF DIABETES MELLITUS INDUCED BY ALLOXAN IN ALBINO RATS.

This study was realized in the Pathology laboratory of the Veterinary Medicine Faculty of Hermilio Valdizan University with the objective of evaluating the hypoglycemic effect of Chia seed (*Salvia hispanica*). Being used 15 male rats, 5 months, Holtzman strain, average weight of 342 ± 33 g, which were randomly divided into two groups (G₁: experimental (n=10) y G₂: control (n=5)). Experimental diabetes was induced by subcutaneous injection of alloxan diluted in 0.5 mL of distilled water at 90 mg / kg all animals; producing an apparently destruction of cell B in the Langerhans' islets and necrosis. The levels of glycemia were increasing after 48 hours of the aloxanization from $\bar{x} = 66.6$ mg/dL until 349,6 mg/dL, then it descended in progressive way in the G₁ (they were treated by 0,5 g of Chia seeds) until 169,4 mg/dL. in the tenth day. ($p=0,01$)($p\leq 0,005$). The histopathology injuries revealed a little cell reparation at the end of the experiment. For the results obtained, it is considered that Chia seeds included in the daily diet is a coadjuvant alternative to be counted in the treatment and control of diabetes mellitus in animals and humans.

Keywords: Rats, alloxan, diabetes mellitus, Chia seeds (*Salvia hispanica*).

I. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus es una enfermedad crónica considerada actualmente como un problema de Salud Pública (Arbañil y col., 1995), se define como un trastorno metabólico, caracterizado por un estado de hiperglucemia crónica, debido a problemas en la secreción de insulina. Es uno de los trastornos clínicos más importantes en medicina humana, y afecta a un alto porcentaje de la población mundial (2% -10%). En la mayoría de los países en vías de desarrollo la Diabetes Mellitus ocupa el tercer lugar como causa de deceso, por debajo de las enfermedades cardiovasculares y oncológicas (Head y Fuller, 1990).

En el Perú esta enfermedad produce un impacto socioeconómico importante, cuya valoración aún no ha sido adecuadamente realizada, pero se traduce en una gran demanda de los servicios ambulatorios, hospitalización prolongada, ausentismo laboral, discapacidad y mortalidad producto de las complicaciones agudas y crónicas (Villena, 1992).

Se menciona en la actualidad, que la diabetes mellitus afecta a más de un millón de peruanos y menos de la mitad han sido diagnosticados. El MINSA

indicó que unas 3,000 personas mueren al año por este mal y que la mitad de ellos no saben que sufren del problema. (EL Comercio, 2014).

Por otro lado, las mascotas no son ajenas a esta patología, siendo la proporción de la diabetes mellitus: 1 por cada 200 perros y en 1 por cada 800 gatos; con mayor frecuencia en perros entre 7 y 9 años, donde las hembras enferman con el doble de frecuencia que los machos. (Ettinger y Feldman, 2007).

Por tal motivo, los pacientes deben llevar un control permanente, con terapia insulínica, cambios en la dieta y mejora de la actividad física; lo que genera gastos económicos. Por tanto, la población recurre a la utilización de plantas medicinales o tratamientos alternativos.

Es por eso que la investigación en plantas, como la utilización de los recursos del medio ambiente bajo condiciones de racionalidad, mínimo costo y alto grado de satisfacción social, se han convertido actualmente en una premisa fundamental que se considera como lineamiento al establecer un tipo de terapéutica alternativa. (Justil, 2013).

Por tal motivo, vista la disponibilidad, la accesibilidad de las semillas de Chía y los estudios realizados en los que se demuestran los efectos positivos en personas con cardiopatías, problemas de colesterol, y triglicéridos, se plantea la presente investigación con el objetivo de probar el efecto hipoglicemiante de la semilla de chía (*Salvia hispanica*) inducida por aloxano en ratas albinas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. DIABETES MELLITUS

2.1.1. Introducción

La diabetes es una enfermedad crónica que requiere de asistencia médica continua y una educación del paciente y su familia para que comprenda la enfermedad, las medidas de prevención y el tratamiento con el fin de responsabilizarse para alcanzar las metas de tratamiento y prevenir o retardar el desarrollo de complicaciones agudas y crónicas. La atención y cuidado del diabético es compleja y requiere del abordaje de variados aspectos sumados al control de la glucemia. Cada paciente debe ser evaluado en particular y el clínico definirá si requiere de evaluación y tratamiento por parte de otros especialistas. Estas recomendaciones son acciones terapéuticas y diagnósticas que se sabe y se cree ejercen una influencia favorable en la evolución de los pacientes. (Pinilla, 2013)

La hiperglicemia crónica está asociada con daño, disfunción y falla de varios órganos a largo plazo; afecta especialmente los ojos, riñones,

nervios, corazón y vasos sanguíneos. El paciente diabético presenta un riesgo 40 veces mayor de amputación, 25 veces mayor de insuficiencia renal terminal, 20 veces mayor de ceguera, 2 a 5 veces mayor de accidentes cerebrovasculares y entre 2 a 3 veces mayor de infarto agudo de miocardio (Mann, 2002). Asimismo, tiene mayor predisposición de tener hipertensión, dislipidemia y obesidad (Klein y Klein, 1998).

En el caso de nuestras mascotas, igual que en el ser humano, la deficiencia de insulina tiene como consecuencia una alteración del metabolismo de los carbohidratos, de las grasas y de las proteínas. El metabolismo glucocídico anormal se traduce en una hiperglucemia y una glucosuria y es el responsable de la poliuria-polidipsia y de la formación de las cataratas que se observan en los perros diabéticos (Hoenig, 2002). La hiperlipidemia, la producción de cetonas y las alteraciones hepáticas observadas en estos perros son consecuencia de las alteraciones en el metabolismo de las grasas. La reducción de la utilización de la glucosa, los aminoácidos y los ácidos grasos tiene numerosas y variadas consecuencias: letargia, pérdida de peso, menor estimulación del centro de la saciedad, mala calidad del pelaje y disminución de las defensas, características todas ellas, típicas de los perros diabéticos que no están en tratamiento.

2.1.2. Fisiopatología

Enfermedad crónica causada por la destrucción específica de las células B en los islotes de Langerhans del páncreas. Estas células tienen como función primordial la secreción de insulina en respuesta al incremento en la glucemia. (Achenbach y col., 2005). Existen distintas causas por las cuales puede ocurrir la destrucción de los islotes: virus, agentes químicos, autoinmunidad cruzada o, incluso, una predisposición génica.

El centro de la alimentación, que desencadena conducta de consumo de alimentos, funciona de manera crónica, pero puede ser inhibido de manera transitoria por el centro de la saciedad luego de ingerir alimentos. La cantidad de glucosa que ingresa a las células del centro de la saciedad afecta directamente la sensación de hambre; entre más glucosa entra a esas células, menor será la sensación de hambre y viceversa. (Ganong, 1991).

En el caso de caninos, conforme aumentan las cifras plasmáticas de glucosa se excede la capacidad de las células de los túbulos renales para absorber glucosa a partir del ultrafiltrado glomerular, lo que produce glucosuria. Esto ocurre cuando la concentración plasmática de glucosa excede 180 a 220 mg/dl en perros. El umbral medio informado para gatos normales es de 290 mg/dl. Los gatos diabéticos, de manera subjetiva, parecen tener umbrales renales para la glucosa de 200 a 320

mg/dl. La glucosuria crea una diuresis osmótica y produce poliuria. La polidipsia compensadora evita la deshidratación. La menor utilización hística periférica de la glucosa ingerida origina pérdida de peso a medida que el organismo intenta compensar la “inanición” percibida. La capacidad de la glucosa para entrar a las células en el centro de la saciedad está mediada por insulina. En diabéticos con falta relativa o absoluta de insulina, la glucosa no entra a las células del centro de la saciedad, lo que origina la falta de inhibición del centro de alimentación. De este modo, esos individuos presentan polifagia a pesar de la hiperglucemia. Por tanto, los cuatro signos clásicos de la diabetes mellitus son poliuria, polidipsia, polifagia y pérdida de peso. (Ettinger y Feldman, 2007).

2.1.3. Tipos de diabetes mellitus

La clasificación clásica de la diabetes mellitus (DM) incluye dos grandes tipos: diabetes mellitus insulino dependiente (DMID) y diabetes mellitus no insulino dependiente (DMNID). Sin embargo, en la actualidad se han acumulado nuevos conocimientos en los cuales se han identificado defectos a nivel de las células, tejidos o funciones que están relacionados con la expresión de la enfermedad. Es así que el comité de expertos de la Asociación Americana de Diabetes (ADA) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) han propuesto una nueva

clasificación que contempla 4 grupos (López, 1998): La diabetes de tipo 1 (anteriormente denominada diabetes insulino dependiente o juvenil) se caracteriza por la ausencia de síntesis de insulina. La diabetes de tipo 2 (llamada anteriormente diabetes no insulino dependiente o del adulto) tiene su origen en la incapacidad del cuerpo para utilizar eficazmente la insulina, lo que a menudo es consecuencia del exceso de peso o la inactividad física.

La diabetes gestacional, corresponde a una hiperglicemia que se detecta por primera vez durante el embarazo. Otros Tipos Específicos de Diabetes. Comprende, en un listado ordenado de la A a la H, los tipos de diabetes de causa conocida y cuya lista se podrá incrementar a medida que progrese la investigación. Por el momento constituyen una minoría. Se ubican en este grupo los defectos genéticos en la función de la célula beta con falla secretoria que causan los distintos tipos de MODY; figuran en este listado las endocrinopatías que provocan hiperglicemia, la diabetes inducida por drogas o agentes químicos, infecciones virales que provocan destrucción específica de la célula beta y otras formas infrecuentes de diabetes mediada inmunológicamente, como un síndrome neurológico autoinmune (*stiff-man*) y la resistencia insulínica Tipo B, con anticuerpos antióreceptor de insulina. Finalmente se incluye otros síndromes genéticos

ocasionalmente asociados a diabetes, como el síndrome de Down, Klinefelter, Turner y otros. (López, 1998).

2.1.4. Diagnóstico

La forma más sencilla de diagnosticar la Diabetes es midiendo la cantidad de glucosa en la sangre (Glucemia), siendo lo ideal hacerlo en la sangre venosa y con el paciente en ayunas, lo que se denomina Glucemia Basal. Existe también otra prueba llamada Prueba de Tolerancia Oral a la Glucosa (PTOG), que consiste básicamente en extraer sangre de una persona en ayunas, y luego de ello deberá comer normalmente. En menos de 2 horas debe regresar al laboratorio para extraerle nuevamente sangre, de esta forma nos permite saber si la persona tiene alterados los mecanismos de metabolización de la glucosa. Esta prueba hoy en día se usa casi en exclusiva en las mujeres embarazadas, o también se acompaña a otras pruebas para conocer fidedignamente si la persona tiene o no Diabetes. Actualmente existen medidores portátiles de glucosa, que en menos de 30 segundos miden la cantidad de glucosa en la sangre, pero no es recomendable realizarse sólo esta prueba para diagnosticar Diabetes, son necesarios los exámenes de laboratorio ya indicados. (Dirección Nacional de Relaciones de Trabajo, 2007).

2.1.5. Diagnóstico para diabetes mellitus en ratas

En estudios previos, se ha reportado que cifras iguales o superiores a 243 mg/dl de glucosa en ayuno sugieren la presencia de DM en ratones (Han y col., 2008). Sin embargo, no existen cifras de corte que determinen la presencia de diabetes en la rata, y por lo tanto, al carecer de criterios de diagnóstico certeros se establecieron parámetros que sirvan de control para determinar la normalidad y la existencia de DM en ratas *Wistar*, realizando mediciones de glucemia basal en 22 ratas en distinto tipo de ayuno.

Con los resultados obtenidos en este estudio por medio de la PTGO, se lograron establecer las siguientes cifras, respetando en todos los casos el ayuno nocturno de 12 horas:

- ✓ Niveles de Glucosa en ratas aparentemente sanas: 100 – 115 mg/dL
- ✓ Glucemia basal alterada: ≥ 126 pero < 140 mg/dL
- ✓ Intolerancia a la glucosa: ≥ 140 pero > 200 mg/dL
- ✓ Diagnóstico Diabetes Mellitus : ≥ 200 mg/dL

2.1.6. Tratamiento

Aunque la medicación es esencial para el tratamiento de las personas con Diabetes Mellitus Insulino Dependiente (DMID) y para muchas con Diabetes Mellitus No Insulino Dependiente (DMNID), el

estilo de vida juega un papel muy importante en el tratamiento de estos pacientes.

El manejo y progresión de la diabetes están ligados estrictamente a la conducta. Los pacientes con diabetes deben de estar preparadas para afrontar la enfermedad de tres maneras: Plan apropiado de control de dieta y peso, actividad física y medicación (si es necesaria).

Varios especialistas estarán involucrados en el cuidado del diabético. La familia, pediatras médicos generales, internistas, endocrinólogos y diabetólogos, también supervisarán el cuidado médico. Las consultas con especialistas como el oftalmólogo también serán necesarias si aparecen complicaciones. (GeoSalud, 2014).

2.2. DIABETES EXPERIMENTAL

La inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. Houssay y Penhos (1960) manifiestan que en 1889, Von Mering y Minkowski produjeron diabetes experimental en perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas. Desde entonces, la pancreotomía total se usa en muchas especies, con el propósito de crear modelos experimentales.

Las hormonas epinefrina, glucagón, somatoropina y los glucocorticoides tienen efecto antagonista sobre la insulina. Cuando están presentes en exceso, como una respuesta al estrés o como consecuencia patológica de una neoplasia u otros desajustes metabólicos, la tolerancia a la glucosa disminuye la hiperglucemia. (Houssay, 1944). La epinefrina y el glucagón ejercen el mismo efecto en animales y seres humanos cuando se administran en exceso. También la administración de hidrocortisona y hormona adenocorticotrópica inducen hiperglucemia e hiperplasia de las células β del páncreas. La hormona corticotrópica (ACTH) y prolactina poseen un efecto diabetogénico moderado, probablemente debido a un trastorno en la utilización periférica de la glucosa. Los roedores y lagomorfos desarrollan glucosuria transitoria cuando reciben dosis excesivas de hormona del crecimiento. (Reid, 1981).

En animales y seres humanos, las lesiones hipotalámicas pueden causar obesidad. Los modelos mejor estudiados para este síndrome son

la rata y el ratón, con lesiones en el núcleo ventromedial del hipotálamo. Tales lesiones pueden ser electrolíticas o químicas. Las ratas adultas sometidas a estos procedimientos presentan obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina. (Bakker y Waring, 1976).

2.2.1. Alozano:

La acción diabetógena del alozano fue descubierta por los investigadores de Glasgow: Dunn y col. en 1943. Esta sustancia es un producto de la oxidación del ácido úrico; su fórmula química es $CNHO-COCOCNHO$, desdoblándose, a su vez, por hidrólisis, en úrea y ácido mesoxálico. Su presencia no ha sido revelada en los procesos fisiológicos del metabolismo intermedio de las purinas.

Al realizar el estudio histológico del páncreas de los animales inyectados con alozano y muertos por hiperglucemia, los investigadores comprobaron la necrosis de los islotes con desaparición de las células B. La acción diabetógena del alozano fue verificada por múltiples investigadores en distintos animales: ratas, gatos, palomas y monos. (Rocca y Plá, 1963)

El alozano posee una similitud molecular con la estructura de la glucosa (Elsner y col., 2000) y es recaptado por la célula β transportador de glucosa GLUT- 2 de baja afinidad en la membrana plasmática, puede generar "especies reactivas de oxígeno" (ROS) en

una reacción cíclica redox, produciendo el ácido dialúrico (AH₂). Por lo tanto, se asume la acción tóxica del aloxano producida en las células B es iniciada por la formación intracelular de radicales libres en esta reacción redox. La auto – oxidación de AH₂ genera radicales superóxido (O₂⁻) y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y finalmente radical hidroxilo (OH). La auto-oxidación de Ah₂ implica la formación intermedia del radical aloxano (AH). La reducción de aloxano a AH₂, en la célula requiere la presencia de tioles como el tripéptido de glutación (GSH) y otros tioles intracelulares presentes a bajas concentraciones, tales como, el monotiol de cisteína y ditiolos . Por lo tanto, la habilidad de las células de captar aloxano vía el transportador GLUT- 2 disminuye el potencial de defensa antioxidativo contra el estrés oxidativo y la formación del radical hidroxilo explica la acción tóxica selectiva a las células β y la acción diabética del aloxano (Ojewole, 2003).

Los fenómenos consecutivos a la inyección intravenosa del aloxano pasan por tres fases y se traducen por oscilaciones en el perfil glucémico. En las primeras cuatro horas inmediatas a la inyección, se comprueba un aumento de la glucemia que es seguido en la segunda fase por un descenso progresivo y prolongado de la misma. En la tercera fase se manifiestan los signos de la diabetes: hiperglucemia, glucosuria, cetosis, los cuales se completan, en general, después de las 48 horas de la inyección de aloxano. (Rocca y Plá, 1963)

La hiperglucemia inicial fue atribuida a la estimulación del sistema simpático adrenal, con liberación de glucosa por el hígado. Esos autores comprobaron que los animales adrenalectomizados no hacían la fase inicial, produciéndose igualmente en ellos la diabetes. (Gomori y Goldner, 1944).

Houssay y Penhos (1960) atribuyeron tanto la hiperglucemia inicial, como la hipoglicemia consecutiva, a la acción tóxica del aloxano sobre el hígado. La inyección de insulina o de fluoridzina que impide la hiperglucemia inicial, no evita la aparición de las lesiones degenerativas de las células beta. El aloxano afecta directa y electivamente dichas células y, sólo cuando se emplean dosis excesivas o repetidas, produce lesiones en otros órganos, especialmente en el hígado y en el riñón. La característica más notable de este tóxico es que destruye únicamente las células beta, respetando las células alfa y delta. La necrosis de esas células se inicia inmediatamente después de cuatro horas de la inyección y se completa en las primeras cuarenta y ocho horas. (Rocca y Plá, 1963).

En animales refractarios al aloxano, la diabetes es transitoria y las lesiones degenerativas mejoran lentamente. Una vez destruidas las células beta, la inyección de nuevas dosis de aloxano no provoca hipoglucemia, lo que indica que esta sustancia no tiene acción sobre el nivel glucémico directamente. (Rocca y Plá, 1963).

Los trabajos subsiguientes y la observación de los animales con ese tipo de diabetes, han comprobado complicaciones similares a las que se producen en las diabetes humanas. Schenider y Lewis (1945) comprobaron hemorragias retinianas en los conejos con diabetes aloxánica, las cuales presentaron de uno a tres meses después de la inyección. Esas lesiones eran más precoces, apareciendo en la primera semana en animales cuyas albúminas plasmáticas habían sido reducidas experimentalmente. Estos hechos indicarían que la falta de insulina endocrina basta para producir lesiones degenerativas, como las indicadas, sin que intervengan otros factores vasculares.

Rocca y Plá (1963) sostienen que en 1952, Lazarow comprobó un estado diabético latente que se fue agravando progresivamente entre los seis meses y el año, apareciendo en un tercio de ellas una diabetes completa, en ratas a las cuales se les inyectó dosis subdiabetógenas de aloxano. Esta mejoró en los animales que sobrevivieron más de veinte meses, desapareciendo los signos clínicos y humorales sin que se encontraran signos evidentes de regeneración celular en los islotes.

Esa evolución sugiere la participación de influencias extrapancreáticas, que acentúan el trastorno metabólico, al igual que en la diabetes del adulto.

2.3. CHÍA (*Salvia hispanica*)

2.3.1. Generalidades

Es una planta herbácea anual; tiene una altura entre un 1,0 y 1,5 metros, y sus tallos son ramificados, de sección cuadrangular con pubescencias cortas y blancas. Las hojas opuestas con bordes aserrados miden de 80 a 100 cm de longitud, y 40 a 60 mm de ancho. (Martínez, 2001). Las semillas son ovales, suaves, brillantes y miden entre 1,5 y 2,0 mm de longitud. Según la variedad, su color puede ser blanco o negro grisáceo con manchas irregulares que tienden a un color rojo oscuro (Ayerza y Coates, 2004). Las flores son hermafroditas, entre purpúreas y blancas, y brotan en ramilletes terminales. La planta florece entre julio y agosto en el hemisferio norte; al cabo del verano, las flores dan lugar a un fruto en forma de aqueno indehiscente cuya semilla es rica en mucílago, fécula y aceite; tiene unos 2 mm de largo por 1,5 de ancho, y es ovalada y lustrosa, de color pardo-grisáceo a rojizo. (CECOOPSEMEN , 2012).

La semilla de chía empezó a ser usada para la alimentación humana en la época precolombina, alrededor del año 3500 a.C. y toma importancia por ser uno de los cultivos básicos en el centro de México y América central entre los años 1500 y 900 a.C. (Rovati y col., 2013). Actualmente, en el año 2014, una de las principales regiones productoras de chía o salvia hispánica es la provincia argentina de

Tucumán. A partir de 2011 Bolivia ha iniciado un programa de producción de chía con resultados altamente satisfactorios, lográndose una calidad que ya comienza a distinguirse en el mercado mundial comercializándose con el 99,5 % de pureza. (Jaramillo, 2003).

2.3.2. Propiedades nutricionales de Chía.

En las últimas décadas, el interés de las investigaciones se han centrado principalmente en el alto contenido de los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA's, por sus siglas en inglés) de cadena larga, entre los cuales se destaca los ácidos grasos: el Omega-3, que se encuentra en pescados azules y se caracterizan por tener los ácidos grasos de cadenas más largas como EPA y DHA, mientras que en las fuentes vegetales se encuentra como ALA, y el Omega-6, ambos ácidos grasos son de gran importancia por ser considerados esenciales para el ser humano, ya que el organismo humano no posee las enzimas necesarias para sintetizarlos y se hace necesario obtenerlos a partir de la dieta, además de tener una alta demanda en la salud, por intervenir en la prevención de enfermedades cardiovasculares, siendo anti-trombótico, anti-inflamatorio, anti-rítmico, favoreciendo la estabilización plaquetaria, entre otros (Galli y Marangoni, 2006).

2.3.3. Ácidos grasos.

Los ácidos grasos omega-3 son aquellos que se derivan del ácido α -linolénico, actúan en el cuerpo humano como un sustrato para la transformación del ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), mediante la acción de las enzimas de saturación y elongación (Alabdulkarim, 2012). El ácido α -linolénico a pesar de ser el principal precursor del DHA y EPA desarrolla una mínima conversión, de allí la importancia del consumo de alimentos que se conviertan en una fuente directa de EPA y DHA. Las fuentes de alimentos más ricas en Omega-3 son los aceites de pescado, en especial los de aguas frías, en estos animales se pueden encontrar en forma de EPA y DHA debido al consumo de los pescados del fitoplancton (Travieso, 2010). Mientras que una de las mejores fuentes vegetales reportadas es el aceite de chía (60 %), seguido por la linaza (57%) por la colza, la soja, el germen de trigo y las nueces (entre 7 y 13 %).

Como se mencionó anteriormente el ácido alfa linolénico es precursor de EPA y DHA y deben ser suministrados por la dieta. Estudios han revelado que el aumento en la ingesta de ácido alfa linolénico por un período de semanas a meses muestra un aumento en la proporción de EPA en los lípidos del plasma, eritrocitos, leucocitos, plaquetas, pero no se observa un incremento de DHA. (Burdge, 2002).

Algunos estudios de seguimiento indican que realmente existe una conversión del ácido alfa linolénico en EPA, pero que se ve limitada en los seres humanos masculinos y con una transformación posterior en DHA relativamente bajo. La conversión fraccional de ácido alfa linolénico a cadena más larga de PUFA Omega-3 es mayor en mujeres, posiblemente debido a un efecto regulador de los estrógenos. (Gorjão, 2009).

Por otra parte, la EPA y DHA pueden tener funciones potenciales individuales en la función de organismo humano, puesto que los suplementos enriquecidos con EPA mejoraron significativamente la angustia psicológica y los síntomas depresivos durante las transiciones de la menopausia y se han indicado como un agente anti-inflamatorio anti-caquexia efectiva. (Lucas, 2009). Por otro lado, el DHA es esencial para el crecimiento y el desarrollo funcional del cerebro en bebés, además de ser requerido en el mantenimiento de la función normal del cerebro en adultos. (Horrocks, 1999).

Los ácidos grasos Omega-6 derivan del ácido linoleico (LA) el cual por medio de enzimas desaturasas y elongasas va a ser precursor de ácido graso Gamma Linoleico (GLA) el cual se encuentra en algunos aceites vegetales y ácido araquidónico (AA) que es uno de los ácidos grasos más importantes asociados a los fosfolípidos de membrana, además puede ser oxidado a una variedad de compuestos

eicosanoides importantes en la señalización célula – célula. A diferencia de los ácidos grasos Omega-3, los Omega-6, por lo general va a ser generadores de prostaglandinas, Tromboxano y Leucotrienos (PGE1, PGE2, PGI2, TXA2, LTB4) estimulantes del sistema inmune, vasoconstrictores y procoagulantes, con perfil por tanto potencialmente proinflamatorio, proalergizante y deletéreo a nivel cardiovascular (Silveira y col., 2003).

Respecto al balance Omega-6 / Omega-3, se sostiene que en el periodo paleolítico, los humanos se caracterizaban por tener una dieta baja en calorías por el consumo de grasas (20 – 25%), un consumo bajo en grasas saturadas (<6%) y el consumo de ácidos grasos trans que llegó a ser prácticamente despreciable (Eaton, 1996).

Debido a que la alimentación de estos humanos estaba basada en alimentos ricos en Omega-3 como vegetales, pescado, huevo, bayas lograron mantener en equilibrio adecuado entre Omega- 6/ Omega-3, lo que contribuyó en forma significativa a la evolución humana, influyendo y permitiendo el desarrollo cerebral o cognitivo de las especies. (Crawford y col., 2000). La importancia de la relación Omega-3/Omega-6 para la salud humana también es bien conocido, ya que muchos estudios antropológicos, nutricionales y genéticos indican que una relación de ácidos grasos muy bajo promueve la patogénesis de muchas enfermedades, incluyendo enfermedad cardiovascular,

cáncer, osteoporosis, así como enfermedades inflamatorias y autoinmunes, mientras que el aumento de los niveles de ácidos grasos poliinsaturados Omega-3 (PUFA) ejercen efectos supresores. (Simopoulos, 2008). En la actualidad, con la aparición de la revolución industrial, donde por ejemplo, la dieta occidental tiene un valor calórico proveniente de las grasas que se encuentra por encima de la recomendada (30 -35%), donde se observa un mayor consumo de grasas saturadas (>10%), ácidos grasos Omega-6 y de esta forma a un desbalance en la relación Omega-6/Omega-3, llegando incluso a relaciones 20–30:1, respectivamente y donde el aumento en dieta de grasas trans también ha sido significativo. (Gómez, 2011).

2.3.4. Proteínas y aminoácidos contenidos en la semilla de Chía

La chía contiene aproximadamente un 20% de proteína, nivel que resulta más alto que el que contiene algunos cereales tradicionales como el trigo (13,7%), el maíz (9,4%), el arroz (6,5%), la avena (16,9%) y la cebada (12,5%). (Ayerza y Coates, 2006). Las semillas de chía además de tener un alto contenido de proteínas se han hecho interesantes comparada con otras semilla como el trigo, la avena, la cebada y el centeno por no tener gluten. (Ayerza y Coates, 2006).

El contenido de lisina es bastante alto y la metionina y la cisteína se comparan de forma favorable con otras oleaginosas. Los

aminoácidos de la chía no tienen factores limitantes en una dieta para adultos, lo cual significa que ésta puede ser incorporada en la dieta humana y ser mezclada con otros granos, a fin de producir una fuente equilibrada en proteínas y la presencia de aminoácidos esenciales para los niños como el triptófano dependerá del método de extracción del aceite a partir de la semilla de chía, de allí que por el método de prensado se podrá alcanzar un contenido de 1.29 g/16 g N, pero por el método convencional de extracción con solventes orgánicos no se reporta ningún contenido del mismo. (Ayerza y Coates, 2006).

2.3.5. Vitaminas y minerales contenidos en la semilla de Chía.

La semilla de chía se ha caracterizado por ser una buena fuente de vitaminas y minerales del complejo B como la Niacina, tiamina y ácido fólico, así como Vitamina A. Además la semilla de chía es una fuente excelente de calcio, fósforo, magnesio, potasio, hierro, zinc y cobre. Otra de las grandes ventajas de esta semilla es su bajo contenido en sodio (Ayerza y Coates, 2006).

Los niveles de hierro encontrados en las semillas de chía y en la harina remanente después de extraer el aceite son muy elevados y representan una cantidad inusual para la semilla que, comparada con otros productos tradicionales conocidos como fuentes ricas de hierro. Dentro de los microelementos reportados se destaca que los niveles de

hierro encontrados en las semillas de chía y en la harina remanente después de extraer el aceite son muy elevados y representan una cantidad inusual para la semilla que, comparada con otros productos tradicionales conocidos como fuentes ricas de hierro, presenta, cada 100g de porción comestible, 6; 1,8 y 2,4 veces más cantidad de hierro que la espinaca, las lentejas y el hígado vacuno, respectivamente.

El análisis de la torta obtenida después extracción del aceite en la semillas de chía ha demostrado que poseen una fuerte actividad antioxidante (Taga, 1984). Estos antioxidantes hacen que la chía sea una fuente de ácidos grasos Omega-3 estable. El ácido clorogénico y el ácido cafeico son los antioxidantes más importantes en la semilla chía, aunque también se ha encontrado que contiene miricetina, quercetina y kaempferol flavonoles. Estos compuestos son tanto primaria y sinérgicos antioxidantes, y contribuyen a la fuerte actividad antioxidante de la chía. Algunas investigaciones han demostrado que el quercetin es un potente antioxidante que puede impedir la oxidación de los lípidos, proteínas y DNA y sus propiedades son significativamente más efectivas que los flavonoles no-ortohidroxi. (Korhonen, 2009). El ácido cafeico y el ácido clorogénico, contenidos en la semilla de chia, han demostrado tener una fuerte actividad contra los radicales libres y los procesos oxidativos en general, inhibiendo la peroxidación de los lípidos. Estas propiedades antioxidantes son

significativamente más fuertes que las del ácido ferúlico y las de los antioxidantes comunes como la vitamina C (ácido ascórbico) y la vitamina E (α -tocoferol). La chía cuya oxidación es mínima o no existe, ofrece un significativo potencial dentro de la industria alimentaria, dado que las otras fuentes de EPA y DHA como los productos marinos y de ácido alfa linolénico como el lino, exhiben una descomposición rápida debido a la ausencia de antioxidantes adecuados (Ayerza y Coates, 2006).

2.4. HIPÓTESIS

Ha: La semilla de chía (*Salvia hispanica*) tiene efecto hipoglucemiante en el control de diabetes mellitus inducida por aloxano en ratas albinas.

Ho: La semilla de chía (*Salvia hispanica*) no tiene efecto hipoglucemiante en el control de diabetes mellitus inducida por aloxano a ratas albinas.

III. MARCO METODOLÓGICO

3.1. Materiales

3.1.1. Material biológico

Se emplearon 15 ratas de la cepa Holtzman, machos de 5 meses de edad con un peso promedio de 342 ± 33 g (Anexo 1) obtenidas del Bioterio del Instituto Nacional de Salud, Lima. Antes del experimento fueron sometidas a un periodo de acondicionamiento de 60 días recibiendo una dieta sólida en pellets y agua a libertad; criadas en instalaciones limpias y adecuadas para cumplir con el objetivo del bienestar animal.

3.1.2. Equipos y Reactivos.

- ✓ Aloxano
- ✓ Tubos de ensayo
- ✓ Jeringas hipodérmicas de 1 mL.
- ✓ Jeringas hipodérmicas de 3 mL.
- ✓ Algodón.

- ✓ Agua destilada.
- ✓ Gradilla de metal.
- ✓ Sonda nasogástrica para la administración oral.
- ✓ Balanza analítica digital.
- ✓ Balanza común.
- ✓ Glucómetro One Touch.
- ✓ Tiras reactivas One Touch.
- ✓ Formol 40°.
- ✓ Refrigerador.
- ✓ Comida para rata.
- ✓ Viruta.

3.2. Metodología.

3.2.1. Selección de unidades experimentales.

Las ratas fueron seleccionadas según los criterios de inclusión y exclusión considerando un estado de salud aparentemente normal, las cuales, fueron distribuidas de manera aleatoria en dos grupos: G₁: Grupo experimental (n=10) y G₂: Grupo control (n=05).

3.2.2. Preparación de las Semillas de Chía.

Se tomaron Semillas de Chía, las que fueron trituradas en un procesador de alimentos de uso doméstico; este procedimiento se

repetió diariamente previo a su administración a los animales del Grupo experimental (G₁). Se pesaron 0,5 g de semillas de chía trituradas y fueron colocadas en jeringas. Cuando los 10 tratamientos estuvieron listos, se agregó 3 mL de agua destilada y se administró la mezcla por vía oral utilizando una sonda nasogástrica.

3.2.3. Determinación de la concentración de glucosa.

La concentración de glucosa fue determinada utilizando un glucómetro digital y tiras reactivas de la marca One Touch, debido a que existen semejanzas clínicas de laboratorio entre la diabetes mellitus humana y los modelos experimentales de diabetes inducido a ratas, estos han sido ampliamente utilizados por investigadores como menciona Mayta y col. (2001). En el experimento, los niveles de glucosa fueron determinados previos a la aloxanización para determinar el nivel de glucosa basal y luego durante 10 días en ayunas, la muestra de sangre se recolectó haciendo una punción en el ápice de la cola del animal, desechando la primera gota y recibiendo la siguiente sobre la tira reactiva, los valores obtenidos del glucómetro fueron expresados en mg/dL.

3.2.4. Inducción de diabetes mellitus a las ratas albinas

Una vez determinados los niveles de glicemia basal en las 15 ratas correspondientes a ambos grupos, fueron sometidas a 12 horas de ayuno previo a la administración de aloxano por vía subcutánea (SC) en dosis de 90 mg/Kg p.v. diluído en 0.5 mL de agua destilada. (Ramos y Domingo, 1996). Para obtener la dosis adecuada de aloxano para nuestro experimento se realizó una Prueba Piloto, como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Determinación de la dosis de aloxano a través de pruebas piloto en ratas albinas.

48 horas.

Fecha	U.E.	Gluc. Basal	Dosis de Aloxano	1° Día	2° Día	3° Día	Observaciones
19/05	Rata 1	73 mg/dL.	25 mg/Kg.	70	64	66	La rata está aparentemente saludable
22/05	Rata 2	81 mg/dL.	50 mg/ Kg.	84	77	67	La rata está aparentemente saludable
25/05	Rata 3	70 mg/dL.	75 mg/ Kg.	130	74	93	La rata está aparentemente saludable
30/05	Rata 4	89 mg/dL.	100 mg/ Kg.	433	490	Murió	La rata está deprimida, no come y apenas bebe agua
03/06	Rata 5	85 mg/dL.	125 mg/Kg.	499	512	Murió	La rata está deprimida, no come y apenas bebe agua
08/06	Rata 6	79 mg/dL.	90 mg/Kg.	336	343	330	La rata se encuentra con buen semblante, come y bebe con normalidad

3.2.5. Estudio histopatológico de las lesiones del tejido pancreático.

Las muestras fueron tomadas de 2 ratas albinas, seleccionadas al azar, correspondientes a cada grupo de experimentación al día 10 del tratamiento, e inmediatamente después del sacrificio. Con la finalidad,

de conocer las lesiones más saltantes producidas por el efecto del aloxano sobre el tejido pancreático. Dichos estudios fueron realizados en el laboratorio de Patología de la Universidad Científica del Sur.

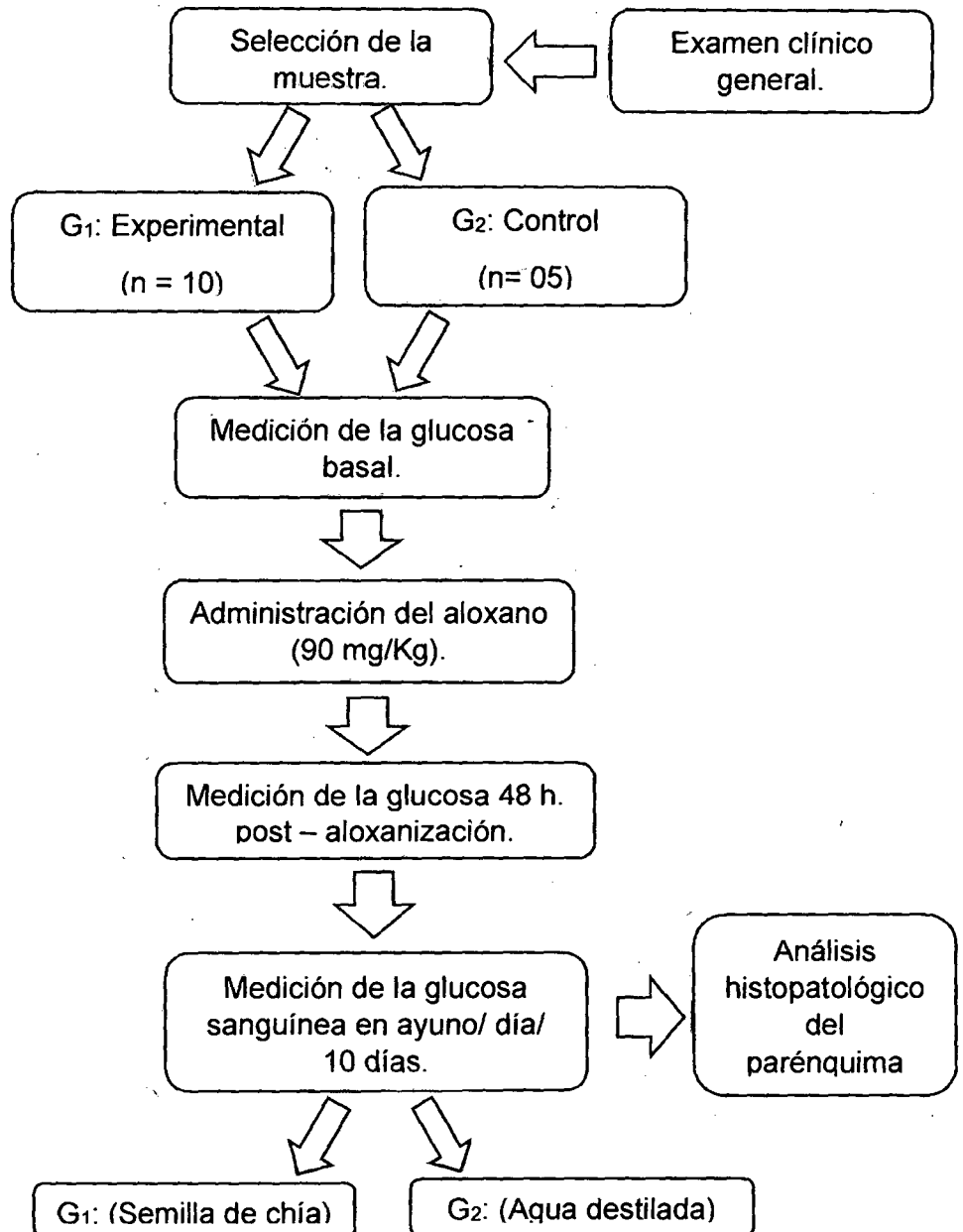
Las muestras, fueron fijadas por 24 horas con formalina 10% bufferada. Posteriormente fueron procesadas en autotécnico a fin de ser deshidratadas e impregnadas en parafina. Finalmente fueron incluidas en parafina sólida, cortadas mediante micrótomo (5 micras) y teñidas con hematoxilina eosina, para su observación microscópica (Luna, 1968).

3.2.6. Análisis estadístico.

Se emplearon pruebas no paramétricas de Normalidad y Homogeneidad de varianza para determinar la equidad de la población, con un nivel de confianza de 95 % ($p \leq 0,05$). Luego se realizó la estadística descriptiva para obtener los promedios \pm DE de los niveles de glucemia en cada grupo durante los 10 días de tratamiento y observar el progreso, además se utilizó el Modelo Lineal General (GLM) para determinar la significancia de las variables: tratamiento, día y la interacción entre estas, y para dar mayor precisión a la prueba anterior en referencia a la variable día se utilizó también ANOVA para determinar la significancia de la variable día en los grupos: G_1 y G_2 independientemente y para finalizar la Prueba de Tukey, para identificar

los días en los que existe diferencia estadística. El software SPSS versión 15.0. fue empleado para realizar todas las pruebas estadísticas.

3.2.7. Diseño experimental para el tratamiento de diabetes.



IV. RESULTADOS

4.1. Inducción de la diabetes experimental mediante aloxano.

La Tabla 2 muestra los promedios \pm DE de los niveles de glicemia basal en relación al promedio \pm DE obtenido 48h post aloxanización en ratas albinas, siendo $63,40 \pm 9,18$ mg/dL en el G₁ mientras que en el G₂ el promedio de glucemia basal fue $73,00 \pm 21,71$ mg/dL. Generando una hiperglicemia en ambos de $345,60 \pm 58,58$ mg/dL y $357,60 \pm 42,60$ mg/dL respectivamente.

Tabla 2. Niveles de glicemia basal y a las 48 h. post aloxanización en ratas albinas.

GRUPO	N° DE ANIMALES	GLICEMIA (mg/dL.)	
		BASAL	POST-ALOXANIZACIÓN
G ₁	05	$63,40 \pm 9,18$ a	$345,60 \pm 58,58$ a
G ₂	10	$73,00 \pm 21,71$	$357,60 \pm 42,60$

^{aa} Letras iguales dentro de una misma fila indica que no hubo diferencia estadística significativa. ($p \leq 0,05$)

4.2. Efecto de la semilla de Chía sobre los niveles de glicemia en ratas albinas aloxanizadas.

En la Tabla 3 muestra los niveles de glicemia en los diferentes grupos experimentales (G_1 y G_2) durante los 10 días del experimento encontrándose efecto tratamiento ($p = 0,001$) y tiempo ($p = 0,009$) en relación a la variación de los niveles de glicemia, asimismo hubo interacción ($p=0,002$) sobre las mismas variables. Observándose una caída abrupta en los niveles de glicemia en el G_1 de $345,60 \pm 58,58$ mg/dL a $169,44 \pm 104,43$ mg/dL., mientras que en el G_2 fue de $357,60 \pm 42,60$ mg/dL a $371,20 \pm 28,72$ mg/dL. Encontrándose diferencia estadística entre los grupos no ($p = 0,001$). (Anexo 3.14).

Tabla 3. Promedio \pm DE, de los niveles de glicemia del G₁ (control) y G₂ (experimental) durante los días de tratamiento en ratas aloxanizadas.

DÍA	G ₁ (experimental) mg/dL.	G ₂ (control) mg/dL.
Día 0 (Basal)	63,40 \pm 9,18	73,00 \pm 21,71
Día 1	345,60 ^a \pm 58,58	357,60 ^c \pm 42,60
Día 2	344,50 \pm 49,50	345,40 \pm 23,64
Día 3	310,20 \pm 65,71	360,40 \pm 9,18
Día 4	289,50 \pm 83,15	417,20 \pm 86,74
Día 5	257,60 \pm 94,61	410,00 \pm 98,57
Día 6	252,00 \pm 96,15	381,20 \pm 33,91
Día 7	239,70 \pm 100,71	376,00 \pm 35,05
Día 8	211,30 \pm 110,93	363,20 \pm 16,30
Día 9	205,10 \pm 121,28	359,40 \pm 36,72
Día 10	169,44 ^b \pm 104,43	371,20 ^c \pm 28,72
Promedio	245,08	346,78
\pm DE	\pm 114,40	\pm 99,66

^{ab} Letras diferentes en una misma columna indica diferencia estadística significativa (P=0,001)

El Grafico 1, se aprecia que hubo efecto tratamiento ($p = 0,01$) tiempo ($p = 0,009$) e interacción ($p = 0,02$), entre las variables estudiadas, Observándose una caída significativa de los niveles de glucosa sanguínea en las ratas sometidas a tratamiento con triturado de Chía (*Salvia hispanica*) mientras el grupo control los niveles de glicemia post aloxanización se mantuvieron estables ($P=1,000$) hasta el décimo día del experimento.

Medias estimadas de Concentración de glucosa en sangre

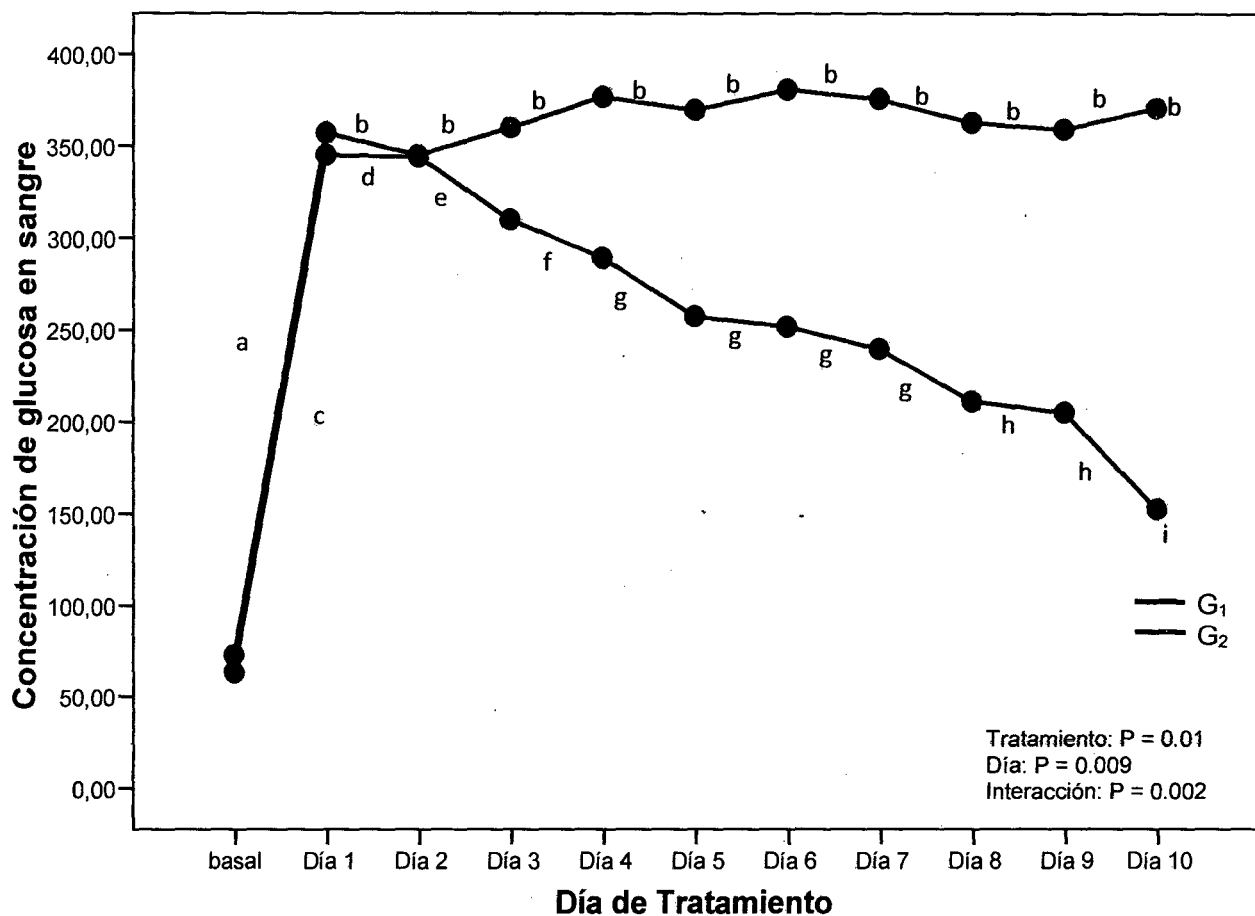


Gráfico 01. Gráfico de comparación de medias estimadas de nivel de glucosa en sangre del G₁ y G₂. Donde se observa, efecto tratamiento, tiempo e interacción.

4.3. Análisis histopatológico del páncreas de ratas aloxanizadas y sometidas al tratamiento con Chía.

Las Figuras (3,4) muestran las lesiones producidas por el efecto del aloxano en las células B del parénquima pancreático (G₂), mientras que la recuperación leve de las estructuras citológicas generadas por el efecto de tratamiento de semillas de Chía se observa en las Figuras 1 y 2.

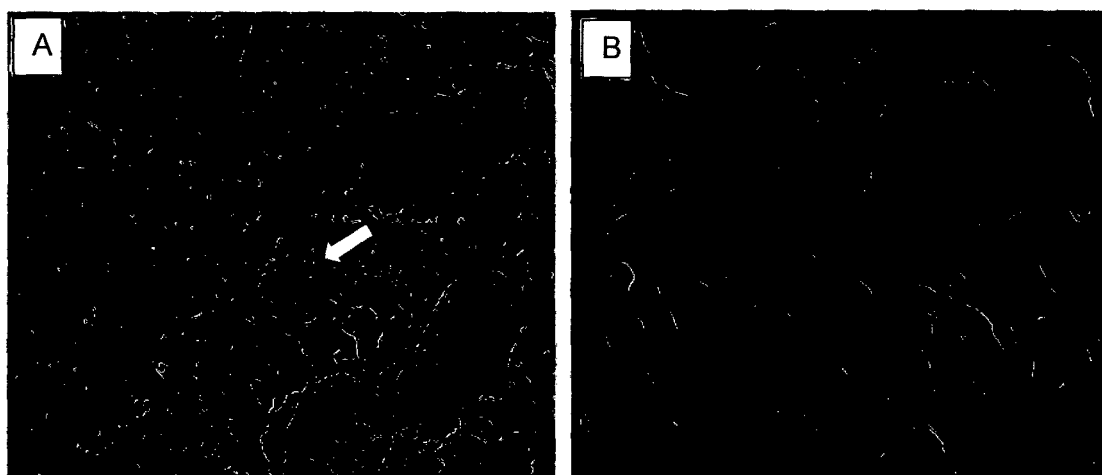


Fig 1. Microfotografía correspondiente a una rata albina perteneciente G₁, suplementada con Chia. Al día 10 del tratamiento. A. La flecha indica un número reducido de islotes de Langerhans en el parenquima pancreático, algunos de tamaño pequeño, con poco número de células y desordenas. Espacios vacíos. H-E (x10). **B.** Se observa las células B, con núcleos y citoplasmas alterados y poco diferenciados con gránulos citoplasmáticos. Existe aproximadamente una proporción de 50-50 de las células B y células A. H-E (x40).

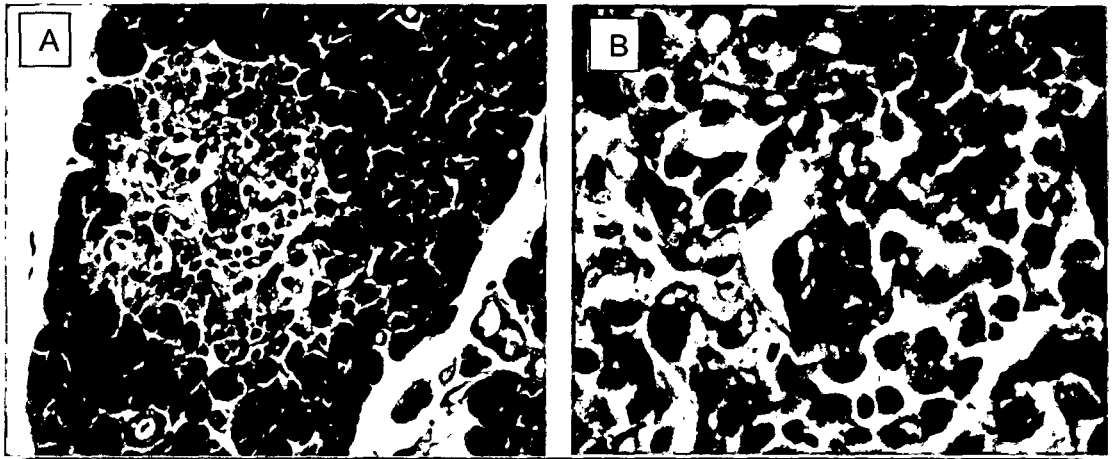


Fig 2. La microfotografía del parénquima pancreático al día 10 del experimento, correspondiente a una rata albina del G₁. A. Se distingue islotes de diferente tamaño. H-E (x20) B. Nótese, la presencia de células que conforman el islote, la gran mayoría con palidez citoplasmática. Organización celular alterada con evidencia capilares sanguíneos bastante dilatados; las células B, con pérdida de gránulos citoplasmáticos. La células B se encuentran en un proporción aproximada de 50% dentro del islote. H-E (x40).

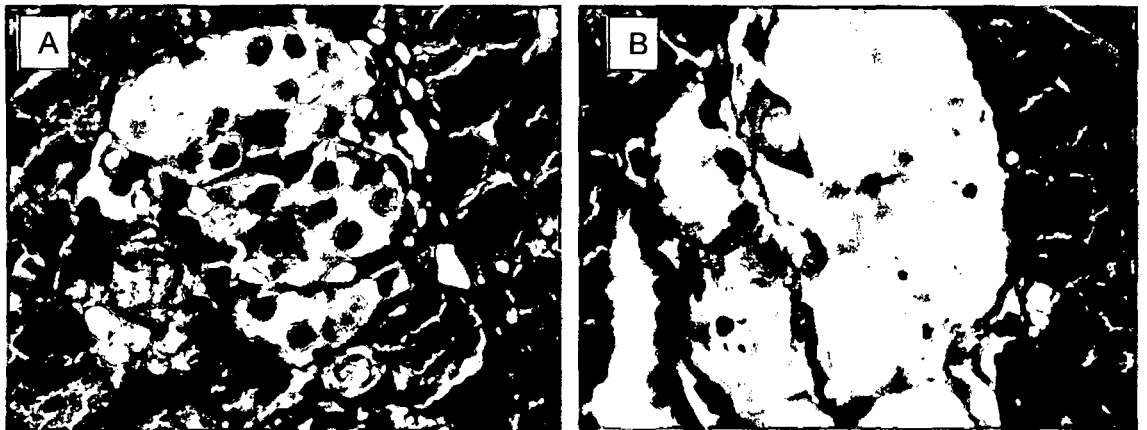


Fig 3. Microfotografía correspondiente a una rata del G₂ al día 10 del tratamiento. A. Nótese un escaso número y tamaño pequeño de islotes de Langerhans. H-E (x40). B. Se evidencia gran número de células B en degeneración, pérdida de la integridad de la membrana celular, observándose figuras fantasmales. Las células restantes permanecen intactas. H-E (x100).

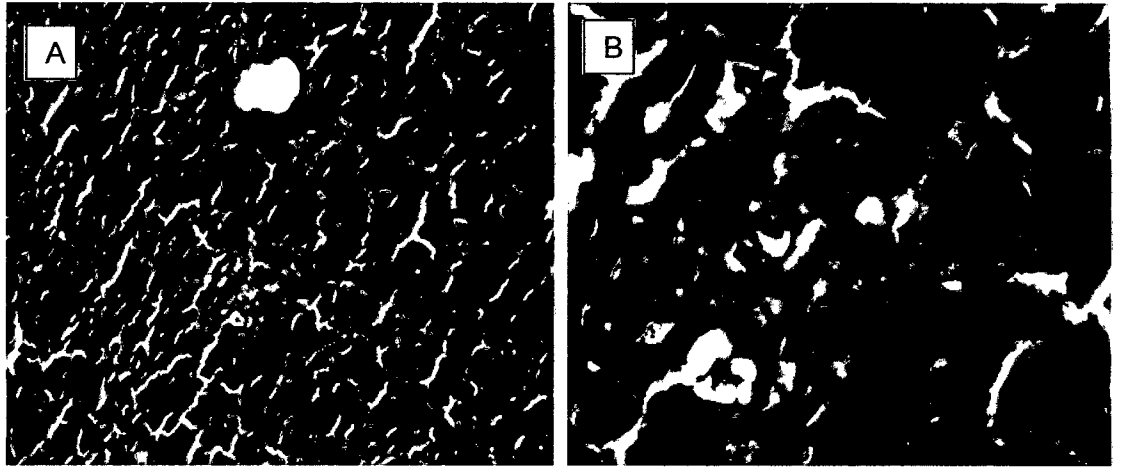


Fig 4. La microfotografía del parénquima pancreático al día 10 del experimento, correspondiente a una rata albina del G₁. A. Se observa poco número de islotes de reducido tamaño y con poca celularidad. H-E (x10). B. Apréciase, células en proceso franco de necrosis

V. DISCUSIÓN

Con respecto a la manejo de las ratas albinas no hubo dificultad en el manejo para la administración diaria del tratamiento.

Los niveles promedio de la glicemia basal obtenidos fue de 66,6 mg/dL, cuyos parámetros se encontraron entre 58,5 a 74,6 mg/dL, incrementándose de manera dramática en las próximas 48 horas post aloxanización y alcanzando niveles críticos de glicemia de $345,60 \pm 58,58$ mg/dL. (G₁) y de $357,60 \pm 42,60$ mg/dL. (G₂), esto es indicativo del efecto tóxico del aloxano aplicado a dosis 90 mg/kg sobre células B de los islotes de Langerhans en el parénquima pancreático (Fig. 3 y 4), esta observación también fue reportada en trabajos similares donde el aloxano aplicado a dosis superiores a 150 mg / Kg PV, quienes indujeron una hiperglucemia crítica en las ratas inclusive llegando hasta la muerte al 4º día postaplicación (Justil, 2013; Tasayco, 2007; Murillo, 2004 y Ramírez, 2002; Szkudelski, 2000).

Debe destacarse, que los niveles promedio de glicemia basal en las ratas evaluadas al iniciar el experimento fue ligeramente menor en 27,50 mg/dL. referente a ratas criadas a nivel del mar (Justil 2013), Este mismo fenómeno también es apreciable en otras especies como los humanos, quienes

presentan niveles de glucosa en sangre inferiores a los pobladores que viven en zonas costeras. Es por ello, de la baja prevalencia de diabetes mellitus, menor frecuencia de hipertensión arterial y pocas alteraciones electrocardiográficas en las pruebas de esfuerzo, debido a una menor concentración de glucosa en sangre del poblador andino. (Villena 1992).

Por otro lado, el efecto de la Chía triturada a dosis 0,5 g para el control de la hiperglicemia en el grupo experimental (G_1) tuvo una disminución progresiva y significativa ($P \leq 0,05$) de los niveles de glucosa en sangre durante los próximos 10 días de tratamiento, y una recuperación de las estructuras citológicas de las células B, de los islotes de Langerhans (Fig. 01) este evento podría ser atribuido a la presencia de ácidos grasos insaturados particularmente el ácido linolénico (Omega 3), componente esencial de la Chía (Ayerza y Coates 2006) , que impide la acumulación de lípidos en los vasos sanguíneos, y por ende un mayor flujo de sangre, permitiendo la supervivencia y reparación de las células B del islote de Langerhans. La reparación estructuras también se ve favorecida por el efecto antioxidante de los grupos hidroxilos de los compuestos fenólicos (Shahidi y col., 1992), como también de los potentes antioxidantes de la semilla de Chía como el quercetin, y el ácido ferúlico que impiden la oxidación de los lípidos, proteínas y DNA, con propiedades incluso más efectivas que los flavonoles no-ortohidroxi. (Korhonen 2009, Ayerza y Coates 2006).

Las lesiones histopatológicas de los islotes de Langerhans evidenciaron una franca necrosis y la destrucción aparente de las estructuras citológicas de las células B, ocasionadas por el efecto diabetógeno del aloxano. Sin embargo, se notó una leve reparación celular al 10° día de tratamiento con el triturado de la semilla de Chía, (Fig 1), no llegando alcanzar el porcentaje normal de células Beta en el islote de Langerhan (60%) del parénquima pancreático (Constanzo, 2014.)

Por los resultados obtenidos, se considera que las semillas de Chía empleadas en la dieta es una alternativa coadyuvante que debemos tomar en cuenta en el tratamiento de la diabetes mellitus en animales y humanos.

VII. CONCLUSIONES

La aloxanización con dosis de 90 mg Kg PV, en todas las unidades experimentales indujeron a un efecto hiperglucemiante promedio de $345,6 \pm 58,58$ mg/dL, produciendo lesiones en la integridad celular y una franca necrosis de las células Beta de los islotes de Langerhans del parénquima pancreático.

Las semillas de chíá (*Salvia hispánica*) en dosis de 0,5 g diluida en 3 mL de agua destilada y administrados por vía oral, disminuye la glicemia de manera abrupta, progresiva y significativa ($p \leq 0,05$), en ratas albinas diabéticas a 152,5 mg/dL. y apreciándose una leve reparación celular al 10 día de tratamiento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Achenbach, P.; Bonifacio, E.; Koczwara, K. and Ziegler, A. (2005). Natural History of Type Diabetes. *Diabetes*, vol. 54, supplement 2, december 2005. USA.
- Alabdulkarim, B. (2012). Role of some functional lipids in. *Journal of King Saud University - Science*, 319-329.
- Arbañil, H.; Valdivia, H.; Pando, R. (1995) La diabetes mellitus, problema de salud pública. *Rev Med Perú*,; 67(352): 12-15.
- Ayerza, R. y Coates, W. (2006). *Chía, redescubriendo un olvidado alimento de los aztecas*. Buenos Aires.
- Ayerza, R. y Coates, W. (2004). Protein and oil content, peroxide index and fatty acid composition of chia (*Salvia hispanica* L.) grown in six tropical and sub-tropical ecosystems of South America. *Tropical Science*, 138.
- Bakker, H. y Waring, H. (1976). Experimental diabetes insipidus in a marsupial, *Macropus eugenii*. *Endocrinology*, 149-157.
- Burdge, G. (2002). Conversion of alpha-linolenic acid to eicosapentaenoic,. *British Journal of Nutrition*, 411 - 420.
- CECOOPSEMEN I.R.L. (2012). *Guía Técnica para el Manejo del Cultivo de Chía (Salvia hispanica)*. Central de Cooperativas de Servicios Múltiples de Exportación e Importación del Norte.

- Constanzo, L. (2014). Fisiología. Quinta edición. Elsevier. España. 518 pp.
- Crawford, M.; Bloom, M.; Broadhurst, M.; Schmidt, W.; Cunnane, S.; Galli, C.; Gehbremeskel, K.; Linseisen, F.; Lloyd-Smith, J. (2000). Evidence for the unique function of docosahexaenoic acid during the evolution of the modern hominid brain. *Lipids*, 39 - 47.
- Dirección Nacional de Relaciones de Trabajo. (2007). *Diabetes Mellitus: Como Enfermedad Generadora de Discapacidad*.
- Dunn, J.; Sheehan, H. and Mc Letchie. (1943) Necrosis of the islets of Langerhans produced experimentally. *Lancet* I. USA.
- Eaton, S. (1996). An evolutionary perspective enhances understanding of human nutritional requirements. *Journal nutrition*, 1732 - 1740.
- EL Comercio. (setiembre de 2014). Obtenido de Minsa: hay más de 65.000 nuevos casos de diabetes en el Perú: <http://elcomercio.pe/peru/pais/minsa-son-mas-65000-nuevos-casos-diabetes-peru-noticia-1753873>.
- Elsner, M.; Tiedge, M.; Guldbakke, B.; Munday, R.; Lenzen, S. (2000). Importance of the GLUT2 glucose transporter for pancreatic beta cell toxicity of alloxan. *Diabetology*. 45: 1542 - 1549.
- Ettinger, S. y Feldman, E. (2007). *Tratado de Medicina Interna Veterinaria*. USA: Elsevier.
- Galli, C. y Marangoni, F. (2006). N-3 fatty acids in the Mediterranean diet. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 129-133.
- Ganong, W. (1991). Endocrine functions of the pancreas. Ganong WF. *Review of Medical Physiology*.
- GeoSalud. (abril de 2014). Obtenido de GeoSalud: <http://www.geosalud.com/diabetesmellitus/diabetestratamiento.htm>

- Gomori, G y Goldner, M. (1944). Studies on the mechanism of alloxan diabetes. *Endocrinology*. Indiana - USA.
- Gómez, C. (2011). Importance of a balanced omega 6/omega 3 ration for the maintenance of health. *Nutrition Recommendations*. *Nutricion hospitalaria*, 323 - 329.
- Gorjão, R. (2009). Comparative effects of DHA and EPA on cell function. *Pharmacology & Therapeutics*, 56-64.
- Han, B.; Hao, C.; Tchekn, H.; Harris, R.; Kem, T.; Wasserman, D.; Breyer, M., Qi, Z. (2008). Markers of glycemic control in the mouse: Comparison of six hours and overweight fasted blood glucosa to HbA1c. *Americal Journal of Physiological Endocrinology Metabol.*, 981-986.
- Head, J. y Fuller, J. (1990). International variations in mortality among diabetics patients: The WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetics. *Diabetologia* 33 : 477 - 481.
- Hoening, M. (2002). *Comparative Aspects of Diabetes Mellitus in Dogs and Cats*. USA: Elsevier.
- Horrocks, L. (1999). Health Benefits of Docosahexaenoic Acid (DHA). *Pharmacological Research*, 211-225.
- Houssay, B. (1944). Thyroid and metathyroid diabetes. *Endocrinology*, 158-172.
- Houssay, B. y Penhos, J. (1960). Pancreatic diabetes and hipophysectomy in the snake *Xenodon* . *Endocrinology*, 313-323.
- Jaramillo, Y. (2003). *Salvia Hispánica, una Fuente de Nutrientes para el Desarrollo de Alimentos Saludables*. Madrid: España.
- Justil, C. (2013). Evaluación de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Abuta sp.* en ratas diabéticas inducida por aloxano. Lima - Perú. Facultad de Medicina Veterinaria de la UNMSM.

- Klein, R. y Klein, B. (1998). Relation of glycemc control to diabetic complications and health outcomes. *Diabetes Care*; 21 (Suppl. 3): C39-C43.
- Korhonen, H. (2009). Milk-derived bioactive peptides: From science to applications. *Journal of Funtional Foods*, 177-187.
- López, G. (1998). Nueva clasificación y criterios diagnósticos de la diabetes mellitus. *Revista Médica de Chile*.
- Lucas, A. (2009). Ethyleicosapentaenoic acid for the treatment of psychological distress and depressive symptoms in middle-aged women: a double-blind, placebo-controlled, randomized clinical trial. *The American Journal of*, 641 - 665.
- Luna, I. (1968). *Manual of histology methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3th ed. McGraw-Hills, New York, USA.
- Mann, J. (2002) Diet and risk of coronary heart disease and type 2 diabetes. *Lancet*; 360: 783-789.
- Martínez, M. (2001). *Plantas Útiles de la Flora Mexicana*. DF Mexico.
- Mayta, P.; Payano, J.; Pelaez, J.; Pérez, M.; Pichardo, L.; Puycan, L. (2001) 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.
- Murillo, E.; Moreno, M. y Gutiérrez, N. (2004). Estudio del efecto hipoglicemiante de *Cordia alliodora* (Nogal cafetero) en ratones tratados con aloxano. *VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. Universidad de Antioquia, Medellín - Colombia. págs. 42-48.

- Ojewole J. (2003). Laboratory evaluation of the hypoglycemic effect of *Anacardium occidentale* Linn (Anacardiaceae) stem-bark extracts in rats. *Methods Find Exp Clin Pharmacol.* Apr;25(3):199-204
- Pinilla, A. (2013). *Guía de Atención de la Diabetes Mellitus.* España.
- Ramirez, J. (2002). Efecto hipoglicemiante de la hoja de Yacón (*Smallanthus sonchifolius*) en el control de diabetes mellitus inducido por aloxano en ratas albinas. FMVyZ de UNHEVAL.
- Ramos, H. y Domingo, J. (1994) *Diabetes Mellitus Experimental.* Ciencia Veterinaria. Vol 6. Universidad Nacional Autónoma de México, D.F.
- Ramos, W. (noviembre de 2012). *Boletín Epidemiológico.*
- Reid, P. (1981). *Animal Models of Diabetes Mellitus.* *Animal Lab,* 40-45.
- Rocca, F. y Plá, J. (1963). *Diabetes Mellitus.* Edita el Departameto de Publicaciones del SMU, 351 pp.
- Rovati, A.; Escobar, E. y Prado, C. (2013). *Particularidades de la Semilla de Chía.* Argentina.
- Shahidi, F.; Janitha, P. y Wanasundara, P.(1992) Phenolic Antioxidants. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.;* 32: 67-103
- Silveira, M.; Monereo, S. y Molina, B. (2003). Alimentos funcionales y nutrición óptima: ¿Cerca o lejos? *Revista Española de Salud Pública,* 317-331.
- Simopoulos, A. (2008). The Importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. *Experimental Biology and Medicine,* 674 - 688.
- Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. Department of Animal Physiology and Biochemistry, University of Agriculture, Poznan, Poland.

- Taga, S. (1984). Chia seeds as a source of natural lipid antioxidants. *Journal of the American Oil Chemist's Society*, 928 - 931.
- Tasayco, N. (2007). Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. Lima - Perú.
- Travieso, J. (2010). Ácidos grasos omega-3 y prevención cardiovascular. *Revista CENIC Ciencias Biologicas*, 3-15.
- Villena, A. (1992). Características metabólicas y frecuencia de patologías endocrino-metabólica en ancianos de altura y de nivel del mar. IV Congreso Peruano de Endocrinología. 1994. Lima Resumen 13.

ANEXO

Anexo 1. Datos Generales Correspondientes a las 15 Ratas Albinas.

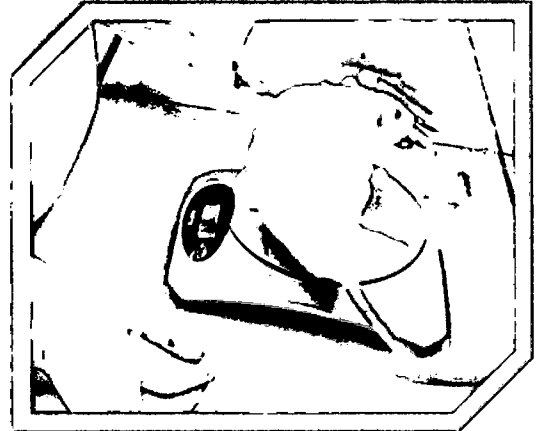
GRUPO	IDENTIFICACIÓN	PESO (g)	EDAD
G₁ (Grupo experimental)	01	366	5 meses
	02	339	5 meses
	03	304	5 meses
	04	393	5 meses
	05	340	5 meses
	06	320	5 meses
	07	320	5 meses
	08	400	5 meses
	09	264	5 meses
	10	344	5 meses
G₂ (Grupo control)	11	355	5 meses
	12	335	5 meses
	13	345	5 meses
	14	371	5 meses
	15	335	5 meses
± D.E.		342 ± 33 g.	

Anexo 2. Metodología.

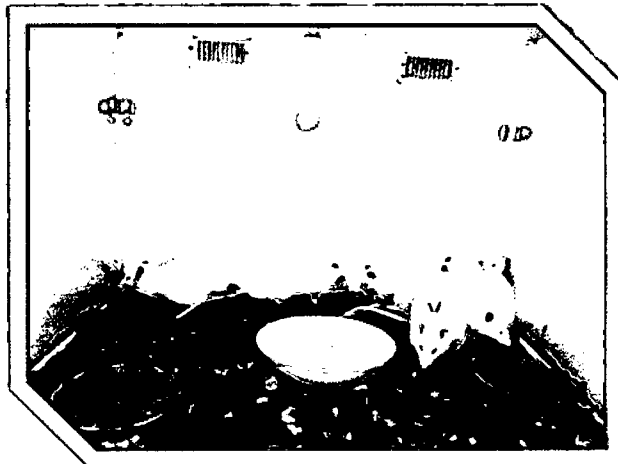
Anexo 2.1. Identificación y toma de datos (incluido el nivel de glucosa basal) de las unidades experimentales.



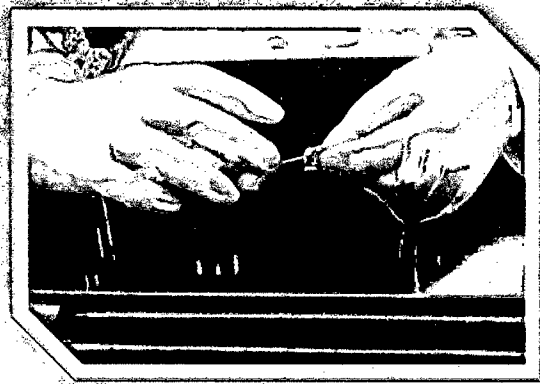
Identificación de las unidades experimentales.



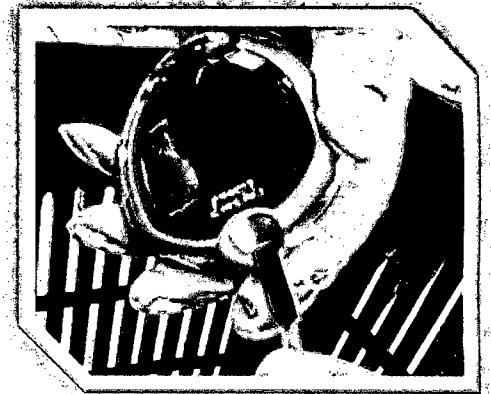
Pesaje de las unidades experimentales.



Unidades experimentales correctamente identificadas.



Toma de muestra de sangre para la medición de la glucemia.

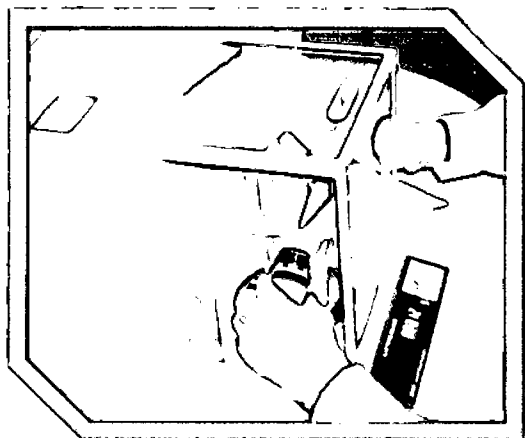


Medición de glucemia con el glucómetro.

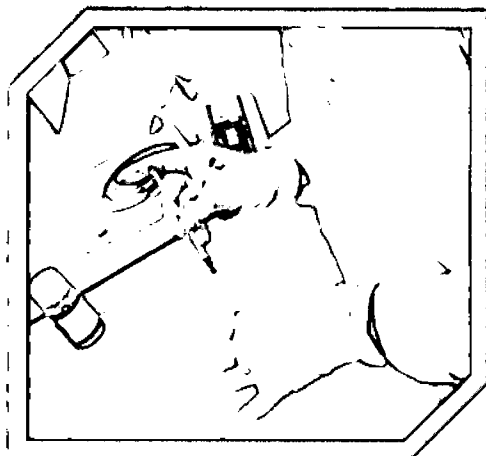


Resultado del glucómetro.

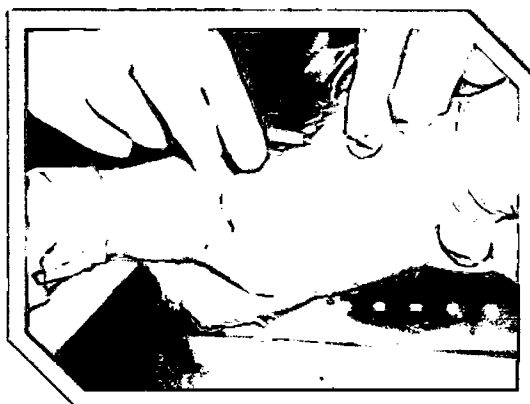
Anexo 2.2. Manejo del aloxano.



Pesaje del aloxano.

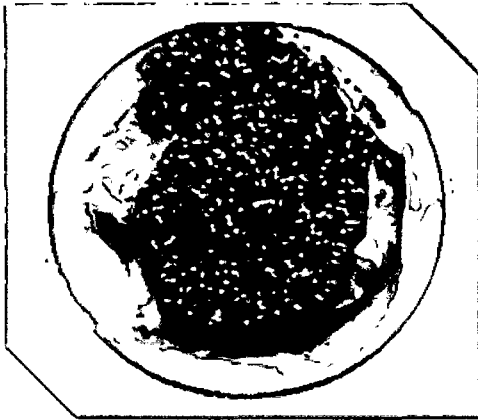


Dilución del aloxano con agua destilada.



Aplicación del aloxano vía SC.

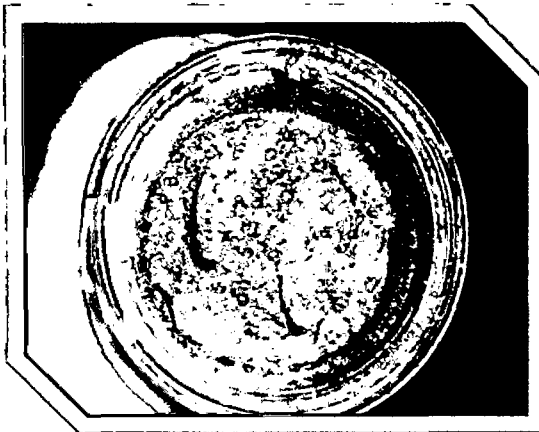
Anexo 2.3. Procesamiento de la Chía.



Semillas de chía entera.



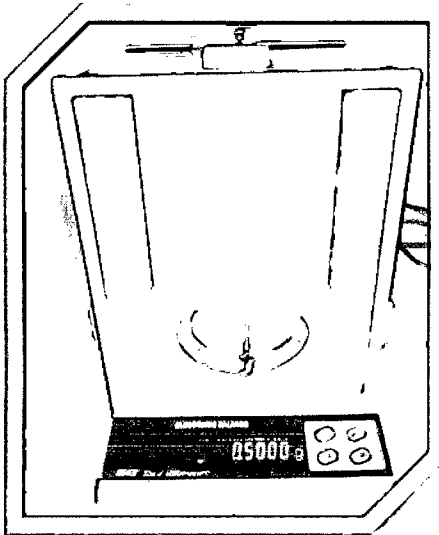
Procesador de alimentos moliendo Chía.



Chía molida.



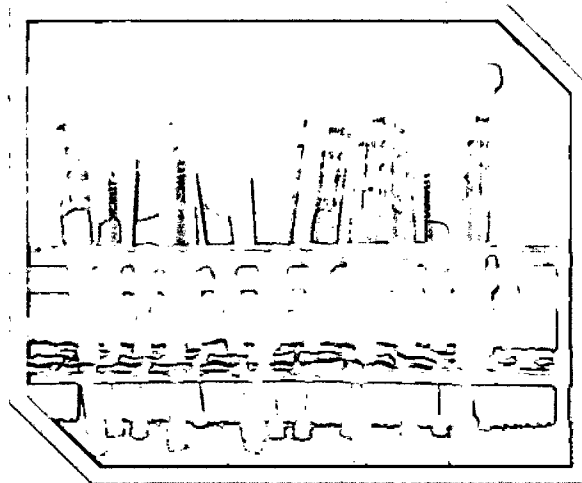
Tamizado de la chía molida.



Pesaje de la chía molida.



La chía fue depositada en jeringas de 3mL.



Todas las 10 jeringas con chía listas para agregar 3mL de agua destilada y administrarlas.



Administración oral de chía utilizando una sonda nasogástrica.



Medición de glucosa 24 horas después.

Anexo 2.5. Necropsia: Obtención de muestra de páncreas y conservarlos en formol 10%.



Figura 19. Órganos de la unidad experimental expuestos.



Figura 20. Páncreas de una de las unidades experimentales.

Anexo 3. Pruebas Estadísticas

Anexo 3.1. Niveles de glicemia en estado basal.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Min.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
Semilla de Chía	10	63,4000	9,17969	2,90287	56,8332	69,9668	47,00	79,00
Agua destilada	5	73,000	21,71405	9,71082	46,0384	99,9616	52,00	109,00
Total	15	66,6000	14,51994	3,74903	58,5591	74,6409	47,00	109,00

Anexo 3.2. Niveles de glicemia post - aloxanización.

	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Min.	Máx.
					Límite inferior	Límite superior		
Semilla de Chía	10	345.6000	58.58365	18.52578	303.6918	387.5082	265.00	418.00
Agua destilada	5	357,6000	42.60634	19.05413	304.6972	410.5028	285.00	390.00
Total	15	349.6000	52.52863	13.56283	320.5106	378.6894	265.00	418.00

Anexo 3.3. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de la muestra en estado basal.

		Gl. Basal
Número de unidades experimentales		15
Parámetros normales (a,b)*	Media	66,6000
	Desviación típica	14,5199
Diferencias más extremas	Absoluta	0,183
	Positiva	0,183
	Negativa	-.099
Z de Kolmogorov-Smirnov		0,709
Sig.		0,696

* a La distribución de contraste es la Normal.

* b Se han calculado a partir de los datos.

Anexo 3.4. Prueba de Kolmogorov-Smirnov para determinar la normalidad de muestra post aloxanización.

		Gluc.1º día
Número de unidades experimentales		15
Parámetros normales(a,b)	Media	349,6000
	Desviación típica	52,52863
Diferencias más extremas	Absoluta	0,245
	Positiva	0,157
	Negativa	-0,245
Z de Kolmogorov-Smirnov		0,949
Sig.		0,328

a La distribución de contraste es la Normal.

b Se han calculado a partir de los datos.

Anexo 3.5. Prueba de homogeneidad de varianzas en estado basal.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
2.953	1	13	0.109

Anexo 3.6. Prueba de homogeneidad de varianzas post aloxanización.

Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
3.378	1	13	0.089

Anexo 3.7. Niveles de glicemia del G₁ (Grupo experimental) durante el periodo de experimentación.

DÍA	REPE TICIO NES	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	ERROR TÍPICO	INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA AL 95%		MÍN.	MÁX.
					LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR		
Dia1	10	345.6000	58.58365	18.52578	303.6918	387.5082	265.00	418.00
Dia2	10	344.5000	49.49579	15.65194	309.0928	379.9072	266.00	407.00
Dia3	10	310.2000	65.70946	20.77916	263.1943	357.2057	182.00	388.00
Dia4	10	289.5000	83.15481	26.29586	230.0146	348.9854	148.00	377.00
Dia5	10	257.6000	94.61172	29.91885	189.9189	325.2811	129.00	368.00
Dia6	10	252.0000	96.14919	30.40504	183.2190	320.7810	117.00	366.00
Dia7	10	239.7000	100.71086	31.84757	167.6558	311.7442	93.00	359.00
Dia8	10	211.3000	110.93346	35.08024	131.9430	290.6570	81.00	342.00
Dia9	10	205.1000	121.28428	38.35346	118.3384	291.8616	73.00	359.00
Dia10	9	169.4444	104.43911	34.81304	89.1654	249.7235	71.00	304.00
Total	109	245.0826	114.40499	10.95801	223.3619	266.8032	47.00	418.00

Anexo 3.8. Niveles de glicemia del G₂ (Grupo control) durante el periodo de experimentación.

DÍA	REPE TICIO NES	MEDIA	DESVIACIÓN TÍPICA	ERROR TÍPICO	INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA AL 95%		MÍN.	MÁX.
					LÍMITE INFERIOR	LÍMITE SUPERIOR		
Dia1	5	357.6000	42.60634	19.05413	304.6972	410.5028	285.00	390.00
Dia2	5	345.4000	23.63895	10.57166	316.0484	374.7516	306.00	368.00
Dia3	5	360.4000	9.18150	4.10609	348.9997	371.8003	349.00	370.00
Dia4	5	417.2000	86.74215	38.79227	309.4954	524.9046	355.00	569.00
Dia5	5	410.0000	98.56724	44.08061	287.6126	532.3874	361.00	586.00
Dia6	5	381.2000	33.90723	15.16377	339.0986	423.3014	358.00	440.00
Dia7	5	376.0000	35.04996	15.67482	332.4797	419.5203	334.00	425.00
Dia8	5	363.2000	16.30031	7.28972	342.9605	383.4395	346.00	390.00
Dia9	5	359.4000	36.71920	16.42133	313.8071	404.9929	296.00	387.00
Dia10	5	371.2000	28.71759	12.84290	335.5424	406.8576	323.00	398.00
Total	55	346.7818	99.66085	13.43827	319.8397	373.7239	52.00	586.00

Anexo 3.9. Evaluación de las variables tratamiento, día y la interacción entre ellas. (MLG)

Fuente		Suma de cuadrados tipo III	Gl.	Media cuadrática	F	Significación
Intersección	Hipótesis	12435404.848	1	12435404.848	149.517	0,000
	Error	831705.618	10	83170.562(a)		
Tto	Hipótesis	342543.709	1	342543.709	20.430	0,001
	Error	167670.224	10	16767.022(b)		
Día	Hipótesis	831705.618	10	83170.562	4.960	0,009
	Error	167670.224	10	16767.022(b)		
Tto * Día	Hipótesis	167670.224	10	16767.022	3.001	0,002
	Error	798907.400	143	5586.765(c)		

- a MS(Día)
b MS(Tto * Día)
c MS(Error)

Anexo 3.10. Significancia del nivel de glucemia durante la experimentación del G₁. (ANOVA)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	673317,135	10	67331,713	8,914	0,000
Intra-grupos	740241,122	98	7553,481		
Total	1413558,257	108			

Anexo 3.11. Significancia del nivel de glucemia durante la experimentación del G₂. (ANOVA)

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	436397,382	10	43639,738	19,212	0,000
Intra-grupos	99946,000	44	2271,500		
Total	536343,382	54			

Anexo 3.12. Prueba de Tuckey para el G₁ considerando como variable dependiente: Nivel de glucosa.

	(I) Día	(J) Día	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite superior	Límite inferior
HSD de Tukey	0	1	-282.20000(*)	38.86768	.000	-410.3093	-154.0907
		2	-281.10000(*)	38.86768	.000	-409.2093	-152.9907
		3	-246.80000(*)	38.86768	.000	-374.9093	-118.6907
		4	-226.10000(*)	38.86768	.000	-354.2093	-97.9907
		5	-194.20000(*)	38.86768	.000	-322.3093	-66.0907
		6	-188.60000(*)	38.86768	.000	-316.7093	-60.4907
		7	-176.30000(*)	38.86768	.001	-304.4093	-48.1907
		8	-147.90000(*)	38.86768	.011	-276.0093	-19.7907
		9	-141.70000(*)	38.86768	.018	-269.8093	-13.5907
		10	-106.04444	39.93274	.236	-237.6642	25.5753
	1	0	282.20000(*)	38.86768	.000	154.0907	410.3093
		2	1.10000	38.86768	1.000	-127.0093	129.2093
		3	35.40000	38.86768	.998	-92.7093	163.5093
		4	56.10000	38.86768	.934	-72.0093	184.2093
		5	88.00000	38.86768	.466	-40.1093	216.1093
		6	93.60000	38.86768	.372	-34.5093	221.7093
		7	105.90000	38.86768	.204	-22.2093	234.0093
		8	134.30000(*)	38.86768	.032	6.1907	262.4093
		9	140.50000(*)	38.86768	.020	12.3907	268.6093
		10	176.15556(*)	39.93274	.001	44.5358	307.7753
	2	0	281.10000(*)	38.86768	.000	152.9907	409.2093
		1	-1.10000	38.86768	1.000	-129.2093	127.0093
		3	34.30000	38.86768	.998	-93.8093	162.4093
		4	55.00000	38.86768	.942	-73.1093	183.1093
		5	86.90000	38.86768	.486	-41.2093	215.0093
		6	92.50000	38.86768	.390	-35.6093	220.6093
		7	104.80000	38.86768	.217	-23.3093	232.9093
		8	133.20000(*)	38.86768	.034	5.0907	261.3093
		9	139.40000(*)	38.86768	.021	11.2907	267.5093
		10	175.05556(*)	39.93274	.001	43.4358	306.6753
	3	0	246.80000(*)	38.86768	.000	118.6907	374.9093
		1	-35.40000	38.86768	.998	-163.5093	92.7093
		2	-34.30000	38.86768	.998	-162.4093	93.8093
		4	20.70000	38.86768	1.000	-107.4093	148.8093
		5	52.60000	38.86768	.956	-75.5093	180.7093
		6	58.20000	38.86768	.917	-69.9093	186.3093
		7	70.50000	38.86768	.769	-57.6093	198.6093
		8	98.90000	38.86768	.293	-29.2093	227.0093
		9	105.10000	38.86768	.213	-23.0093	233.2093
		10	140.75556(*)	39.93274	.026	9.1358	272.3753
4	0	226.10000(*)	38.86768	.000	97.9907	354.2093	
	1	-56.10000	38.86768	.934	-184.2093	72.0093	
	2	-55.00000	38.86768	.942	-183.1093	73.1093	
	3	-20.70000	38.86768	1.000	-148.8093	107.4093	
	5	31.90000	38.86768	.999	-96.2093	160.0093	
	6	37.50000	38.86768	.996	-90.6093	165.6093	
	7	49.80000	38.86768	.970	-78.3093	177.9093	
	8	78.20000	38.86768	.641	-49.9093	206.3093	
	9	84.40000	38.86768	.530	-43.7093	212.5093	
	10	120.05556	39.93274	.107	-11.5642	251.6753	
5	.00	194.20000(*)	38.86768	.000	66.0907	322.3093	
	1	-88.00000	38.86768	.466	-216.1093	40.1093	
	2	-86.90000	38.86768	.486	-215.0093	41.2093	

	3	-52.60000	38.86768	.956	-180.7093	75.5093
	4	-31.90000	38.86768	.999	-160.0093	96.2093
	6	5.60000	38.86768	1.000	-122.5093	133.7093
	7	17.90000	38.86768	1.000	-110.2093	146.0093
	8	46.30000	38.86768	.982	-81.8093	174.4093
	9	52.50000	38.86768	.957	-75.6093	180.6093
	10	88.15556	39.93274	.505	-43.4642	219.7753
6	.00	188.60000(*)	38.86768	.000	60.4907	316.7093
	1	-93.60000	38.86768	.372	-221.7093	34.5093
	2	-92.50000	38.86768	.390	-220.6093	35.6093
	3	-58.20000	38.86768	.917	-186.3093	69.9093
	4	-37.50000	38.86768	.996	-165.6093	90.6093
	5	-5.60000	38.86768	1.000	-133.7093	122.5093
	7	12.30000	38.86768	1.000	-115.8093	140.4093
	8	40.70000	38.86768	.993	-87.4093	168.8093
	9	46.90000	38.86768	.980	-81.2093	175.0093
	10	82.55556	39.93274	.603	-49.0642	214.1753
7	.00	176.30000(*)	38.86768	.001	48.1907	304.4093
	1	-105.90000	38.86768	.204	-234.0093	22.2093
	2	-104.80000	38.86768	.217	-232.9093	23.3093
	3	-70.50000	38.86768	.769	-198.6093	57.6093
	4	-49.80000	38.86768	.970	-177.9093	78.3093
	5	-17.90000	38.86768	1.000	-146.0093	110.2093
	6	-12.30000	38.86768	1.000	-140.4093	115.8093
	8	28.40000	38.86768	1.000	-99.7093	156.5093
	9	34.60000	38.86768	.998	-93.5093	162.7093
	10	70.25556	39.93274	.800	-61.3642	201.8753
8	.00	147.90000(*)	38.86768	.011	19.7907	276.0093
	1	-134.30000(*)	38.86768	.032	-262.4093	-6.1907
	2	-133.20000(*)	38.86768	.034	-261.3093	-5.0907
	3	-98.90000	38.86768	.293	-227.0093	29.2093
	4	-78.20000	38.86768	.641	-206.3093	49.9093
	5	-46.30000	38.86768	.982	-174.4093	81.8093
	6	-40.70000	38.86768	.993	-168.8093	87.4093
	7	-28.40000	38.86768	1.000	-156.5093	99.7093
	9	6.20000	38.86768	1.000	-121.9093	134.3093
	10	41.85556	39.93274	.993	-89.7642	173.4753
9	.00	141.70000(*)	38.86768	.018	13.5907	269.8093
	1	-140.50000(*)	38.86768	.020	-268.6093	-12.3907
	2	-139.40000(*)	38.86768	.021	-267.5093	-11.2907
	3	-105.10000	38.86768	.213	-233.2093	23.0093
	4	-84.40000	38.86768	.530	-212.5093	43.7093
	5	-52.50000	38.86768	.957	-180.6093	75.6093
	6	-46.90000	38.86768	.980	-175.0093	81.2093
	7	-34.60000	38.86768	.998	-162.7093	93.5093
	8	-6.20000	38.86768	1.000	-134.3093	121.9093
	10	35.65556	39.93274	.998	-95.9642	167.2753
10	.00	106.04444	39.93274	.236	-25.5753	237.6642
	1	-176.15556(*)	39.93274	.001	-307.7753	-44.5358
	2	-175.05556(*)	39.93274	.001	-306.6753	-43.4358
	3	-140.75556(*)	39.93274	.026	-272.3753	-9.1358
	4	-120.05556	39.93274	.107	-251.6753	11.5642
	5	-88.15556	39.93274	.505	-219.7753	43.4642
	6	-82.55556	39.93274	.603	-214.1753	49.0642
	7	-70.25556	39.93274	.800	-201.8753	61.3642
	8	-41.85556	39.93274	.993	-173.4753	89.7642
	9	-35.65556	39.93274	.998	-167.2753	95.9642

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Anexo 3.13. Subconjuntos homogéneos de la prueba de Tukey para el G1.

Día		N	Subconjunto para alfa = .05			
HSD de Tukey(a,b)	.00					
	10	10	63.4000			
	10	9	169.4444	169.4444		
	9	10		205.1000	205.1000	
	8	10		211.3000	211.3000	
	7	10		239.7000	239.7000	239.7000
	6	10		252.0000	252.0000	252.0000
	5	10		257.6000	257.6000	257.6000
	4	10		289.5000	289.5000	289.5000
	3	10			310.2000	310.2000
	2	10				344.5000
	1	10				345.6000
	Sig.		.209	.091	.220	.210

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.900.

b Los tamaños de los grupos no son iguales. Se utilizará la media armónica de los tamaños de los grupos. Los niveles de error de tipo I no están garantizados.

Anexo 3.14. Prueba de Tuckey para el G₂ considerando como variable dependiente: Nivel de glucosa.

(I) diatrat		(J) diatrat	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Limite superior	Limite inferior
HSD de Tukey	basal	dia1	-284.60000(*)	30.14299	.000	-386.8749	-182.3251
		dia2	-272.40000(*)	30.14299	.000	-374.6749	-170.1251
		dia3	-287.40000(*)	30.14299	.000	-389.6749	-185.1251
		dia4	-344.20000(*)	30.14299	.000	-446.4749	-241.9251
		dia5	-337.00000(*)	30.14299	.000	-439.2749	-234.7251
		dia6	-308.20000(*)	30.14299	.000	-410.4749	-205.9251
		dia7	-303.00000(*)	30.14299	.000	-405.2749	-200.7251
		dia8	-290.20000(*)	30.14299	.000	-392.4749	-187.9251
		dia9	-286.40000(*)	30.14299	.000	-388.6749	-184.1251
		dia10	-298.20000(*)	30.14299	.000	-400.4749	-195.9251
	dia1	basal	284.60000(*)	30.14299	.000	182.3251	386.8749
		dia2	12.20000	30.14299	1.000	-90.0749	114.4749
		dia3	-2.80000	30.14299	1.000	-105.0749	99.4749
		dia4	-59.60000	30.14299	.665	-161.8749	42.6749
		dia5	-52.40000	30.14299	.808	-154.6749	49.8749
		dia6	-23.60000	30.14299	.999	-125.8749	78.6749
		dia7	-18.40000	30.14299	1.000	-120.6749	83.8749
		dia8	-5.60000	30.14299	1.000	-107.8749	96.6749
		dia9	-1.80000	30.14299	1.000	-104.0749	100.4749
		dia10	-13.60000	30.14299	1.000	-115.8749	88.6749
	dia2	basal	272.40000(*)	30.14299	.000	170.1251	374.6749
		dia1	-12.20000	30.14299	1.000	-114.4749	90.0749
		dia3	-15.00000	30.14299	1.000	-117.2749	87.2749
		dia4	-71.80000	30.14299	.401	-174.0749	30.4749
		dia5	-64.60000	30.14299	.555	-166.8749	37.6749
		dia6	-35.80000	30.14299	.981	-138.0749	66.4749
		dia7	-30.60000	30.14299	.994	-132.8749	71.6749
		dia8	-17.80000	30.14299	1.000	-120.0749	84.4749
		dia9	-14.00000	30.14299	1.000	-116.2749	88.2749
		dia10	-25.80000	30.14299	.998	-128.0749	76.4749
	dia3	basal	287.40000(*)	30.14299	.000	185.1251	389.6749
		dia1	2.80000	30.14299	1.000	-99.4749	105.0749
		dia2	15.00000	30.14299	1.000	-87.2749	117.2749
		dia4	-56.80000	30.14299	.724	-159.0749	45.4749
		dia5	-49.60000	30.14299	.854	-151.8749	52.6749
		dia6	-20.80000	30.14299	1.000	-123.0749	81.4749
		dia7	-15.60000	30.14299	1.000	-117.8749	86.6749
		dia8	-2.80000	30.14299	1.000	-105.0749	99.4749
		dia9	1.00000	30.14299	1.000	-101.2749	103.2749
		dia10	-10.80000	30.14299	1.000	-113.0749	91.4749
	dia4	basal	344.20000(*)	30.14299	.000	241.9251	446.4749
		dia1	59.60000	30.14299	.665	-42.6749	161.8749
		dia2	71.80000	30.14299	.401	-30.4749	174.0749
		dia3	56.80000	30.14299	.724	-45.4749	159.0749
		dia5	7.20000	30.14299	1.000	-95.0749	109.4749
		dia6	36.00000	30.14299	.980	-66.2749	138.2749
		dia7	41.20000	30.14299	.950	-61.0749	143.4749

	dia8	54.00000	30.14299	.779	-48.2749	156.2749
	dia9	57.80000	30.14299	.703	-44.4749	160.0749
	dia10	46.00000	30.14299	.903	-56.2749	148.2749
dia5	basal	337.00000(*)	30.14299	.000	234.7251	439.2749
	dia1	52.40000	30.14299	.808	-49.8749	154.6749
	dia2	64.60000	30.14299	.555	-37.6749	166.8749
	dia3	49.60000	30.14299	.854	-52.6749	151.8749
	dia4	-7.20000	30.14299	1.000	-109.4749	95.0749
	dia6	28.80000	30.14299	.996	-73.4749	131.0749
	dia7	34.00000	30.14299	.987	-68.2749	136.2749
	dia8	46.80000	30.14299	.893	-55.4749	149.0749
	dia9	50.60000	30.14299	.838	-51.6749	152.8749
	dia10	38.80000	30.14299	.966	-63.4749	141.0749
dia6	basal	308.20000(*)	30.14299	.000	205.9251	410.4749
	dia1	23.60000	30.14299	.999	-78.6749	125.8749
	dia2	35.80000	30.14299	.981	-66.4749	138.0749
	dia3	20.80000	30.14299	1.000	-81.4749	123.0749
	dia4	-36.00000	30.14299	.980	-138.2749	66.2749
	dia5	-28.80000	30.14299	.996	-131.0749	73.4749
	dia7	5.20000	30.14299	1.000	-97.0749	107.4749
	dia8	18.00000	30.14299	1.000	-84.2749	120.2749
	dia9	21.80000	30.14299	1.000	-80.4749	124.0749
	dia10	10.00000	30.14299	1.000	-92.2749	112.2749
dia7	basal	303.00000(*)	30.14299	.000	200.7251	405.2749
	dia1	18.40000	30.14299	1.000	-83.8749	120.6749
	dia2	30.60000	30.14299	.994	-71.6749	132.8749
	dia3	15.60000	30.14299	1.000	-86.6749	117.8749
	dia4	-41.20000	30.14299	.950	-143.4749	61.0749
	dia5	-34.00000	30.14299	.987	-136.2749	68.2749
	dia6	-5.20000	30.14299	1.000	-107.4749	97.0749
	dia8	12.80000	30.14299	1.000	-89.4749	115.0749
	dia9	16.60000	30.14299	1.000	-85.6749	118.8749
	dia10	4.80000	30.14299	1.000	-97.4749	107.0749
dia8	basal	290.20000(*)	30.14299	.000	187.9251	392.4749
	dia1	5.60000	30.14299	1.000	-96.6749	107.8749
	dia2	17.80000	30.14299	1.000	-84.4749	120.0749
	dia3	2.80000	30.14299	1.000	-99.4749	105.0749
	dia4	-54.00000	30.14299	.779	-156.2749	48.2749
	dia5	-46.80000	30.14299	.893	-149.0749	55.4749
	dia6	-18.00000	30.14299	1.000	-120.2749	84.2749
	dia7	-12.80000	30.14299	1.000	-115.0749	89.4749
	dia9	3.80000	30.14299	1.000	-98.4749	106.0749
	dia10	-8.00000	30.14299	1.000	-110.2749	94.2749
dia9	basal	286.40000(*)	30.14299	.000	184.1251	388.6749
	dia1	1.80000	30.14299	1.000	-100.4749	104.0749
	dia2	14.00000	30.14299	1.000	-88.2749	116.2749
	dia3	-1.00000	30.14299	1.000	-103.2749	101.2749
	dia4	-57.80000	30.14299	.703	-160.0749	44.4749
	dia5	-50.60000	30.14299	.838	-152.8749	51.6749
	dia6	-21.80000	30.14299	1.000	-124.0749	80.4749
	dia7	-16.60000	30.14299	1.000	-118.8749	85.6749
	dia8	-3.80000	30.14299	1.000	-106.0749	98.4749
	dia10	-11.80000	30.14299	1.000	-114.0749	90.4749

dia10	basal	298.20000(*)	30.14299	.000	195.9251	400.4749
	dia1	13.60000	30.14299	1.000	-88.6749	115.8749
	dia2	25.80000	30.14299	.998	-76.4749	128.0749
	dia3	10.80000	30.14299	1.000	-91.4749	113.0749
	dia4	-46.00000	30.14299	.903	-148.2749	56.2749
	dia5	-38.80000	30.14299	.966	-141.0749	63.4749
	dia6	-10.00000	30.14299	1.000	-112.2749	92.2749
	dia7	-4.80000	30.14299	1.000	-107.0749	97.4749
	dia8	8.00000	30.14299	1.000	-94.2749	110.2749
	dia9	11.80000	30.14299	1.000	-90.4749	114.0749

* La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Anexo 3.15. Subconjuntos homogéneos de la prueba de Tukey para el G₂.

		N	Subconjunto para alfa = .05	
HSD de Tukey(a)	basal	5	73.0000	
	dia2	5		345.4000
	dia1	5		357.6000
	dia9	5		359.4000
	dia3	5		360.4000
	dia8	5		363.2000
	dia10	5		371.2000
	dia7	5		376.0000
	dia6	5		381.2000
	dia5	5		410.0000
	dia4	5		417.2000
	Sig.			1.000

Anexo 4. Resultados Histopatológicos del Islote de Langerhans en una rata albina sana.

UNIVERSIDAD CIENTIFICA DEL SUR
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS
MVZ
Laboratorio de Histopatología y Parasitología Veterinaria

FECHA DE RECEPCIÓN	05/10/15	CÓDIGO M-01X
FECHA DE ENTREGA	02/11/15	

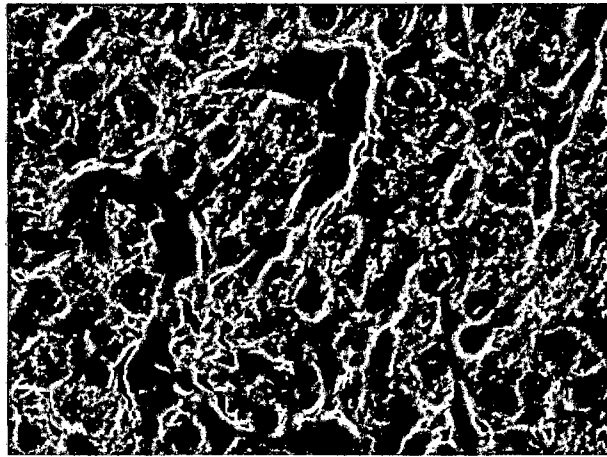
INFORME CITOLÓGICO

Nombre del Propietario / Solicitante Helen Judith Catay Carrillo
--

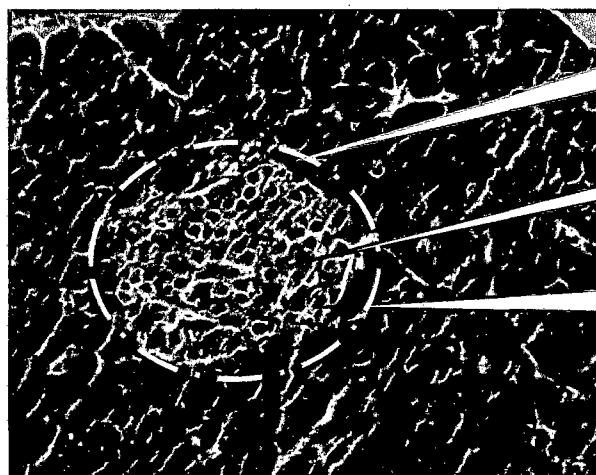
Datos del Espécimen ESPECIE ANIMAL: Rata albina RAZA: Holtzman SEXO: Macho EDAD: 4 meses NOMBRE: 00	Información de la Muestra <input type="checkbox"/> CITOLOGIA <input type="checkbox"/> POST-SACRIFICIO / MUERTE <input type="checkbox"/> PIEZA OPERATORIA <input type="checkbox"/> NECROPSIA
Antecedentes: La muestra pertenece a un espécimen sano, sacrificado con fines comparativos.	
Descripción Citológica: Distribucion normal de los islotes dentro del parenquima pancreático. A mayor aumento se aprecia relación nucleo citoplasma adecuado; número de las células alfa y beta	

proporcional. Integridad de la membrana de las células, tamaño de distribución del islote en relación al parénquima adecuado. Endotelio de los capilares adecuado.

DIAGNÓSTICO: Se evidencia regeneración (SANO)



Histología del islote de Langerhans en rata albina sana.



Histología de las células B pancreáticas en rata albina sana.



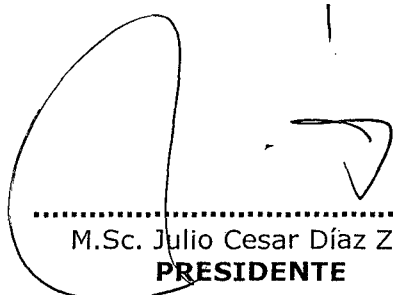
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO

En la ciudad de Huánuco, Cayhuayna, Distrito de Pillco Marca, a los diez días del mes de Diciembre del 2015, siendo las 11:15 horas, de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos se reunieron en el Auditorio de la Facultad, los Miembros integrantes del Jurado examinador para proceder a la Evaluación de Sustentación de la Tesis Titulada: "**SEMILLA DE CHIA (*Salvia hispanica*) EN EL CONTROL DE DIABETES MELLITUS INDUCIDA POR ALOXANO EN RATAS ALBINAS**", de la Bachiller **Helen Judith, CATAY CARRILLO** para **OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**, estando integrado por los siguientes miembros:

- M.Sc. Julio Cesar Díaz Zegarra **(PRESIDENTE)**
- Mg. José Goicochea Vargas **(SECRETARIO)**
- Mg. Ernestina Ariza Avila **(VOCAL)**

Finalizado el acto de sustentación, los miembros del Jurado procedieron a la calificación, cuyo resultado fue Aprobado, con la nota de dieciséis (16), con el calificativo de: Bueno.

Con lo que se dio por finalizado el proceso de Evaluación de Sustentación de Tesis. Siendo a horas 12:15, en fe de la cual firmamos.


.....
M.Sc. Julio Cesar Díaz Zegarra
PRESIDENTE


.....
Mg. José Goicochea Vargas
SECRETARIO


.....
Mg. Ernestina Ariza Avila
VOCAL