

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL
DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de
Bombyx mori L. “gusano de seda” en ratas
hiperglucémicas. Ayacucho, 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE ECOLOGÍA Y
RECURSOS NATURALES

Presentado por la:
Bach. RUIZ TORRES, Faraje Madeleyne

AYACUCHO – PERÚ
2018

A mis queridos padres Jeremías,
Emilia, hermanos, amigos y
profesores por el gran apoyo
brindado.

AGRADECIMIENTO

A la Tricentennial Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, cuna del saber.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Biología y a la plana de docentes por sus valiosas enseñanzas.

Al Blgo. César Justo Rodolfo Vargas asesor del presente trabajo de investigación por sus orientaciones y planificación del presente trabajo de investigación.

Al Dr. Q.F. Emilio Ramírez Roca Coasesor del presente trabajo de investigación.

Al Blgo. Reynan Cóndor por su apoyo en el análisis estadístico de datos.

A mis amigos y amigas Mariana, Misael, Rosely por ayudarme en la ejecución de la tesis en la parte experimental.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|---|------|
| DEDICATORIA | iii |
| AGRADECIMIENTO | v |
| ÍNDICE GENERAL | vii |
| ÍNDICE DE TABLAS | ix |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xi |
| ÍNDICE DE ANEXOS | xiii |
| RESUMEN | xv |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. MARCO TEÓRICO | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. Marco conceptual | 4 |
| 2.3. Glucemia o glucosa | 5 |
| 2.4. Metabolismo de la Glucosa | 5 |
| 2.5. Diabetes mellitus | 6 |
| 2.5.1. Tipos de diabetes | 6 |
| 2.5.2. Diabetes tipo 1 o insulino dependiente | 6 |
| 2.5.3. Diabetes tipo 2 no insulino dependientes | 7 |
| 2.5.4. Insulina | 7 |
| 2.5.5. Biosíntesis de la insulina | 7 |
| 2.5.6. Niveles adecuados de la glucosa | 9 |
| 2.6. <i>Bombyx mori</i> L. “gusano de seda” | 9 |
| 2.6.1. Fisiología digestiva del <i>Bombyx mori</i> L. | 10 |
| 2.6.2. Clasificación taxonómica del <i>Bombyx mori</i> L. | 11 |
| 2.6.3. Ciclo biológico de <i>Bombyx mori</i> L. | 11 |
| 2.6.4. Aplicaciones terapéuticas de <i>Bombyx mori</i> L. | 12 |
| 2.7. La morera | 13 |
| 2.7.1. Clasificación de la morera | 14 |
| 2.7.2. Clasificación taxonómica de <i>Morus alba</i> | 14 |
| 2.7.3. Contenido de 1-deoxinojirimicina en <i>Morus alba</i> | 15 |
| 2.7.4. Mecanismo de acción de 1-deoxinojirimicina en gusano de seda | 15 |
| 2.7.5. Composición química de <i>Bombyx mori</i> L. | 16 |
| 2.7.6. Inhibidores de la α -glucosidasa | 17 |
| 2.8. <i>Rattus norvegicus</i> “ratas albinas” | 17 |

| | |
|---|----|
| 2.8.1. Clasificación taxonómica de <i>Rattus norvegicus</i> | 18 |
| 2.8.2. Valores normales de glucosa sanguínea en ratas | 18 |
| 2.8.3. Inducción de diabetes mellitus en ratas | 18 |
| 2.9. Aloxano | 19 |
| 2.10. Glibenclamida. | 20 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 21 |
| 3.1. Ubicación de la zona de estudio | 21 |
| 3.2. Ubicación | 21 |
| 3.3. Población y muestra | 21 |
| 3.4. Instrumentos y materiales | 22 |
| 3.5. Metodología y diseño experimental | 22 |
| IV. RESULTADOS | 25 |
| V. DISCUSIÓN | 31 |
| VI. CONCLUSIONES | 37 |
| VII. RECOMENDACIONES | 39 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | 41 |
| ANEXOS | 45 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1 Duración del ciclo biológico | 11 |
| Tabla 2 Valores promedios de glucosa sanguínea en ratas luego de la inducción y post tratamiento de hiperglucemia | 26 |
| Tabla 3 Nivel promedio de glucosa (mg/dL) y desviación estándar en sangre de ratas con inducción de diabetes por Aloxano y post-tratamiento a las 16 h | 28 |
| Tabla 4 Análisis de varianza (ANOVA) | 47 |
| Tabla 5 Comparaciones en parejas de Tukey con una confianza de 95% | 47 |
| Tabla 6 Formato de recolección de datos para los niveles de glucosa | 48 |
| Tabla 7 Formato de recolección de datos para la administración de sustancia a ensayar | 49 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | Pág. |
|-----------|---|------|
| Figura 1 | Estructura química de la molécula de insulina | 7 |
| Figura 2 | Biosíntesis de la molécula de insulina | 8 |
| Figura 3 | Homeostasis de la glucosa mediante la liberación de insulina | 9 |
| Figura 4 | Morfología de larva de gusano de seda del quinto instar | 10 |
| Figura 5 | Ciclo biológico de <i>Bombyx mori</i> “gusano de seda” | 12 |
| Figura 6 | Comparación del contenido de 1-Deoxinojirimicina en los frutos de morera, hojas de morera y gusanos de seda | 15 |
| Figura 7 | Liofilizado del gusano de seda que actúa como inhibidor de la α -glucosidasa | 16 |
| Figura 8 | <i>Rattus norvegicus</i> “rata albina” | 18 |
| Figura 9 | Estructura química del Alozano | 19 |
| Figura 10 | Mecanismo de acción de glibenclamida | 20 |
| Figura 11 | Valores promedio de glucosa sanguínea en ratas a las 16 h post- tratamiento | 27 |
| Figura 12 | Comparación de los 3 tratamientos de polvo de gusano de seda de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg vs glibenclamida a las 16h | 29 |
| Figura 13 | Variación en el tiempo de los niveles de glucosa en sangre de ratas inducidas a diabetes con Alozano y sometidos a distintos tratamientos | 30 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | Pág. |
|--------------------------------|------|
| Anexo 1 Tablas | 47 |
| Anexo 2 Fotografías | 50 |
| Anexo 3 Matriz de consistencia | 57 |

RESUMEN

Es poca la información del estudio de polvo de “gusano de seda” en el tratamiento de la diabetes por su acción hipoglucemiante; por tal motivo se realizó el presente trabajo de investigación teniendo como objetivos determinar la dosis óptima del polvo de larvas de *Bombyx mori* en ratas hiperglucémicas y Comparar el efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de *Bombyx mori* con respecto a un fármaco de referencia (Glibenclamida), a través de la determinación de glucosa sanguínea en ratas hiperglucémicas. realizándose las pruebas de ensayo en el laboratorio de Farmacia y Bioquímica y el laboratorio de Sericultura llevadas a cabo en los meses de marzo – octubre del 2017 siguiendo un modelo experimental en 30 ratas machos siendo estas una especie de mamífero con propósitos científicos por la particularidad que favorece como modelo animal del laboratorio, debido a su fácil manipulación se les indujo a diabéticas con un producto químico “Aloxano” preparado a una concentración de 135 mg/Kg. Posteriormente se tomaron muestras de sangre extraída de la cola de las ratas a las 0, 2, 4 y 16 h luego de la administración del polvo de larvas de gusano de seda respectivamente. Se determinó el efecto hipoglucemiante utilizando tres concentraciones (25, 50 y 100 mg/Kg) de polvo de larvas de gusano de seda. Se midió la evolución temporal de la glucemia tras la administración. No obstante, los resultados fueron favorables. El polvo de gusano de seda mostro ser normoglucémico. Los resultados mostraron que el tratamiento con el polvo de larvas de gusano de seda a una concentración de 50 mg/Kg presenta una actividad normoglucemica significativa (97.7 mg/dL) a las 16 h después de administrada. Lo que no sucedió con los Grupos 25 y 100 mg/Kg (242 y 242.5 mg/dL respectivamente). Se concluye que el polvo de larvas de gusano de seda tiene propiedades normoglucemiante y que su acción no tiene comportamiento dosis-dependiente en el modelo estudiado.

Palabra clave: *Glucemia, fármaco, normoglucemiante*

I. INTRODUCCIÓN

Según la Federación Internacional de la Diabetes (FDI), indica que en todo el mundo existen 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.¹ En el Perú se ha demostrado alrededor de 2 millones de personas afectadas siendo el 90% de la Diabetes Mellitus Tipo 2 (DMT2) y es la décimo quinta causa de muerte. La prevalencia fue 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.²

El mayor porcentaje de personas con DMT2 se ubica en Lima Metropolitana con un 7.6%³ y distribuido en la costa un 3.4%, en la selva 2.5% y en la sierra un 2%. Las estadísticas hacen referencias a la situación alarmante en las que se ubica esta enfermedad considerada como una de las primeras cinco causas de muerte a nivel mundial. Esta enfermedad, se caracteriza por la insuficiencia absoluta o relativa de la secreción de insulina por el páncreas y por la resistencia de la misma en los tejidos, ocasionando un desequilibrio del metabolismo de carbohidratos, lípidos y proteínas.³ Una alternativa son los remedios a base de plantas que se han utilizado en la práctica médica durante muchos años en países de Asia oriental y en aproximadamente un 80% de los tratamientos médicos en los países en desarrollo. En la última década el uso de suplementos de plantas medicinales se ha incrementado notablemente, en especial la corteza de la raíz del árbol de la morera (género *Morus*) que tiene propiedades hipoglucemiantes. El gusano de seda *Bombyx mori*, al alimentarse exclusivamente de las hojas de morera, también presenta esta característica.

El presente trabajo de investigación a partir de los antecedentes presentados constituye una alternativa de tratamiento no farmacológico de una patología. El

polvo de *Bombyx mori* ha sido obtenido por un proceso de liofilización con el cual se garantiza la integridad de los principios activos y se corrobora el efecto de disminución de los niveles de glucosa en sangre. Se ha encontrado la actividad farmacológica normoglucémica siguiendo un modelo de tipo experimental validado a través del cual se evidencia que la utilización del polvo de *Bombyx mori* sobre ratas hiperglucémicas disminuye notablemente en los niveles de los mismos, lo que se convierte en un aporte o una alternativa de tratamiento que puede ser utilizados por personal de la salud. Médicos, farmacéuticos, biólogos y público en general, de la misma manera se puede considerar como un tema de investigación nuevo que puede ser afrontado por los investigadores, ya que no se conocen efectos nocivos de esta utilización.

En este contexto se plantearon los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar el efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de *Bombyx mori* en ratas hiperglucémicas.

Objetivos específicos

1. Determinar la dosis óptima del polvo de larvas de *Bombyx mori* en ratas hiperglucémicas.
2. Comparar el efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de *Bombyx mori* con respecto a un fármaco de referencia (Glibenclamida), a través de la determinación de glucosa sanguínea en ratas hiperglucémicas.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

La crianza del gusano de seda se remonta como una actividad milenaria de China, donde hace más de 5000 años se desarrolló y que hoy continúan siendo los primeros productores de seda, que progresivamente avanzó hacia Europa, toda Asia etc. y llegó con poco impacto a América Latina, al Perú, llegó a Abancay – Apurímac hacia 1885 y duró su explotación hasta 1930, etapa en que se presenta una enfermedad que diezmó la población sedera, pero quedó demostrado que se podía producir con mejor ventaja comparativa que en sus países de origen, por las excelentes condiciones climáticas que tenemos, actividad que fue reactivada por la nieta del italiano que trajo esta actividad señora profesora Rosa Luna a la finalización de su periodo laboral como docente, actividad que condujo hasta sus últimos días de vida.

Todas las razas criadas hasta hoy han sido derivadas de un gusano silvestre *Bombyx mandarina* perteneciente al mismo género. A pesar de que el gusano de seda *Bombyx mori* posee 28 pares de cromosomas un para más que el *Bombyx mandarina*, ambas especies pueden aparearse y reproducirse.⁴

Estudios determinados mediante un ensayo enzimático *in vitro* del extracto de gusano de seda en ratones BALB/C el efecto de concentración de glucosa sanguínea 30 min. Después de la administración fueron disminuyendo en 54.9 % con dosis de 0.08 g/Kg y 85.1% con una dosis de 0.4 g/Kg, teniendo la capacidad inhibitor eficiente de la actividad alfa-glucosidasa en una dosis dependiente, de inhibir ayudando a reducir postniveles de glucemia.⁵

Según estudios realizados en la actividad anti-hiperglucemiante de las hojas de morera y larvas del gusano de seda, en base a la expresión de los Receptores Activados por Poliferadores de Peroxisomas (PPAR- α) (PPAR- γ) y Lipoproteína Lipasa (LPL) en ratones, mediante la administración oral de una dieta que contenía carbohidratos (maltosa) y los diferentes extractos (Extracto de Larvas

de Gusano de Seda y Extracto de Hojas de Mora). Sin embargo, el ELGS disminuye más que el EHM debido que al alimentarse exclusivamente de las hojas de morera el gusano de seda acumula en su cuerpo 2.7 veces más los alcaloides contenidos en las hojas.⁶

Según estudios demostraron el efecto hipoglucemiante de *Bombyx mori* “gusano de seda” probado en pacientes con DMT2 teniendo efectos positivos gracias a la presencia del alcaloide 1-deoxinojirimicina (DNJ), un potente inhibidor de la α -glucosidasa.⁷

Estudios de la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso de *Abuta grandifolia* a dosis 100, 250 y 500 mg/Kg de peso corporal en ratas con diabetes inducida por Aloxano. Sin embargo las dosis que usaron del extracto acuoso tiene efecto reductor de 100 y 250 mg/Kg las 6 primeras horas, mientras tanto la dosis de 500 mg/Kg tiene efecto reductor desde las 6 h hasta las 72 h.⁸

Estudios determinaron que la actividad hipoglucemiante del extracto acuoso liofilizado de hojas de *Smallanthus sonchifolius* “yacon” a dosis de 19 mg/Kg y 38 mg/Kg de peso corporal, sobre la hiperglucemia inducida en ratas albinas. Presentando actividad hipoglucemiante estadísticamente significativa a las 24 horas post tratamiento a dosis de 38 mg/Kg. Y un menor porcentaje a dosis de 19 mg/Kg.⁹

2.2. Marco conceptual

Aloxano: agente antineoplásico que ocasiona una diabetes permanente por destrucción selectiva de las células β del páncreas. Se utiliza frecuentemente para inducir diabetes experimental en los animales de laboratorio.⁹

Diabetes: La diabetes es una enfermedad crónica, en la que hay un defecto en la fabricación de una hormona, que se llama insulina. Las células del cuerpo no pueden utilizar los azúcares que se toman con los alimentos y éstos comienzan a aumentar en la sangre. Ante un valor igual o superior a los 200 mg/dL (11,1 mmol/l), en cualquier momento del día, acompañado de los síntomas que veremos más adelante, el diagnóstico es claro y no ha lugar a dudas.¹¹

Hipoglucemia: Estado agudo en el que se presentan manifestaciones secundarias a descargas adrenérgicas (sudoración fría, temblor, hambre, palpitaciones y ansiedad), o neuroglucopénicas (visión borrosa, debilidad, mareos) debido a valores subnormales de glucosa, generalmente < 60-50 mg/dL.

Pueden aparecer síntomas sugestivos de hipoglucemia cuando se reducen estados de hiperglucemia sin llegar a descender hasta los 50 mg/dL.

Hiperglucemia: Es el nivel alto de glucosa en la sangre significa que no tiene suficiente insulina en su cuerpo. Un nivel alto de glucosa en la sangre, que también se llama “hiperglucemia”.

Insulina: Es una hormona fabricada por el páncreas específicamente por las células β de los islotes de Langerhans del cuerpo humano, permite que la glucosa de la sangre ingrese a las células para proveerlas de energía,

Páncreas: Es una glándula que está situada debajo del estómago y conectada al tubo digestivo. Tiene dos funciones principales: una la de fabricar los jugos que ayudan en la digestión de los alimentos y la otra, producir diversas hormonas, como la insulina, que ayuda a regular el azúcar (glucosa) en la sangre (glucemia).

En el diabético, tan sólo está afectada la fabricación de insulina.

Prediabetes: Es la fase o periodo previo al diagnóstico clínico de la diabetes. En estos momentos se considera de gran importancia médica, ya que se están haciendo estudios para conocer ese proceso y valorar acciones terapéuticas, en poblaciones predispuestas o de riesgo a desarrollar la enfermedad.¹¹

2.3. Glucemia o glucosa

La glucemia es la cantidad de azúcar o niveles de glucosa en la sangre. La concentración de glucosa plasmática de una persona sana está sometida a un riguroso control. Habitualmente oscila entre 80 y 90 mg/dL de sangre por la mañana antes del desayuno. Esta concentración se eleva hasta 120 a 140 mg/dL en la primera hora después de las comidas, si bien los sistemas de retroalimentación devuelven la glicemia de inmediato a sus valores habituales, casi siempre a las 2 h desde la última absorción de carbohidratos.¹²

2.4. Metabolismo de la Glucosa

La glucosa es un azúcar vital en el metabolismo. El control de su transporte depende de hormonas, como la insulina, glucagón o adrenalina, y su almacenamiento se realiza de forma compacta, en forma de glucógeno. Así, el glucógeno puede hidrolizarse en glucosas, y esta se puede oxidar a piruvato.

El azúcar se almacena de varias formas, y estas se asimilan a la dieta. Sin embargo, los glúcidos únicamente pueden ser absorbidos por el intestino como monosacáridos, y nunca en forma de dímeros o polímeros.

Como resultado de la digestión de los glúcidos asimilables presentes en la dieta, se originan, fundamentalmente glucosa, fructosa y galactosa.¹³

2.5. Diabetes mellitus

La diabetes mellitus es un trastorno heterogéneo definido por la presencia de hiperglucemia. La hiperglucemia en todos los casos se debe a una deficiencia funcional de acción de la insulina. La acción deficiente de la insulina puede deberse a una disminución de su secreción por las células beta del páncreas, una reducción en la respuesta de tejidos blanco a la insulina (resistencia a la insulina), o un aumento en las hormonas contra reguladoras que se oponen a los efectos de la insulina.¹³

La insulina es una hormona proteica segregada, en el hombre y los mamíferos, por las células beta de los islotes de Langerhans, se encarga de controlar la captación, utilización y almacenamiento de nutrientes por las células¹³, su estructura molecular está compuesta por dos cadenas poli peptídicas: alfa con 21 aminoácidos y beta con 30 aminoácidos unidos por puentes disulfuro.¹⁴

La liberación de insulina a la sangre para ejercer su acción endocrina se produce principalmente como respuesta al aumento de glucosa en la circulación. Su concentración en sangre es de 0.4 mg/mL. Después de comidas ricas en carbohidratos, esta cifra puede aumentar 3 a 4 veces, la vida media de la insulina en sangre es de 3 a 4 min. Diariamente el páncreas segrega a la sangre 1 a 2 mg de insulina.¹⁵

2.5.1. Tipos de diabetes

En 1979, el National Diabetes Data Group (NDDG) constituido por un grupo de expertos de la Asociación Americana de Diabetes clasificó la enfermedad en dos grandes grupos Diabetes tipo 1 o insulino dependiente y Diabetes tipo 2 no insulino dependiente y la diabetes gestacional. Esta clasificación fue aceptada por el Comité de Expertos en Diabetes de la Organización Mundial de la Salud.

2.5.2. Diabetes tipo 1 o insulino dependiente

Este tipo de diabetes es consecuencia de la destrucción de origen autoinmune de las células beta pancreáticas. La agresión autoinmune comienza años antes de que fracase la secreción de insulina, de tal modo que cuando se diagnostican la diabetes mellitus, las células beta están dañadas de forma irreversible.¹⁶

Este tipo de diabetes afecta por lo general a individuos menores de 20 años de edad (diabetes de inicio juvenil). Los pacientes presentan después de unos cuantos días o semanas de poliurea, polidipsia y pérdida de peso, con un aumento muy notable en las concentraciones de glucosa en suero. Los cuerpos cetónicos también aumentan debido a la notable carencia de insulina, lo que

suele producir una acidosis grave que pone en peligro la vida (cetoacidosis diabética)¹⁴

2.5.3. Diabetes tipo 2 no insulino dependientes

La diabetes mellitus tipo 2 es más frecuente que la de tipo 1, se presenta más en adultos, se vincula con aumento de la resistencia a los efectos de la insulina en sus sitios de acción, así como una disminución de la secreción de insulina por el páncreas, no se sabe con certeza si la lesión primaria es la liberación anormal de la insulina de la célula del islote o la resistencia a la insulina.

Algunos investigadores establecen la hipótesis de que la resistencia a la insulina quizá sea la lesión primaria, lo cual produce en compensación un incremento en la secreción de insulina que por último no puede ser sostenida por el páncreas. Cuando el páncreas “se agota” y no cubre las demandas de insulina, se produce diabetes clínica.

Con frecuencia (85% de los casos) se vinculan con obesidad, lo cual es otro factor que incrementa la resistencia a la insulina. Para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2 se emplean medidas no farmacológicas y farmacológicas. Las medidas no farmacológicas están orientadas al manejo nutricional y a la actividad física.¹⁷

2.5.4. Insulina

La insulina es una proteína formada por dos cadenas peptídicas A y B de 21 y 30 aminoácidos (aa) unidas, mediante enlaces covalentes, por dos puentes disulfuro, y un puente intracatenario, y es segregada por las células β del islote pancreático.

Su importancia viene determinada por el papel determinante de esta hormona en la homeostasis de la glucemia y su relación con la diabetes mellitus.¹⁸

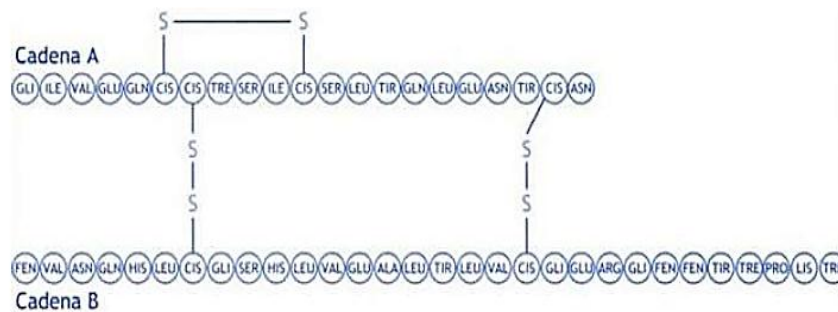


Figura 1. Estructura química de la molécula de insulina¹⁹

2.5.5. Biosíntesis de la insulina

La biosíntesis de esta hormona se realiza a partir de la transcripción-traducción de un gen localizado en el brazo corto del cromosoma 11 (en el hombre). El

polipéptido resultante del proceso es la preproinsulina que consta de: un péptido señal (24 aa), seguido por la cadena B, un péptido conector (péptido C) que contiene 30 aa y finalmente la cadena A. El péptido señal dirige el transporte de la proteína naciente desde los ribosomas hasta el retículo endoplasmático rugoso (RER). Durante esta transferencia, una peptidasa remueve el péptido señal, convirtiendo la preproinsulina en proinsulina. Ésta se mueve a través de la formación de vesículas desde el RER hasta el aparato de Golgi, donde será escindida por dos endopeptidasas, obteniendo: insulina (51 aa, hormona activa) y péptido C.¹⁸

Rápidamente, se forman los gránulos-vesículas de secreción que contienen insulina y péptido C. La insulina gracias a la presencia del zinc formará hexámeros, lo que supone un estado de almacenamiento más maduro y estable. Por último, se da la estimulación de la célula, que por exocitosis segrega hacia la circulación cantidades equimolares de ambos péptidos, así como ciertos residuos de proinsulina.¹⁸

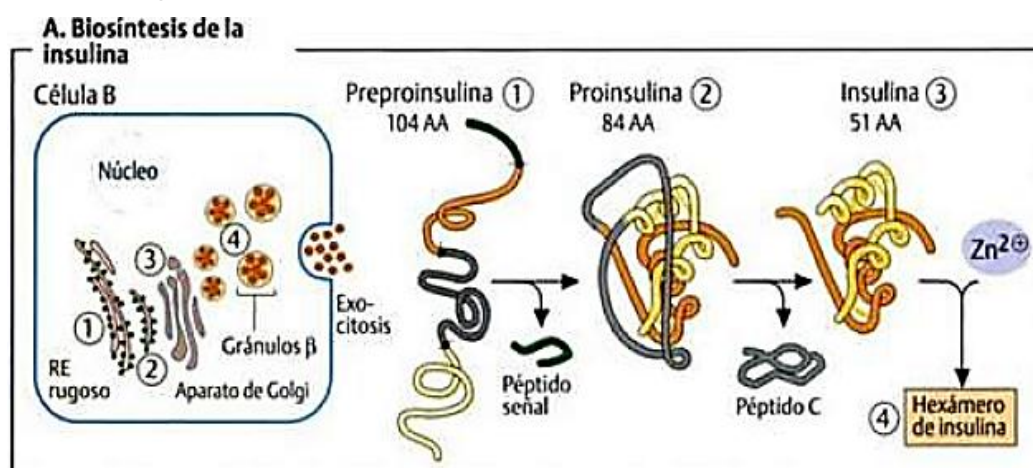


Figura 2. Biosíntesis de la molécula de insulina ¹⁸

La homeostasis de la glucosa refleja un equilibrio preciso entre la producción hepática de glucosa y la captación y utilización periféricas de esta sustancia. La insulina es el regulador más importante de este equilibrio metabólico, pero los efectos de otras vías, como aferencias nerviosas, señales metabólicas y hormonas (el glucagón) generan un control integrado del aporte y la utilización de glucosa.¹⁹ En el estado de ayuno, las concentraciones bajas de insulina incrementan la producción de glucosa al promover la gluconeogénesis y la glucogenólisis hepáticas. El glucagón estimula también la glucogenólisis y la gluconeogénesis por el hígado y la médula renal. Las concentraciones bajas de insulina disminuyen la síntesis de glucógeno, reducen la captación de glucosa en

los tejidos sensibles a insulina y promueven la movilización de los precursores almacenados. En el período postprandial la carga de glucosa incrementa la concentración de insulina y disminuye la de glucagón, lo que tiene como consecuencia inversión de estos procesos.^{20, 21} La mayor parte de la glucosa postprandial es utilizada por el músculo esquelético, efecto que se debe a la captación de glucosa estimulada por insulina.²² Otros tejidos, principalmente el cerebral, utilizan la glucosa de una manera independiente de la insulina.²³

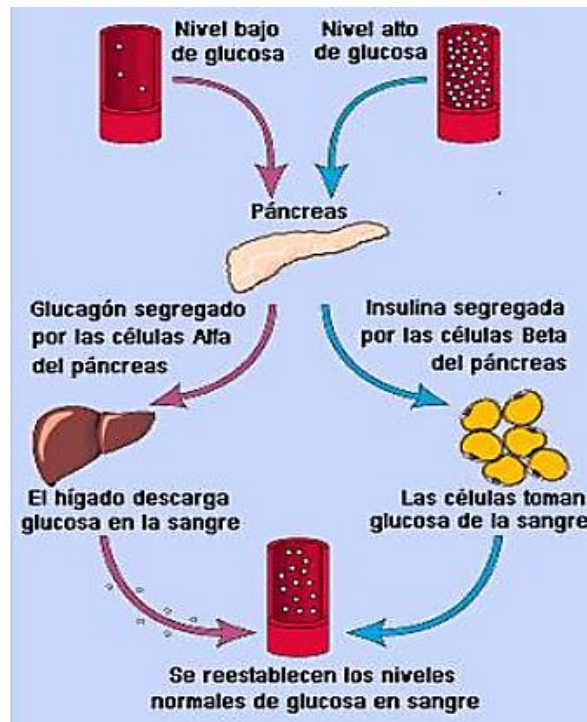


Figura 3. Homeostasis de la glucosa mediante la liberación de insulina²³

2.5.6. Niveles adecuados de la glucosa

Mantener los niveles de glucosa (azúcar) en la sangre dentro de los valores adecuados puede prevenir o retrasar los problemas de salud que surgen por la diabetes²⁴ Los niveles que fija la Asociación Americana de la Diabetes son:

Niveles de glucosa en la sangre recomendados por la ADA

- Antes de comer :80 a 130mg/dL
- 2 horas después de comenzar a comer: menos de 180 mg/dL

2.6. *Bombyx mori* L. “gusano de seda”

El gusano de seda (*Bombyx mori*) es un insecto del orden de los Lepidópteros. A este orden pertenecen las llamadas vulgarmente “polillas” (de hábitos nocturnos, dentro de los cuales se encuentra el gusano de seda) y las “mariposas” (de hábitos diurnos). Es un insecto domesticado, lo que significa que está completamente adaptado a la cría comercial. De hecho, no existe en estado libre

en la naturaleza por haber perdido la capacidad de volar y de sobrevivir en condiciones ambientales extremas.

Es una especie de metamorfosis completa, lo que significa que durante su vida atraviesa por los estados de huevo, larva o gusano, crisálida o pupa y mariposa.

Si bien todos los estados son muy importantes, se va a prestar particular atención al estado de larva. La cría consiste en alimentar a los gusanos, los cuales al entrar en estado de crisálida construirán un capullo, con un único hilo de seda, que es la unidad productiva.²⁵

2.6.1. Fisiología digestiva del *Bombyx mori* L.

Según estudios realizados en *Bombyx mori* “gusano de seda” en diferentes estadios de desarrollo y tejidos mediante el uso de cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa. El contenido de 1-Deoxinojirimicina de larvas de gusanos de seda cambia significativamente con sus etapas de desarrollo. Las larvas macho mostraron una mayor eficiencia de acumulación de 1-Deoxinojirimicina que las hembras y también y que hay una variación entre cepas de gusanos de seda.²⁶

La 1- Deoxinojirimicina está presente en sangre, jugo digestivo y canal alimenticio, ausente en la región de la seda. Además la 1-Deoxinojirimicina no se encuentra en gusanos de seda alimentados con dieta artificial que no contiene hojas de morera. Esto demuestra que los gusanos de seda obtienen 1-Deoxinojirimicina de las hojas de morera; no pudiendo sintetizar la 1-Deoxinojirimicina por sí mismos.

La acumulación y la excreción de 1-Deoxinojirimicina cambian periódicamente durante la etapa larval, no existe 1-Deoxinojirimicina en las larvas recién eclosionadas. Mientras tanto en las larvas del ultimo instar se acumula mayor cantidad en el cuerpo de estas larvas.²⁶

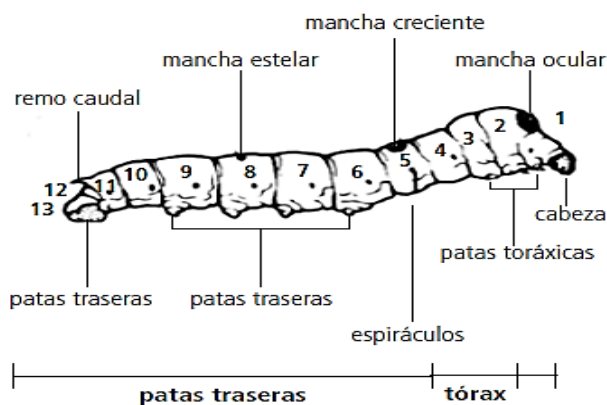


Figura 4. Morfología de larva de gusano de seda del quinto instar²⁵

2.6.2. Clasificación taxonómica del *Bombyx mori* L.²⁵

| | |
|----------|----------------------|
| Reino | : Animalia |
| División | : Artrópoda |
| Clase | : Insecta |
| Orden | : Lepidóptera |
| Familia | : Bombycidae |
| Género | : <i>Bombyx</i> |
| Especie | : <i>Bombyx mori</i> |

2.6.3. Ciclo biológico de *Bombyx mori* L.

El gusano de seda es una larva u oruga de un insecto lepidóptero que tiene metamorfosis completa, atraviesa por los estados de huevo, larva, pupa o crisálida y adulto o mariposa en un periodo de 50 a 55 días. La etapa de huevecillo tiene una duración de siete a 10 días, la etapa larval se divide en dos fases: la primera es la alimentación y el crecimiento que dura de 25 a 30 días y la segunda de construcción de capullo que dura de tres a cuatro días, la etapa de pupa (metamorfosis dentro del capullo) es de 10 a 14 días, y la etapa adulta que se refiere a la salida del capullo, apareamiento, puesta de huevecillo y muerte es de tres a cinco días.²⁷

Tabla 1. Duración del ciclo biológico

| Duración del ciclo biológico | | |
|------------------------------|------------------|--|
| Día | Duración en días | Etapas |
| 0 | 10 | Nacimiento de larvas y comienzo del estadio 1° |
| 10 | 3 | Primer estadio |
| 13 | 1 | Sueño y primera muda de piel |
| 14 | 3 | Segundo estadio |
| 17 | 1 | Sueño y segunda muda de piel |
| 18 | 4 | Tercer estadio |
| 22 | 1 | Sueño y tercera muda de piel |
| 23 | 5 | Cuarto estadio |
| 28 | 1 | Sueño y cuarta muda de piel |
| 29 | 6 | Quinto estadio |
| 35 | 3-4 | Etapa de encapullaje |
| 38-39 | 6-7 | Fin de capullaje |
| 44-45 | | Cosecha de los capullos |

Fuente: Elaboración propia

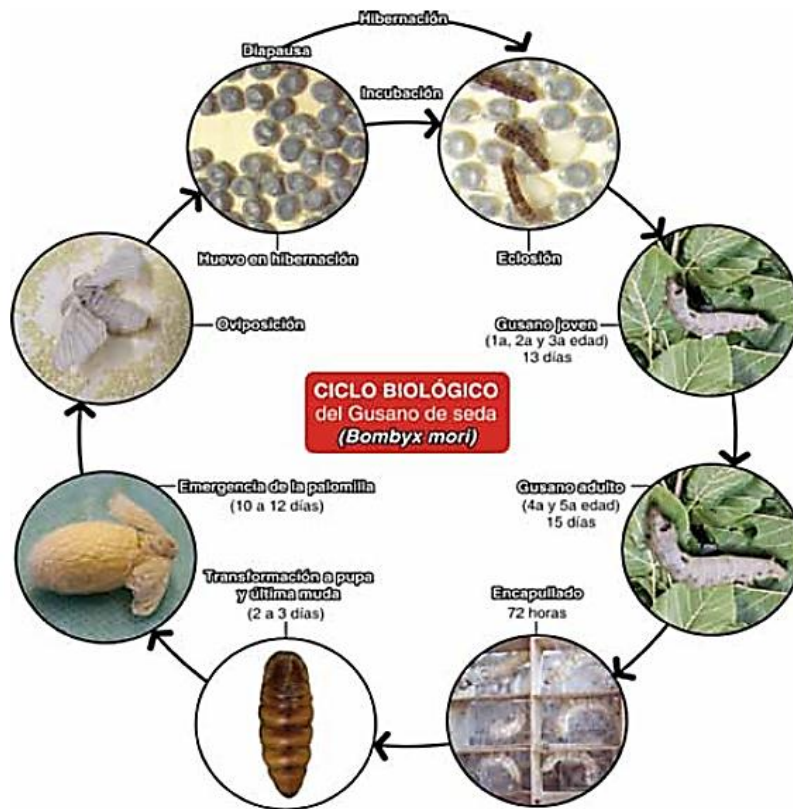


Figura 5. Ciclo biológico de *Bombyx mori* “gusano de seda”²⁷

2.6.4. Aplicaciones terapéuticas de *Bombyx mori* L.

Antes de llegar al intestino delgado, los almidones ingeridos por los humanos son degradados a maltosa y maltotriosa por la enzima amilasa presente en la saliva. Posteriormente son degradados a D-glucosa en el intestino delgado, por la acción de la α -glucosidasa, enzima específica para hidrolizar disacáridos y oligosacáridos con enlaces α (1 - 4). Esto permite la absorción de la D-glucosa a la sangre.²⁸

Actualmente se conoce que existe una clase de alcaloides diseminados en la naturaleza, capaces de inhibir las enzimas intestinales de los mamíferos.²⁹

Esta propiedad se debe a que su estructura es muy similar a los azúcares, sustratos de dichas enzimas³⁰. El poder hipoglucemiante de los iminoazúcares fue descubierto por investigadores de Bayer en el año de 1976, diez años después de la síntesis de la nojirimicina en laboratorio, la cual fue la primera molécula con capacidad de mimetizar un azúcar.³¹

Sin embargo, la nojirimicina no era muy estable por lo que se almacenaba en su forma sintética reducida, la 1- deoxinojirimicina (DNJ). Posteriormente, la DNJ fue descubierta en las raíces de la planta de morera *Morus* sp. y se le dio el nombre de moranolina.

En vista de que el gusano de seda *Bombyx mori* se alimenta principalmente de las hojas de morera, se realizaron estudios sobre los alcaloides presentes en este insecto. El gusano de seda acumula 2.7 veces más DNJ que la morera.³²

El efecto hipoglucemiante del gusano de seda como tratamiento oral, se debe a la 1-deoxinojirimicina (DNJ), alcaloide polihidroxiado que actúa como un inhibidor de la α -glucosidasa. El gusano de seda, procesado y pulverizado, puede ser utilizado en el control de la diabetes mellitus tipo 2, como alternativa ante productos sintéticos, por su efectividad comprobada.³¹

Otra aplicación terapéutica es la versatilidad de la fibroína como biomaterial la hace apta para cualquier tipo de aplicación en ingeniería tisular. Sin embargo, las aplicaciones que están más maduras y cercanas a su aplicación final lo son en el campo de la regeneración de hueso, cartílago y ligamentos. En este sentido, una aplicación muy interesante es la reconstrucción de ligamento cruzado de la rodilla mediante la elaboración de un cordón de fibras de seda que posteriormente, se siembran con células mesenquimáticas de la médula ósea que se diferencian a tejido de ligamento, ofreciendo una resistencia mecánica muy superior a la de otros materiales orgánicos y una gran incompatibilidad.³³

La regeneración de tejidos usando células, andamios y factores de crecimiento apropiados es un enfoque clave en las terapias de regeneración de tejido o de órganos. La fibroína de la seda ha demostrado que puede ser utilizada eficazmente como un material de andamiaje en estos tratamientos. Las fibras de seda se obtienen de diversas fuentes animales.³⁴

2.7. La morera

La morera es una planta multipropósito originaria de china. Durante más de 5000 años. Ha sido el único alimento del gusano de seda debido a sus excelentes cualidades nutricionales, entre las que se destaca su alto contenido de proteína y energía. Además es utilizada en varias regiones del mundo para la alimentación del ganado.

Las moráceas, familia botánica a la que pertenece las breves, los higuerones y abraza palos son uno de los grupos más diversos de árboles en los bosques húmedos tropicales.

Dentro de la familia de las moráceas, hay gran cantidad de variedad perfectamente definidas. Pero se emplea únicamente las de la variedad blanca y en algunos casos la negra.³⁵

2.7.1. Clasificación de la morera

- La morera blanca: *Morus alba*

Comúnmente se conoce como salvaje o silvestre, sus hojas son finas, ovaladas, ásperas al tacto, de color verde brillante bastante uniforme, la que se utiliza mayormente en la alimentación de los gusanos de seda, siendo esta especie mayor utilizada por el contenido de 1-Deoxinojirimicina, para el tratamiento de enfermedades como la diabetes, obesidad, colesterol e inflamaciones.

Las ramas son flexibles, muy numerosas, rugosas y algo espinosas. Tienen el inconveniente que sus hojas son chicas y endurecen rápidamente perdiendo sus cualidades alimentarias. Los estudios sostienen que los gusanos alimentados con estas hojas producen 10% más de seda.

- La morera variedad Kanva II : *Morus indica*

Esta variedad presenta características de ser un pequeño árbol de rápido crecimiento con poca fruta pero en su área natural ha sido ampliamente cultivado ya que las hojas son alimento para gusanos de seda. Se ha plantado en Tanzania, pero es dudoso distinguido de *Morus alba*. Esta especie tiene el mismo hábito pero es generalmente cultivado como un arbusto.

Las hojas, generalmente más pequeñas, tienen puntos largos, un borde profundamente cortado y son más ásperos con pequeñas diferencias en las flores.

Sirve como alimentos (frutas), forraje (hojas), sombra, ornamentales, conservación del suelo, cerca viva, cortavientos.

Por lo general, un arbusto bien ramificado o pequeño árbol, 2-3 m.

CORTEZA: áspero gris marrón.

HOJAS: ovaladas, punta larga y delgada, borde ampliamente y desigualmente dentada, áspera arriba, alrededor de 5-12 cm de largo.

FLORES: flores masculinas y femeninas separadas, esbeltas espigas colgantes.

FRUTA: rojo oscuro, pequeño, pero hasta 2 cm, cilíndrico.³⁵

2.7.2. Clasificación taxonómica de *Morus alba*³⁵

Phylum : Fanerógamas

Subphylum : Angiosperma

Clase : Dicotiledónea

Subclase : Apetala

Familia : Moráceas

Género : *Morus*

Especies : *Alba*, *Nigra*, *Indica*, *Bombycis*, *Ihou*, *Rubra*, etc.

2.7.3. Contenido de 1-deoxinojirimicina en *Morus alba*

1-Deoxinojirimicina (DNJ)

1-deoxinojirimicina (DNJ) es una sacarosa típica natural, con prometedora actividad biológica *in vivo* (Inhibición de las alfa-glucosidasas intestinales).⁴

La 1-deoxinojirimicina también llamada moranolina esta exclusivamente presente en las hojas de la morera blanca.³⁶

Algunos alcaloides contenidos en las hojas de morera son inhibidores potentes de la α -glucosidasa digestivas de los mamíferos, pero no inhibidores de las glucosidasas del intestino medio del gusano de seda, lo que sugiere que el gusano de seda posee enzimas especialmente adaptadas para alimentarse de las hojas de morera.

Inicialmente fue encontrada en las raíces de morera y recientemente se encontró que existe en gran abundancia en las larvas de los gusanos de seda.

Una vez que esta estructura fue identificada se comparó su contenido y el de otros alcaloides tanto en frutos de morera, hojas de morera y gusano de seda en polvo. La molécula DNJ fue encontrada en la más alta proporción en el gusano de seda en polvo, seguido por los frutos de morera y por último en las hojas.⁴

Contenido de DNJ en Materiales de Sericultura.

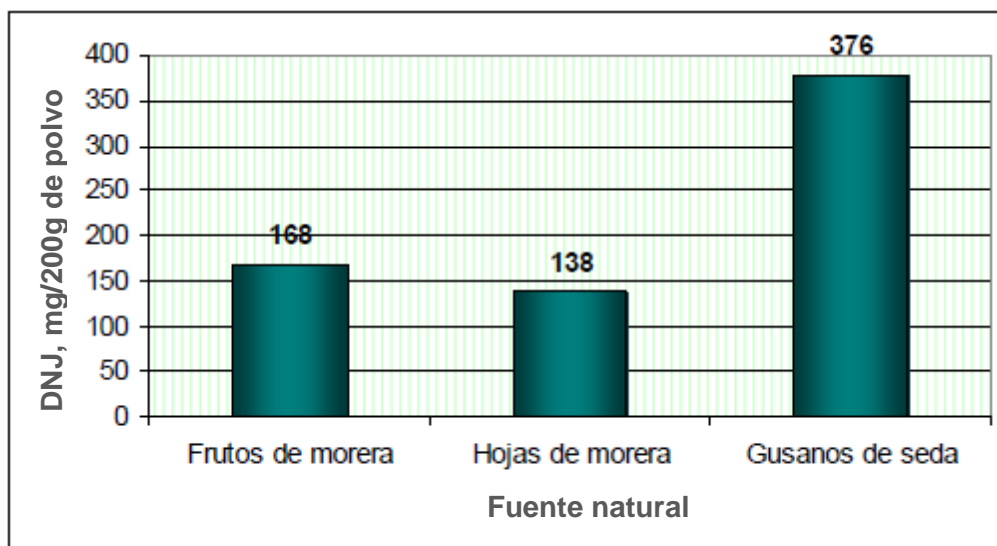


Figura 6. Comparación del contenido de 1-Deoxinojirimicina en los frutos de morera, hojas de morera y gusanos de seda³⁷

2.7.4. Mecanismo de acción de 1-deoxinojirimicina en “gusano de seda”

Las larvas liofilizadas en la última fase larval son las más efectivas para bajar la concentración de glucosa en la sangre hasta niveles del 67%.

El mecanismo de acción del gusano de seda liofilizado para el control de diabetes funciona así: cuando los disacáridos son digeridos por el cuerpo humano, estos se transforman en monosacáridos dentro del intestino y la α -glucosidasa es una de las enzimas involucradas en este proceso de transformación de disacáridos en monosacáridos; estos monosacáridos son los que pueden pasar directamente a la sangre y elevar los niveles de azúcar. Es allí, en ese proceso, en donde el gusano de seda liofilizado trabaja como inhibidor de la α -glucosidasa impidiendo que los disacáridos se transformen en monosacáridos y pasen directamente a la sangre, controlando así los niveles de azúcar²⁶

La molécula responsable de la acción del gusano de seda liofilizado se encontró que es la 1-deoxinijirimicina (DNJ) que es la que ejerce la mayor acción y efectos en la disminución de los niveles de glucosa en la sangre. Esta es una molécula muy similar a la molécula de la glucosa con una característica muy especial y es que contiene nitrógeno dentro de su estructura. Inicialmente fue encontrada en las raíces de la morera y recientemente se encontró que existe en abundancia en las larvas de gusanos de seda.³⁷



Figura 7. Liofilizado del gusano de seda que actúa como inhibidor de la α -glucosidasa³⁷

2.7.5. Composición química de *Bombyx mori* L

La composición química de la hoja de la morera es desde el punto de vista cualitativo similar a aquel del cuerpo de la larva de *Bombyx mori* y en tal proporción de poder ser fácilmente digerible y asimilable. Las principales sustancias presentes son: agua, celulosa, materia colorante, sustancias proteicas y/o nitrogenadas, sustancias resinosas, grasas y ácido fólico.

Con el progreso del estado vegetativo, sufren variaciones en cantidad y calidad con una gradual disminución del agua, de las sustancias proteicas, de la grasa y un aumento de la celulosa que, sucesivamente se transforma en lignina del todo indigerible. Sustancias proteica y/o nitrogenada son aquellas que particularmente son utilizadas por el gusano para la nutrición y su consecuente desarrollo y la formación de la sustancia sérica.²⁵

El agua está presente en una proporción que va del 80% en el primer estado vegetativo, al 65–70% en el período final de crianza. Los otros componentes, al analizar la sustancia seca en este período están presentes las siguientes cantidades: proteínas del 32 al 25%, grasas del 5 al 3%, celulosa del 9 al 10–11%, otras sustancias no nitrogenadas del 45 al 52%, cenizas del 7 al 8%.²⁵

2.7.6. Inhibidores de la α -glucosidasa

Son enzimas digestivas unidas a las membranas de las células del tracto digestivo que digieren los hidratos de carbono procedentes de la hidrólisis del almidón. Entre estas enzimas están el alfa (1,6-glucosidasa, la maltasa y la glucoamilasa) La inhibición de la alfa-glucosidasa se utiliza para reducir los niveles postprandiales de glucosa en sangre en los pacientes con Diabetes Mellitus tipo 2.

Actúan compitiendo con las enzimas digestivas, situadas en el borde de las vellosidades intestinales, que actúan en el desdoblamiento de la sacarosa, la maltosa y otros oligosacáridos en monosacáridos (glucosa, fructosa, galactosa). El resultado es un retraso de la digestión de los hidratos de carbono, con reducción de los picos posprandiales. También disminuyen la secreción de polipéptidos intestinales. Indicadas en la corrección de hiperglucemias postprandiales, solas o con insulinas o sulfonilureas.³⁸

2.8. *Rattus norvegicus* “ratas albinas”

La *Rattus norvegicus*, rata albina, es una especie de mamífero con propósitos científicos por la particularidad que le favorece como modelo animal del laboratorio debido a sus características desde el punto de vista anatómico, fisiológico y genético; Su periodo de reproducción es de dos meses pudiendo parir entre 5-12 crías son de habito nocturno y curioso, se alimentan de vegetales, es omnívoro.

El promedio de sus pesos de un macho adulto es de 250-520gr. mientras que las hembras son más pequeñas.³⁹



Figura 8. *Rattus norvegicus* “rata albina”

2.8.1. Clasificación taxonómica de *Rattus norvegicus*³⁹

| | |
|-----------|----------------------------|
| Reino | : Animalia |
| Phylum | : Chordata |
| Clase | : Mammalia |
| Orden | : Rodentia |
| Sub orden | : Myomorpha |
| Familia | : Muridae |
| Género | : <i>Rattus</i> |
| Especie | : <i>Rattus norvegicus</i> |

2.8.2. Valores normales de glucosa sanguínea en ratas

La glucosa en la sangre de ratas normales, sanas varía entre 50 a 135 mg/dL. Como con todos los mamíferos, la glucosa en la sangre depende del tipo de alimentos consumidos y el tiempo desde la última comida. Los niveles de glucosa aumentan cuando se consume azúcar (incluyendo hidratos de carbono). Azúcares se descomponen en sus componentes básicos, glucosa. Insulina de páncreas en las ratas sanas se utiliza para romper aún más la glucosa en elementos utilizables.⁴⁰

• Control de glucosa en la sangre de ratas

Sólo una pequeña gota es necesario para determinar la glucosa en la sangre. Para obtener la disminución en las ratas, obtener una muestra de sangre desde una vena safena (pata trasera), la vena de la cola o una uña del pie. Usar un glucómetro para medir la glucosa en la sangre.³⁴

2.8.3. Inducción de diabetes mellitus en ratas

La experimentación animal tiene una larga historia en el campo de la investigación de la diabetes.³⁵

Esto se fundamenta en que existe mucha semejanza en las manifestaciones clínicas y metabólicas de la diabetes experimental y la diabetes humana.⁴¹

La inducción de la diabetes experimental usando productos químicos que destruyen selectivamente las células β pancreáticas es muy conveniente y simple de utilizar. Por esta razón, el Aloxano, se utiliza extensamente para inducir diabetes experimental en animales.⁴²

Los fenómenos consecutivos a la inyección del Aloxano pasan por tres fases y se traducen en oscilaciones del perfil glicémico.

En las primeras cuatro horas inmediatas a la inyección, se comprueba un aumento de la glicemia que es seguido en la segunda fase por un descenso progresivo y prolongado de la misma. En la tercera fase se manifiestan los signos de la diabetes: hiperglicemia, glucosuria, cetosis, los cuales se completan, en general, después de las 48 horas de la inyección de Aloxano.⁴¹

El aloxano afecta directa y selectivamente las células β y sólo cuando se emplean dosis excesivas o repetidas produce lesiones en otros órganos, especialmente en el hígado y en el riñón.

2.9. Aloxano

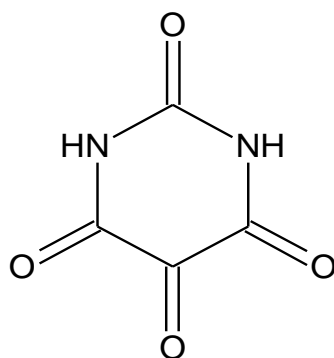


Figura 9. Estructura química del Aloxano

2,4,5,6 (1H,3H)-Pyrimidinetetrone, 2,4,5,6-Tetraoxypyrimidine, 5,6-Dioxyuracil, también conocido como Aloxano es una sustancia química capaz de provocar diabetes en animales de experimentación. Aunque desde hace años se conoce la actividad diabetogénica de esta sustancia el mecanismo de acción es aún desconocido algunas evidencias indican que el efecto del Aloxano es mediado por una interacción a nivel de membrana en la célula beta. Otros estudios en los que se ha utilizado aloxano marcada con ^{14}C revelan que hay una alta afinidad de esta sustancia por la membrana celular, lo que ocasiona alteraciones en su permeabilidad, lo cual puede explicar, en parte la necrosis selectiva observada en las células beta del islote pancreático, Se ha postulado que el Aloxano

produce 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 ADN.⁹

2.10. Glibenclamida

Es un hipoglucemiante, antidiabético oral derivado de sulfonilurea. Actúa en dos niveles, ya que estimula la secreción de insulina por parte de las células beta de los islotes de Langerhans en el páncreas, mediante la unión selectiva con un receptor situado en los canales de potasio de las membranas de dichas células, esto provoca el cierre de los canales de potasio y la apertura automática de los de calcio. Este aumento en la concentración citoplasmática de calcio es el responsable de la liberación de insulina. Glibenclamida potencia los efectos tisulares de la insulina incrementando la penetración de la glucosa en el interior de las células. Después de su administración oral es absorbida rápidamente (4 horas). Su duración de acción es de 24 horas aproximadamente. El grado de unión a proteínas plasmáticas es del 90%. Metabolizado en el hígado, siendo eliminado con las heces y vía biliar (50%) y con la orina (50%).³⁸

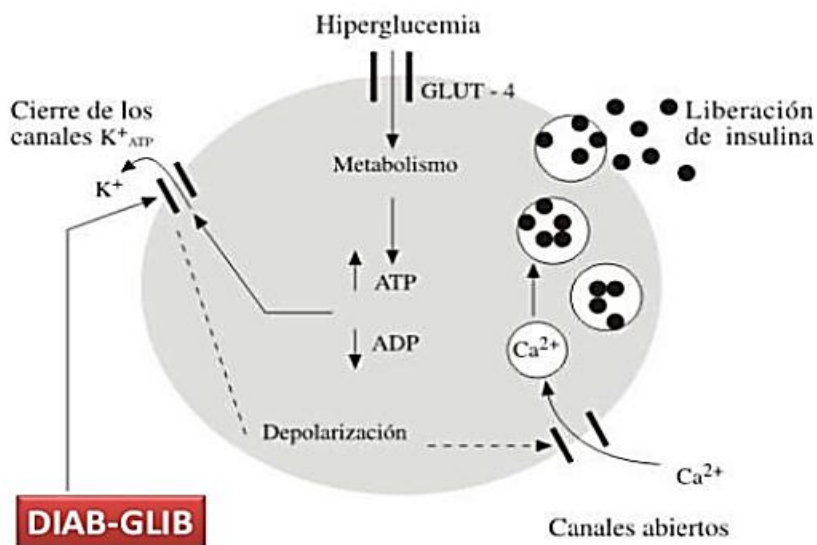


Figura 10. Mecanismo de acción de glibenclamida

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

Las larvas de *Bombyx mori* L. “gusano de seda”, se criaron en el Laboratorio de Sericultura del Área Académica de Ecología y Recursos Naturales, Facultad de Ciencias Biológicas y las ratas procedentes del Bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la Facultad de Medicina Veterinaria. La parte experimental se desarrolló en el Laboratorio de Farmacia y Bioquímica y en el Laboratorio de Sericultura de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

3.2. Ubicación

3.2.1. Ubicación política

Región : Ayacucho

Provincia : Huamanga

Distrito : Ayacucho

3.3. Población y muestra

3.3.1. Muestra

- Larvas de *Bombyx mori* “gusano de seda” del tercer día del quinto instar, producto de 4 posturas de huevos de la variedad gaby.
- Ratas albinas macho de la cepa Holtzman de 3 meses de edad.

3.3.2. Criterios de inclusión

- Larvas seleccionadas de acuerdo al peso (2 g) y longitud (12 cm).
- Larvas del tercer día del quinto instar.

3.3.3. Criterios de exclusión

- Larvas con alteraciones morfológicas.
- Larvas con alteraciones de color y disminuidas en longitud.

3.3.4. Variables independientes

- Concentraciones del polvo de *Bombyx mori* L.

3.3.5. Variables dependientes

- Niveles de glucosa en ratas.

3.4. Instrumentos y materiales

Material biológico

- Larvas de *Bombyx mori* L. “gusano de seda” del 5° estadio criadas en el Laboratorio de Sericultura en los meses de marzo-abril del 2017.
- 30 ratas machos de 3 meses de edad cepa Holtzman con un peso promedio (220 ± 10 g)

3.5. Metodología y diseño experimental

3.5.1. Crianza y manejo de *Bombyx mori* L.

- Se incubaron 4 posturas de huevos de la variedad Gaby (1200 huevos) a temperatura entre 22-24 °C y humedad 75% hasta la eclosión de los huevos.
- Se alimentó con hojas de morera a las orugas recién nacidas, cambio de cama, desinfección, crianza y manejo de las larvas, control de muda a partir de las larvas 1° estadio, hasta obtener las larvas 5° estadio, y se recolecto.

3.5.2. Preparación del polvo de “gusano de seda”.

- Se conservaron las larvas a -20°C
- Se utilizó 200 g de larvas las cuales fueron liofilizadas.
- Se procedió a moler en un mortero hasta obtener el polvo.
- Se tamizó el polvo a través de una malla de nylon.
- Se realizó la preparación de las diferentes dosis del polvo de *Bombyx mori* L. 25 mg/Kg (dosis baja) 50 mg/Kg (dosis medio) y 100 mg/Kg (dosis alta).

3.5.3. Régimen de alimentación de las ratas

Recibieron agua a libertad y una dieta balanceada especialmente para roedores y alimentos dulces. Fueron aclimatadas por un periodo de 20 días, antes del inicio de la experimentación bajo condiciones estándar de fotoperiodo (12 h luz/ 12 h oscuridad), temperatura ambiental ($24 \pm 2^\circ\text{C}$); previo al inicio del experimento se procedió al ayuno durante 12 h. con libre disponibilidad de agua.

3.5.4. Hiperglicemia inducida con Aloxano en ratas ⁴³

- Para la administración de los tratamientos se dividieron en 6 grupos de 5 unidades experimentales siendo un total de 30 ratas, los cuales fueron marcados con violeta de genciana.
- Previamente se sometió a ayuno durante 12 h.
- A 5 grupos se les administró Aloxano con una concentración de 135mg/Kg. Después de 24 h. se determinaron los niveles de glucosa sanguínea

- Se tomó en consideración, animal hiperglucémicos con nivel de glucosa ≥ 180 mg/dL.
- Se procedió a administrar el polvo de gusano de seda de 25, 50 y 100 mg/Kg, glibenclamida siendo este el tiempo 0.
- Los niveles de glucosa en sangre fueron medidos a las 0, 2, 4 y 16 h después de la administración oral de los tratamientos.

3.5.5. Medición de glucosa

Fundamento

- La forma más fácil de detectar la diabetes es medir la cantidad de azúcar en la sangre antes de que el animal coma o beba algo por la mañana.

Procedimiento

- Se sujetó firmemente la cola para su desinfección con alcohol a 96° y se pinchó el extremo de la misma presionando hasta que se forme una gota que se pudo colocar en la tira reactiva
- Se evaluaron los niveles de glucosa antes y después de cada tratamiento administrado.

Lectura

- Para la lectura de los valores de sangre en las ratas se utilizó un glucómetro digital TRUE METRIX y tiras reactivas TRUE METRIX del Laboratorio NIPRO

Valores referenciales de glucosa sanguínea en ratas

Hipoglucémicos: < 50 mg/dL

Normal: 50-135 mg/dL

Hiperglucémicos: > 180

3.5.6. Administración de tratamiento del polvo de larvas de “gusano de seda”

- Se administró vía oral (2.2-2.3 ml) del polvo de larvas de gusano de seda al grupo 4, 5 y 6 a concentraciones de 25, 50 y 100 mg/Kg
- Teniendo en cuenta el siguiente diseño experimental:
 - Grupo 1: Testigo
 - Grupo 2: Aloxano 135 mg/Kg
 - Grupo 3: Aloxano 135 mg/Kg + Glibenclamida
 - Grupo 4: Aloxano 135 mg/Kg + polvo de gusano 25 mg/Kg de peso corporal
 - Grupo 5: Aloxano 135 mg/Kg + polvo de gusano 50 mg/Kg de peso corporal
 - Grupo 6: Aloxano 135 mg/Kg + polvo de gusano 100 mg/Kg de peso corporal

3.5.7. Diseño experimental

- El tipo de diseño fue de Bloques al Azar.

IV. RESULTADOS

Tabla 2. Valores promedios de glucosa sanguínea en ratas luego de la inducción y post tratamiento de hiperglucemia.

| Glucemia inducida * (Aloxano 10%) | Tratamiento | Glucemia post-tratamiento | | | |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|-------|-------|-------|
| | | 0 h | 2h | 4h | 16h |
| 74.3** | Blanco | 73.0 | 70.0 | 69.0 | 82.8 |
| 442.0 | Aloxano | 444.7 | 448.3 | 429.7 | 593.0 |
| 401.3 | Glibenclamida | 322.7 | 228.3 | 142.0 | 191.3 |
| 326.0 | Polvo de gusano de seda 25 mg/Kg | 382.3 | 178.0 | 166.3 | 242.0 |
| 305.7 | Polvo de gusano de seda 50 mg/Kg | 334.3 | 150.3 | 84.7 | 97.7 |
| 532.0 | Polvo de gusano de seda 100 mg/Kg | 542.5 | 232.5 | 104.0 | 242.5 |

* Concentración de glucosa sanguínea después de 24 h. de la administración de Aloxano al 10% (135mg/Kg)

** Grupo blanco no fue administrado con Aloxano debido que fue el control respecto a los demás tratamientos.



Figura 11. Valores promedio de glucosa sanguínea en ratas a las 16 h post-tratamiento.

Tabla 3. Nivel promedio de glucosa (mg/dL) y desviación estándar en sangre de ratas con inducción de diabetes por Aloxano y post- tratamiento a las 16 h.

| Tratamiento | Media | DesvEst. | Mínimo | Máximo |
|---|--------------|-----------------|---------------|---------------|
| Blanco | 82.75 | 9.91 | 72 | 96 |
| Aloxano | 593 | 9.9 | 586 | 600 |
| Glibenclamida | 191.3 | 88 | 109 | 284 |
| Polvo de gusano de seda 100mg/kg | 243 | 234 | 64 | 574 |
| Polvo de gusano de seda 25mg/kg | 242 | 226 | 76 | 499 |
| Polvo de gusano de seda 50mg/kg | 97.7 | 29.7 | 64 | 120 |

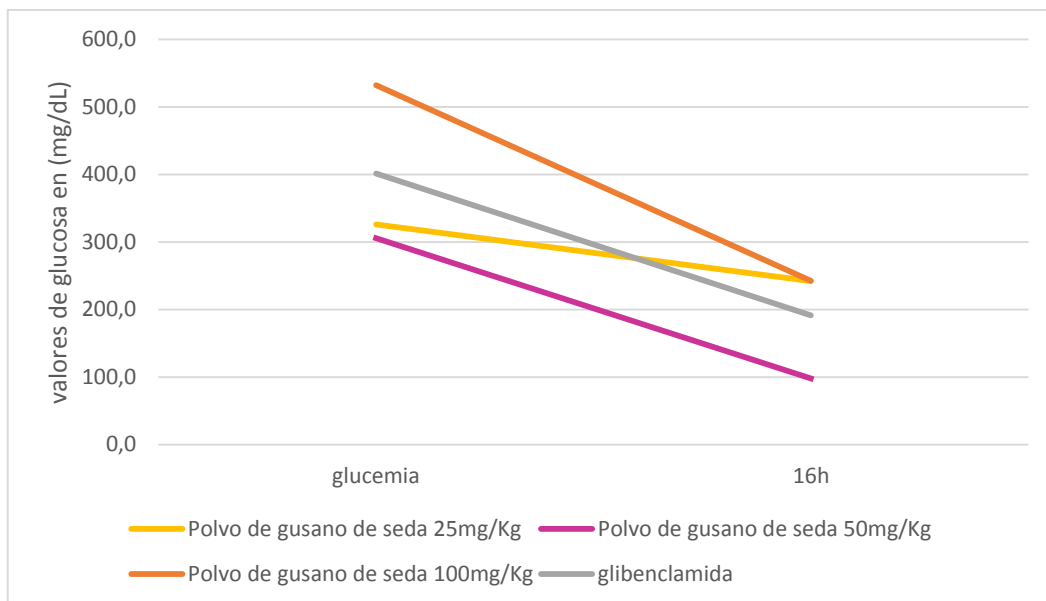


Figura 12. Comparación de los 3 tratamientos de polvo de gusano de seda de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg vs glibenclamida a las 16h.

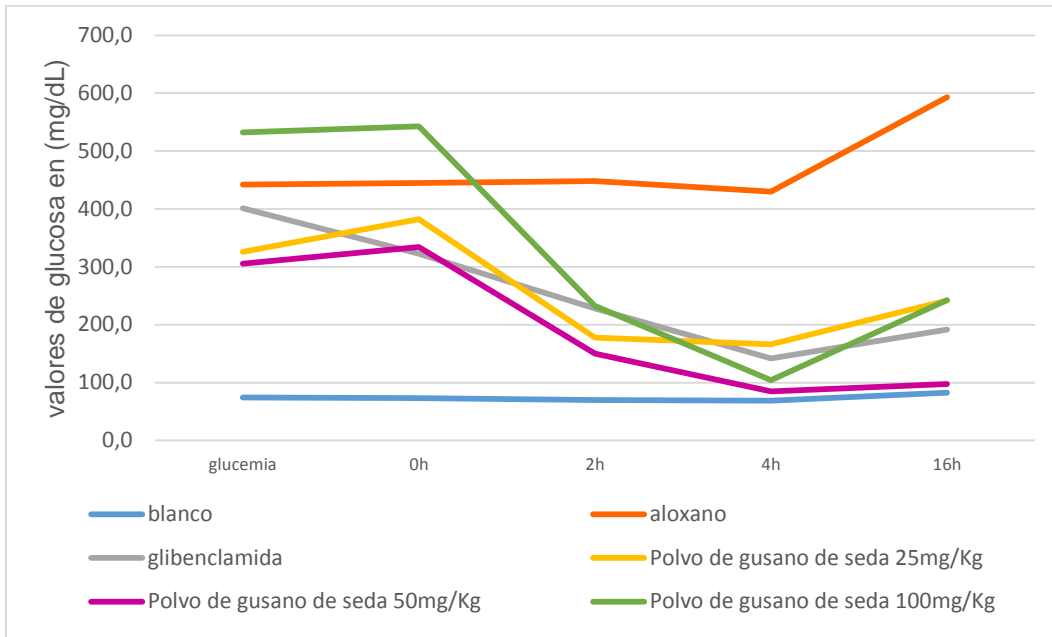


Figura 13. Variación en el tiempo de los niveles de glucosa en sangre de ratas inducidas a diabetes con Aloxano y sometidos a distintos tratamientos.

V. DISCUSIÓN

En la Tabla 2 se muestran los valores promedios de los niveles de glucosa en ratas después de la administración de Aloxano, así como los demás tratamientos medidos a las 0, 2, 4, y 16 h.

El estrés puede afectar hacia el aumento de los niveles de glucosa por medio del incremento de la producción de hormonas en respuesta a la liberación de hormonas correspondientes al estrés (cortisol, hormona de crecimiento, epinefrina y norepinefrina)⁴⁷

En la Figura 11 se muestra la disminución de los niveles de glucosa en sangre de ratas tratadas con diferentes dosis de polvo de gusano de seda y comparadas con un fármaco estándar (glibenclamida) para el tratamiento de la Diabetes mellitus.

Se observa que la dosis de polvo de gusano de seda de 50 mg/Kg peso, no tiene un efecto hipoglucemiante, pero si un efecto normoglucemico, es decir valores normales de glucosa; incluso mucho mejor que el conseguido con la administración de la Glibenclamida. Ello se explica que, al alimentarse exclusivamente de las hojas de morera, el gusano de seda acumula en su cuerpo más alcaloides (1-deoxinojirimicina) que disminuyen los niveles de glucosa.

La cantidad y concentraciones de 1-DNJ contenido en el polvo del gusano de seda, como indica³⁷ varia por tratamiento térmico a 150° C disminuyendo su concentración al 50%, sin embargo, señala que 1-DNJ permanece a misma concentración inicial al someter a 121° C. durante 15 min. E indica que el 1-DNJ en el polvo de gusano de seda es relativamente estable a temperatura a 100° C durante 30 min. y 121° C durante 15 min; tomando como base esta información podemos manifestar que es importante el suministro de la 1-DNJ en las pruebas experimentales con ratas para determinar el efecto hipoglucemiante.

De acuerdo a nuestros resultados a una dosis de 50 mg/Kg de polvo de gusano de seda que tuvo efecto normoglucémico sobre ratas hiperglucémicas, puede estar explicado también por lo indicado³⁰ en la investigación Quantitative determination of 1- Deoxynojimycin in different mulberry varieties of india, que el contenido de 1- DNJ, varía de acuerdo a las variedades de morera de su procedencia extraído de la hoja; en nuestro caso para poder distinguir las concentraciones tuvimos que haber extraído el 1- DNJ, pero por las limitaciones de equipo, reactivos solo probamos concentraciones brutas del polvo del gusano de seda; sin embargo nuestros resultados son corroborados por estos estudios de determinación de concentración de 1- DNJ.

En la Tabla 3 se muestra los niveles promedio de glucosa (mg/dL) en sangre de ratas inducidas a hiperglicemia con administración de Aloxano, y sometidos a diferentes tratamientos durante las primeras 16 h. mostrando una clara diferencia en el polvo de gusano de seda de 50 mg/Kg peso y el blanco con respecto a los demás tratamientos. A partir de esta afirmación, se puede pensar para el Polvo de gusano de seda es similar a un mecanismo de inhibición sobre la enzima α -glucosidasa.²⁶

En la Figura 12 muestra la comparación de los tres tratamientos con polvo de gusano de seda al 25 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg con el estándar (glibenclamida) en la que se puede observar con el tratamiento de polvo de gusano de seda 50 mg/Kg tiene mayor efecto en la disminución de los niveles de glucosa a las 16 h.

El grupo diabético tratado con glibenclamida experimentó un leve descenso de la glucosa, lo que podría explicarse por la escasez de células β pancreáticas a causa de su destrucción producida por el aloxano; la glibenclamida promueve la liberación de insulina desde las células β , pero un reducido número de éstas incidiría en las cantidades de insulina liberada.

En la Figura 13 se muestra la variación de los niveles de glucosa en ratas aloxanizadas y sometidas a los diferentes tratamientos. Las muestras de sangre para su evaluación de los niveles de glucosa se tomaron a las 0, 2, 4, y 16 horas, observándose que con la dosis de 50 mg/kg de peso, se produjo la mayor disminución de los niveles de glucosa a partir desde las 2 h.

En la Tabla 4 del anexo el análisis estadístico realizado a los resultados, nos arrojó el valor "p" con la cual aceptamos o rechazamos la hipótesis nula.

Como el valor p del ANVA es 0.026 y este valor es menor que 0.05 nivel de significancia; por lo tanto, no se acepta la hipótesis nula y aceptamos la hipótesis

alterna, en la cual dice que en al menos un grupo el promedio de hipoglucemia es distinto con 95% de confiabilidad.

En los análisis estadísticos de los datos se observaron diferencias significativas de niveles de glucosa con el tratamiento de polvo de gusano de seda a una concentración de 50 mg/Kg luego de las dos primeras horas de la administración del tratamiento. En la prueba de Tukey fue esencial para reconocer como los tratamientos se agrupan según sus diferencias estadísticas. La diferencia más notoria se registró a las 16 h de la administración del aloxano en donde se observó un pico elevado de glucosa sanguínea para el grupo control sin polvo de gusano de seda, mientras que los grupos con Polvo de gusano de seda mantuvieron sus niveles de glucosas bajos y con mejores resultados a una concentración de 50 mg/Kg. El porcentaje de reducción de niveles de glucosa no aumenta de acuerdo a las concentraciones de polvo de gusano de seda, siendo posible de disminuir con mejores resultados a una concentración de 50 mg/Kg a 100 mg/Kg de polvo de gusano de seda, se puede decir que es un potente hipoglucemiante oral con propiedades hipoglucemiantes similares a inhibidores de la α -glucosidasa. Estos resultados se compararon con otras investigaciones de parámetros experimentales similares. El porcentaje de la reducción de la glucosa mediante un ensayo enzimático *in vitro* del extracto de gusano de seda con dosis de 0.08g/kg y 0.4g/kg, teniendo la capacidad de disminuir mejor los niveles de glucosa la segunda dosis, ya que llevados en mg equivale a 400mg/kg de polvo de gusano de seda⁵

Mientras tanto en el trabajo realizado basto utilizar una dosis de 50mg/kg para reducir los niveles de glucosa en ratas hiperglucémicas.

En una evaluación de los efectos de dietas de extractos de larva de gusano de seda y hojas de mora, en base a la expresión de los Receptores Activados por Poliferadores de Peroxisomas (PPAR- α) (PPAR- γ) y Lipoproteína Lipasa (LPL) en ratones, en la cual los resultados no evidenciaron una reducción estadísticamente significativa para los diferentes tratamientos administrados (control, maltosa, maltosa + Extracto de Larvas de Gusano de Seda (ELGS), maltosa + Extracto de hojas de mora (EHM)⁶.

Sin embargo, se encontró que el tratamiento que contiene el extracto de larvas de gusano de seda fue el más efectivo en reducir los niveles de glucosa en ayuna e insulina y en cuanto al nivel de triglicéridos se demostró una reducción del 13%.

La reducción de la glucosa sanguínea es solo una de las propiedades medicinales atribuidas a la morera; otros ejemplos son de reducción de los niveles de colesterol y lípidos; combaten las placas aterotomatosas y tienen efecto antiflogístico, diurético, expectorante, hipotensor, antiinflamatorio y antipirético.⁴⁴

Estudios demostraron el efecto hipoglucemiante del *Bombyx mori* “gusano de seda” probado en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 teniendo efectos positivos gracias a la presencia del alcaloide 1-deoxinojirimicina (DNJ), un potente inhibidor de las α -glucosidasa.⁷

Nuestros estudios realizados en la comprobación del efecto del polvo de gusano de seda que contiene 1- DNJ son corroborados también por las investigaciones demostrados por ⁷ quienes demostraron que la 1- DNJ de *Bombyx mori* tiene efecto hipoglucemiante probados en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, vale decir que reafirmamos que es un potente inhibidor de la α -glucosidasa. Sugerimos para futuras investigaciones hacer las pruebas a nivel clínico y su formulación farmacéutica para poner a disposición de usuarios con problemas de diabetes.

La 1- DNJ, es un potente inhibidor de la α -glucosidasa, se concentra 2.7 veces más de molécula de 1-deoxinojirimicina en gusanos de seda a comparación con las hojas de mora. Algunos alcaloides contenidos en las hojas de morera son inhibidores potentes de las α - glucosidasas digestivas de los mamíferos, pero no inhibidores de las glucosidasas del intestino medio del gusano de seda, lo que sugiere que el gusano de seda posee enzimas especialmente adaptadas para alimentarse de las hojas de morera.³⁷

Estudios demuestran amplia variación en la dosis y vía de administración del Alozano en la inducción de diabetes mellitus experimental a ratas, entre ellos podemos mencionar que por vía intraperitoneal con una dosis de 200 mg/Kg.⁴⁵

En el presente estudio solo se administró una dosis de 135 mg/Kg a una concentración del 10% vía intraperitoneal siendo muy efectivo reportando una hiperglucemia a las 24 h.

Estos cambios pueden deberse a factores como el grado de hidratación del Alozano, sensibilidad, horas de ayuno y estado nutricional del animal.⁴⁶

Se asume que la acción toxica del alozano producidas en las células beta es iniciada por la formación intracelular de radicales libres en esta reacción redox. La auto-oxidación del ácido dialurico (AH2) genera radicales superoxidos (O_2) y

peróxido de hidrogeno (H_2O_2) y finalmente radical hidroxilo, la reducción del aloxano a AH2 en la célula requiere la presencia de tioles como el tripeptido de glutatión (GSH) y otros tioles intracelulares de baja concentración tales como el monotiol de cisteína y ditioles.⁴⁸

Por lo tanto, la habilidad de las células para captar aloxano vía el transporte de glucosa GLUT-2 el cual disminuye el potencial de defensa oxidativo contra el estrés oxidativo y la formación de radical hidroxilo explica la acción toxica selectiva a las células beta y la acción diabetogénica del aloxan.⁴⁹

VI. CONCLUSIONES

1. El polvo de larvas de *Bombyx mori* “gusano de seda” tuvo efecto normoglucémico, no hipoglucemiante.
2. A una dosis de 50 mg/Kg del polvo de “gusano de seda” tuvo efecto normoglucémico en ratas hiperglucémicas, de acuerdo a la prueba de Tukey se aprecia que existe una diferencia significativa del polvo de gusano de seda de 50 mg/Kg con respecto a los demás tratamientos.
3. El polvo de larvas de “gusano de seda” a una dosis de 50 mg/Kg tuvo mejor efecto normoglucémico a partir de las 2 h que el fármaco de referencia glibenclamida en ratas hiperglucémicas.

VII. RECOMENDACIONES

1. Seguir investigando las propiedades hipoglucemiantes de las larvas de *Bombyx mori* “gusano de seda” en ratas diabéticas, considerando un mayor tiempo en los análisis de sangre.
2. Estudiar los efectos de las larvas de *Bombyx mori* “gusano de seda” como una medicina preventiva para pacientes con alto grado de probabilidades de tener diabetes.
3. Incentivar el estudio de las propiedades medicinales de *Bombyx mori* “gusano de seda” a fin de poder explotar todos sus beneficios y no solo utilizarlos en el área de la sericultura.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Hirst M, Williams R. Federación Internacional de la Diabetes La Pandemia del Siglo XXI. Diabetes Voice, Bruselas, Bélgica. 59(3): 76-2. 2014.
2. Portugal W. Diabetes Mellitus en el Siglo XXI. Dirección Regional de Salud del Callao-Perú.2015
3. Gonzales N, Rodríguez E. Características Clínicas y Factores Asociados a morbilidad intrahospitalaria en los pacientes Mellitus Tipo 2. Rev.soc. Perú, 26(4).2013.
4. Toro A. Estudio de la estabilidad térmica de aceite de crisálida del gusano de seda *Bombyx mori* Linn tesis para optar título de tecnólogo químico de la Universidad Tecnológica de Pereira - Colombia.2007.
5. Cueva J. Estudio de la actividad inhibidora del extracto semipurificado de larvas de *Bombyx Mori* "gusano de seda" producida sobre la enzima α -glucosidasa y su efecto en la concentración de la glucosa sanguínea en ratones BALB/C. Sangolqui - Ecuador. 2007
6. Cordero A. Evaluación de los efectos de dietas de extracto de larvas de gusano de seda *Bombyx mori*, hojas de morera *Morus indica*, y placebo en la regulación de la homeostasis de la glucosa sanguínea en modelos murinos mediante análisis de expresión de los genes PPAR-a, PPAR-y y LPL. Tesis para optar título profesional como Ingeniera en Biotecnología. Sangolqui – Ecuador. 2011.
7. Jeon J, Lee B, Kim T, Lew J, Kim N, Ryu K. The effects of silkworm powder on blood glucose and lipid levels (Type II) patients. Journal of Oriental Medicine; pp 5(1). 2002
8. Carlos G, Pedro H, Hugo G, Jorge A. Evaluación de la Actividad Hipoglucemiante del Extracto Acuoso de *Abuta grandifolia* "mart" en ratas con Diabetes Inducida por Alozano en el Laboratorio de Farmacología, Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima-Perú. 2015
9. Manzur A, Guerrero L. Actividad hipoglucemiante *in vivo* del extracto acuoso liofilizado de hojas de *smallanthus sonchifolius* "yacon" en ratas albinas holtzmann de la universidad nacional de la amazonia peruana de la facultad de farmacia y bioquímica. Iquitos-Perú. 2013.
10. Giraldo L. Efecto del extracto etanólico del fruto de *physalis peruviana* "aguaymanto" sobre la glucemia en animales de experimentación". Tesis Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con Mención en Farmacología Experimental. Lima-Perú. 2014
11. Bailey C, Flatt P. Model for texting now hypoglicaemia drugs. eds. New antidiabetic drugs. London: Smith Gordon, pp: 65- 82. 1990.
12. Guyton A, Hall J. Tratado de fisiología Médica. McGraw-Hill Interamericana, Décima Edición, España. 2001
13. Fridly L, Phylipson L. Does The glucose dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic beta-cells. Diabetes. Pp 53.2004
14. Goldner M, Gomori G. Alloxan diabetes. Proc. Am. Diabetes Assoc., 4: 87–110, 1944.
15. Flores J, Araujo J, Medievilla A. Farmacología Humana. Editorial. Masson, 4° Ed. España. 2003.
16. Foy V. Efecto de *Smallanthus Sonchifolius* "yacón" en tratamiento de hipercolesterolemia inducidas en ratas albinas. Facultad de Medicina Humana de la universidad Mayor de San Marcos pp 5(1):27-31 2005.

17. Rodríguez L. Insulinoterapia. Revista. Médica. para el tratamiento de diabéticos Lima- Perú. 2003
18. Morimoto M. Mecanismos moleculares que intervienen en la regulación de la síntesis de insulina por glucosa 2ª ed. Madrid. pp (49-57). 2007
19. Mendoza N. Farmacología Médica. 1ª ed. Madrid: Editorial Médica Panamericana 2008.
20. Jan K, Klaus R. Texto y Atlas de Bioquímica. 3ª ed. México: Editorial Médica Panamericana. 2004.
21. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de España. Avances en Farmacología y Farmacoterapia de mecanismos de acción de insulina. Módulo IV Avances en Endocrinología Madrid 2003.
22. Pessin E, Saltiel R. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance. Clin Invest., 106(2):165–169 2000.
23. Shepherd R, Kahn B. Glucose Transporters and Insulin Action, Implications for Insulin Resistance and Diabetes Mellitus. Med; 341:248-257.1999.
24. Asociación Americana de la diabetes. Disponible en: www.diabetes.org/espanol. Fecha de acceso 15 de noviembre del 2017.
25. Pescio F, Zunini H, Basso R, Divo M, Frack R, Pelicano A, Vieites C et al. Manual de sericultura para la producción del Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Facultad de Agronomía. Buenos Aires- Argentina pp188. 2006.
26. Ryu J, Kim J, Chun B. Effect of silkworm powder on four Asian body types; in A clinical experiment of the blood-glucose lowering substances, powdery silkworm, by Western and Chinese medicine editorial: Korean Sericulture Association, Seoul, Korea. pp. 77-97.2000
27. Salice G, Soria S, Avendaño F. Guía práctica de sericultura. Roma. pp. 87-128. 2001.
28. Murray R, Mayes P, Granner D, Rodwell V. Manual Moderno de Bioquímica de Harper 15ª ed. México.2001
29. American Diabetes Association. Medicamentos para la diabetes por vía oral España. 2007.
30. Asano N, Kato A, Watson A. Therapeutic Applications of Sugar Mimicking Glycosidase Inhibitors. Mini Reviews in Medicinal Chemistry; 1: 145-154. 2001
31. Martin O. Iminosugars current and future therapeutic applications. Ann Pharm Fr. 65(1): 5-13. 2007.
32. Mudra M, Fang N, Zhong L, Furne J, Levitt, M. Influence of mulberry leaf extract on the blood glucosa and breath hydrogen response to ingestion of 75 g sucrose by type 2 diabetic and control subjects. pp.1272-2174. 2007.
33. Altman G, Diaz, F, Jakuba C. Silk based biomaterials. Biomaterials Murcia. pp 24: 401-416. 2003.
34. Hota M, Bera M, Kundu B, Kundu S, Maiti C. Natural silk fibroin protein-based transparent bio-memristor. Adv Funct Mater. pp 22:4493. 2012.
35. Martos A. Crianza comercial del gusano de seda. Proyecto sericola de la Universidad Nacional Agraria La Molina (PROSEGUR-UNALM) Lima- Perú 1996.
36. Ercan F. Influence of mulberry leaf extract on the blood glucosa and breath hydrogen response to ingestion sucrose by type 1 diabetic and control subjects. 2008.
37. Ryu Kang sun. Clinical experimen and recent trend on the powdery silkworm seoul, Korea 2002.

38. Grupo de Diabetes de la Sociedad Andaluza de Medicina Familiar y Comunitaria (SAMFyC). Diabetes en Medicina de Familia: Guía clínica. Granada, 1997. Actualizada online 2001: <http://www.cica.es/aliens/samfyc>
39. Suarez J. Eficiencia de los extractos hexánico, etanólico y metanólico de la corteza de *tabebuia serratifolia* "tahuari" en *Rattus norvegicus* "rata albina" como hipoglucemiante en ratas hiperglucémicas. tesis para obtener título 2014.
40. Confuzal.com. Rata nivel de glucosa en sangre. Actualizada septiembre 21, 2013. Disponible en: www.confuzal.com. Acceso el 25 de noviembre 2017.
41. Roca F, Plá J. Diabetes Mellitus. Departamento de publicaciones del SMU, Uruguay 1963. (fecha de acceso 17 de noviembre del 2017).disponible en: <http://www.smu.org.uy/publicaciones/libros/historicos/dm/>
42. Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res.*, 50: 536-546. 2001
43. Arroyo J, Cisneros C. Modelos experimentales de Investigación Farmacológica. Editorial ASDIMOR S.A.C. Primera edición, Lima – Perú 2012.
44. Andallu B, Vardacharyulu N. Effect of Mulberry leaves on diabetes. Ecuador pp 147-51. 2001.
45. Yegen E, Akcay F, Yigitoglu M, Plasma atrial natriuretic peptide levels in rabbits with alloxan monohydrate-induced diabetes mellitus. *Japan Heart*. pp:789-795. 1995.
46. Lukens F. Alloxan diabetes. pp 28:34-30.1948.
47. Unger R. H., Orci L., Hisatomi U., Maruyama H. 1982 Insulin within islets is a physiologic glucagon release inhibitor *Journal of clinical investigation* Vol. 74: 2296-2999.
48. Cortz S, tiedge M. Sequential inactivation of reactive oxygen species by combined overexpression of SOD isoforms and catalase in insulinproducing cells. *Free Radic. Biol. Med.* 2003.
49. Fridly L, Phylipson, L. Does The glucose-dependent insulin secretion mechanism itself cause oxidative stress in pancreatic beta-cells? *Diabetes*. 2004.

ANEXOS

Anexo 1. Tablas

Tabla 4. Análisis de varianza (ANOVA)

ANOVA de un solo factor: Valores de glucosa vs. Tratamiento

Hipótesis nula Todas las medias son iguales

Hipótesis alterna No todas las medias son iguales

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$

| Factor | Niveles | Valores |
|-------------|---------|---|
| Tratamiento | 6 | Aloxano, glibenclamida, Polvo de gusano de seda 100 mg/Kg, Polvo de gusano de seda 25 mg/Kg, polvo de gusano de seda 50 mg/Kg, blanco |

| Fuente | GL | SC Ajust. | MC Ajust. | Valor F | Valor p |
|--------------------|----|-----------|-----------|---------|---------|
| Tratamiento | 5 | 403921 | 80784 | 3.71* | 0.026 |
| Error | 13 | 283339 | 21795 | | |
| Total | 18 | 687260 | | | |

En la tabla 4 se presenta el análisis de varianza de los resultados obtenidos, de la misma manera, se menciona las hipótesis del trabajo:

Ho = El promedio de los valores de hipoglucemia es igual con el 95% de confiabilidad.

Ha = En al menos un grupo, el promedio de hipoglucemia es distinto con 95% de confiabilidad.

Como el valor de p obtenido en el ANVA fue de 0.026, y este valor es menor que 0.05, no se acepta la hipótesis nula. Por tanto se acepta la hipótesis alterna.

Tabla 5. Comparaciones en parejas de Tukey con una confianza de 95%

| Tratamiento | N | Media | Agrupación | |
|----------------------------------|---|--------|------------|---|
| Aloxano | 5 | 593.00 | A | |
| Polvo de gusano de seda 100mg/Kg | 5 | 243 | A | B |
| Polvo de gusano de seda 25mg/Kg | 5 | 242 | A | B |
| Glibenclamida | 5 | 191.3 | A | B |
| Polvo de gusano de seda 50mg/Kg | 5 | 97.7 | | B |
| Blanco | 5 | 82.75 | | B |

Tabla 6. Formato de recolección de datos para los niveles de glucosa

| GRUPOS: ENSAYO | VALORES DE LA GLICEMIA 24H.DESPUES | ADMINISTRACION DE LA SUSTANCIA A ENSAYAR | GLUCOSA POST- TRATAMIENTO(mg/dL) | | | |
|-------------------|--|---|-------------------------------------|----|----|-----|
| | | | HORAS | | | |
| | | | 0h | 2h | 4h | 16h |
| GRUPO 1 | | | | | | |
| GRUPO 2 | | | | | | |
| GRUPO 3 | | | | | | |
| GRUPO 4 | | | | | | |
| GRUPO 5 | | | | | | |
| GRUPO 6 | | | | | | |

Grupo 1: control (agua)SSF

Grupo 4: Aloxano + polvo de larvas al 25mg/kg

Grupo 2: Aloxano

Grupo 5: Aloxano + polvo de larvas al 50mg/kg

Grupo 3: Aloxano + glibenclamida

Grupo 6: Aloxano + polvo de larvas al 100mg/kg

| GRUPOS: ENSAYO | VALORES DE LA GLICEMIA 24H.DESPUES | ADMINISTRACION DE LA SUSTANCIA A ENSAYAR | GLUCOSA POST- TRATAMIENTO(mg/dL) | | | |
|-------------------|--|---|-------------------------------------|----|----|-----|
| | | | HORAS | | | |
| | | | 0h | 2h | 4h | 16h |
| GRUPO 1 | | | | | | |
| GRUPO 2 | | | | | | |
| GRUPO 3 | | | | | | |
| GRUPO 4 | | | | | | |
| GRUPO 5 | | | | | | |
| GRUPO 6 | | | | | | |

Grupo 1: control (agua)SSF

Grupo 4: Aloxano + polvo de larvas al 25mg/kg

Grupo 2: Aloxano

Grupo 5: Aloxano + polvo de larvas al 50mg/kg

Grupo 3: Aloxano + glibenclamida

Grupo 6: Aloxano + polvo de larvas al 100mg/kg

Tabla 7. Formato de recolección de datos para la administración de sustancia a ensayar

| | | | |
|--|-----------------|-------------------------|-------------|
| Ensayo:..... Producto..... Fecha.....sexo..... Dosis..... | | | |
| Grupo | Peso rata (Gr.) | Volumen del inculo (mL) | Observación |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| Ensayo:..... Producto..... Fecha.....sexo..... Dosis..... | | | |
| Grupo | Peso rata (Gr.) | Volumen del inculo (mL) | Observación |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| Ensayo:..... Producto..... Fecha.....sexo..... Dosis..... | | | |
| Grupo | Peso rata (Gr.) | Volumen del inculo (mL) | Observación |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

Anexo 2. Fotografías



Fotografía 1. Larvas de *Bombyx mori* "gusano de seda" del 5° estadio



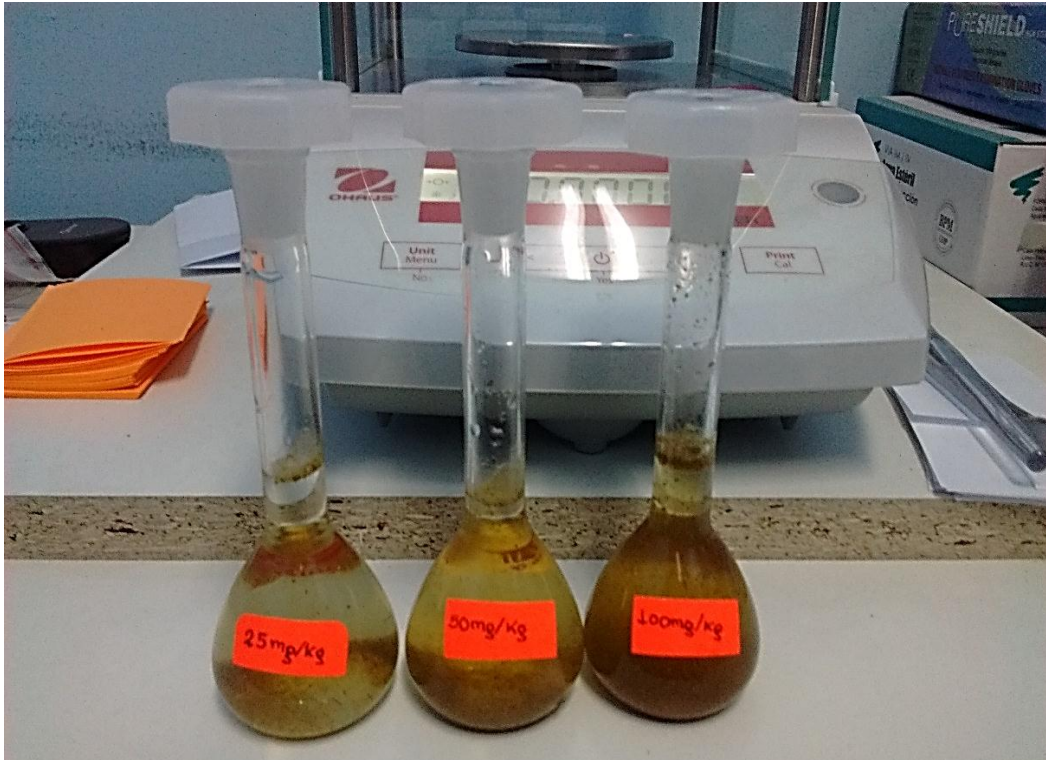
Fotografía 2. Larvas liofilizadas en el laboratorio de farmacia y bioquímica.



Fotografía 3. Liofilizador



Fotografía 4. Tamizaje del polvo de gusano de seda en nylon



Fotografía 5: Polvo de larvas de gusano de seda preparados a diferentes concentraciones



Fotografía 6: Ratas marcadas con violeta de genciana para su reconocimiento



Fotografía 7: Toma de pesos de animales de experimentación



Fotografía 8: Solución estéril para la dilución del Aloxano



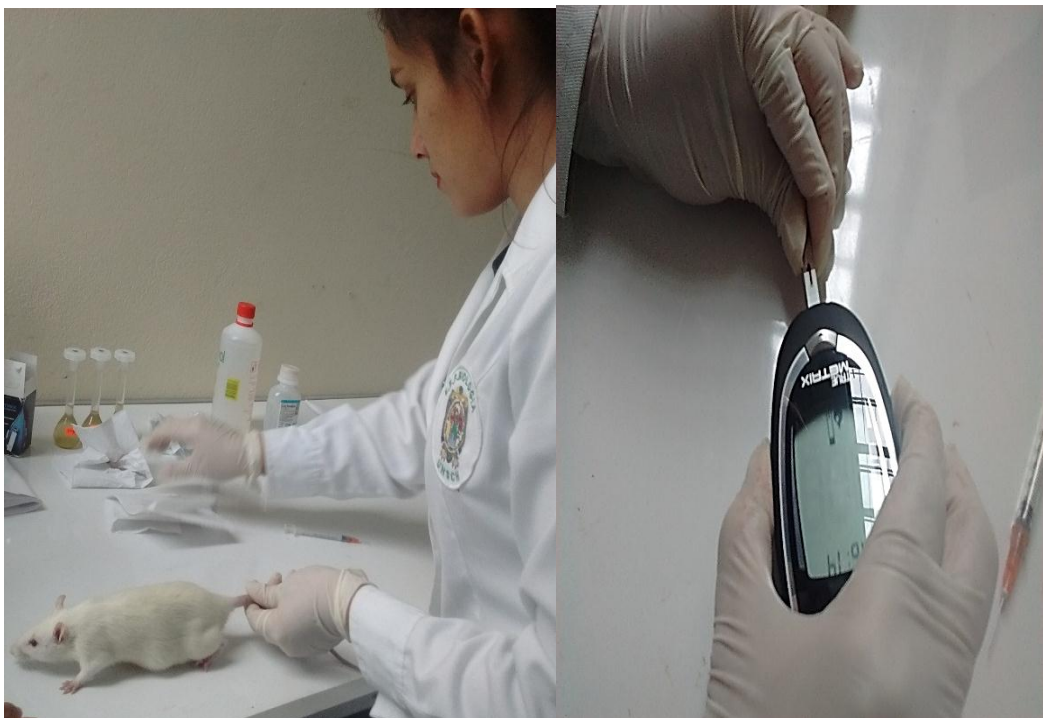
Fotografía 9: Administración del Aloxan diluido vía intraperitoneal a las ratas con la ayuda del Coasesor



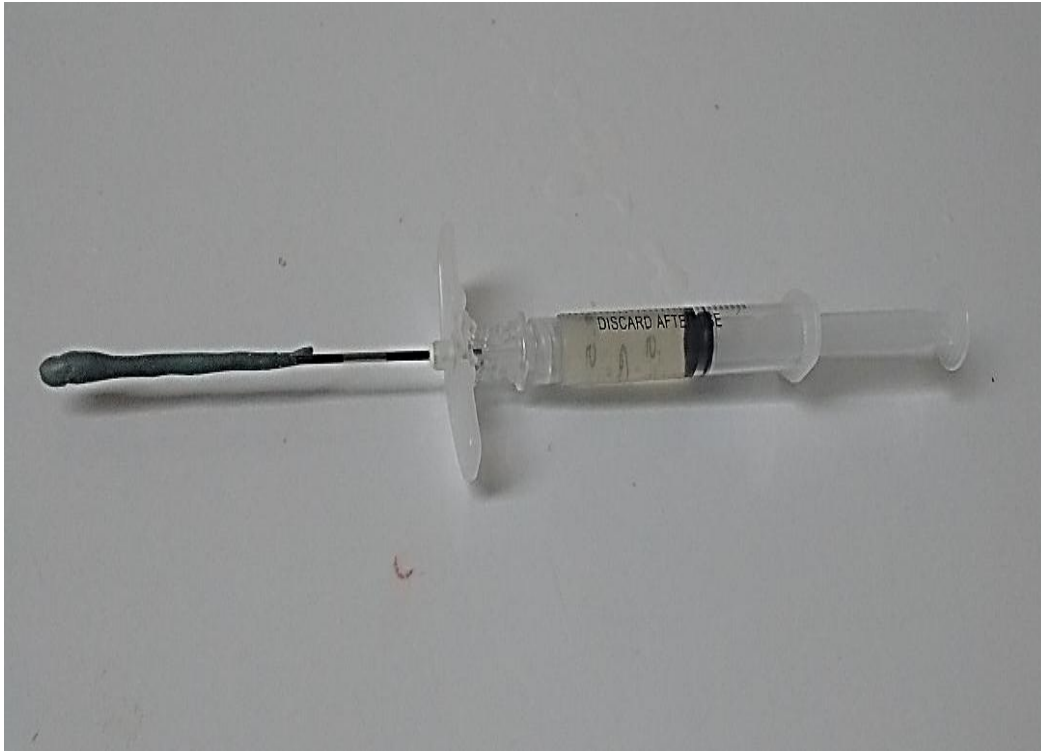
Fotografía 10: Tratamientos a administrar a las ratas



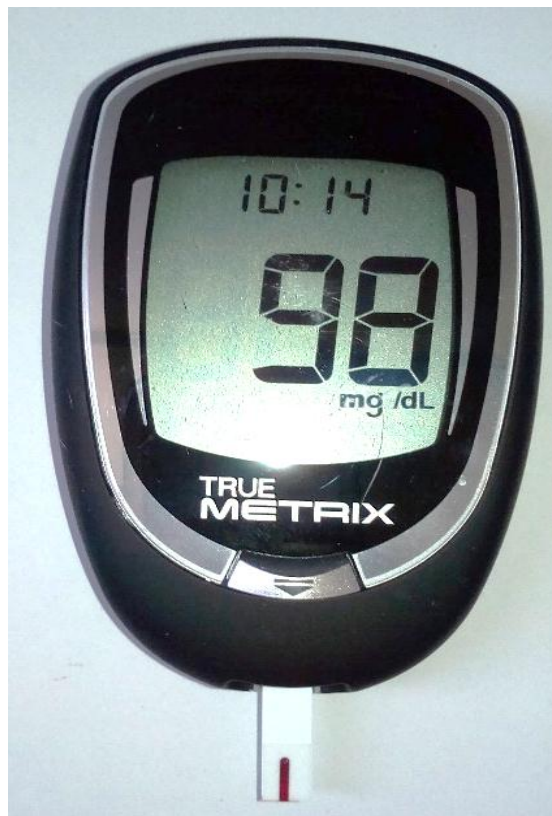
Fotografía 11: Medidor de glucemia TRUE METRIX



Fotografía 12: Toma de muestra de sangre de la cola de las ratas antes de los tratamientos.



Fotografía 13: Sonda orogastrica insertada a la jeringa para la administración de los polvos de gusano de seda a diferentes dosis mediante vía oral.



Fotografía 14: Valores normales de glucosa en ratas

Anexo 3. Matriz de consistencia

TITULO: Efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de *Bombyx mori* L. “gusano de seda” en ratas hiperglucémicas. Ayacucho, 2017.

AUTOR: Bach. Faraje Madeleyne Ruiz Torres

| PROBLEMA | OBJETIVOS | MARCO TEÓRICO | HIPÓTESIS | VARIABLES | METODOLOGIA |
|---|---|--|---|--|---|
| ¿El polvo de larvas de “gusano de seda” tendrá efecto hipoglucemiante en ratas hiperglucémicas? | <p>Objetivo general Determinar el efecto hipoglucemiante de polvo de larvas <i>Bombyx mori</i> en ratas hiperglucémicas.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>1. Determinar la dosis optima del polvo de larvas de <i>Bombyx mori</i> en ratas hiperglucémicas.</p> <p>2. Comparar el efecto hipoglucemiante del polvo de larvas de <i>Bombyx mori</i> con respecto a un fármaco de referencia (Glibenclamida), a través de la determinación de glucosa sanguínea en ratas hiperglucémicas.</p> | <p>1. Antecedentes</p> <p>2. Glucemia</p> <p>3. Diabetes mellitus</p> <p>4. Tipos de diabetes</p> <p>5. Insulina</p> <p>6. Biosíntesis de insulina</p> <p>7. Niveles adecuados de glucosa</p> <p>8. <i>Bombyx mori</i></p> <p>9. Fisiología digestiva</p> <p>10. Clasificación taxonómica</p> <p>11. Aplicaciones terapéuticas</p> <p>12. La morera</p> <p>13. Clasificación taxonómica</p> <p>14. Contenido de la 1-deoxinojirimicina</p> <p>15. Inhibidores del alfa glucosidasa</p> <p>16. <i>Rattus norvegicus</i></p> <p>17. Valores normales de glucosa en ratas</p> <p>18. Aloxano</p> <p>19. Glibenclamida</p> | <p>Alternativa (Ha) En al menos un grupo, el promedio de hipoglucemia es distinto con 95% de confiabilidad.</p> <p>Nula (Ho) El promedio de los valores de hipoglucemia es igual con el 95% de confiabilidad.</p> | <p>Variables independientes - Polvo de larvas de gusano de seda</p> <p>Indicadores: - Dosis de polvo de larva de gusano de seda. - Concentración de glucosa sanguínea de ratas en ayunas.</p> <p>Variables dependientes Niveles de glucosa en ratas</p> <p>Indicadores: - Disminución de la concentración de glucosa en la sangre de ratas hiperglucémicas. - Tiempo de disminución de la concentración de glucosa en sangre de ratas hiperglucémicas.</p> | <p>Muestra Larvas del 5to estadio.</p> <p>Tipo de investigación Básica- experimental</p> <p>Régimen de investigación. Libre</p> <p>Diseño experimental: Diseño por bloques al azar</p> <p>Análisis de datos ANVA Y TUKEY</p> |