



**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS**



**UNIDAD DE TITULACIÓN
PROYECTO DE TITULACIÓN**

MODALIDAD INVESTIGACIÓN

TEMA:

**ESTUDIO DEL EFECTO CITOPROTECTOR DE *ALLIUM SATIVUM*
(AJO) Y AGUA ALCALINA EN LAS CÉLULAS β PANCREÁTICAS
COMO TRATAMIENTO PREVENTIVO DE DIABETES
INDUCIDA EN RATAS WISTAR**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO
PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO Y FARMACÉUTICO**

AUTORES:

**CHACA ALCIVAR GABRIEL ALEJANDRO
PIGUAVE GUTIÉRREZ MICHELLE MELISSA**

TUTOR:

QF. GLENDA SARMIENTO Msc.

CO-TUTOR:

QF. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ Msc.

**GUAYAQUIL - ECUADOR
2015**

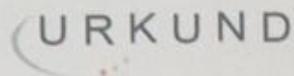
**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA

**ESTUDIO DEL EFECTO CITOPROTECTOR DE *ALLIUM SATIVUM*
(AJO) Y AGUA ALCALINA EN LAS CÉLULAS β PANCREÁTICAS
COMO PREVENCIÓN DE LA DIABETES INDUCIDA EN RATAS
WISTAR**

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL GRADO
DE
QUÍMICO - FARMACÉUTICO**

INFORME ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA URKUND



Urkund Analysis Result

Analysed Document: PROYECTO DE TITULACIÓN.docx (D16041355)
Submitted: 2015-11-05 19:30:00
Submitted By: michelle_piguaveg@hotmail.com
Significance: 3 %

Sources included in the report:

TESIS VANESSA MOSQUERA srta mosquera al 4 de mayo 2015.docx (D14203471)
<http://aquagoldens.weebly.com/agua-alcalina.html>
<http://www.ecogaia.com/efectos-curativos-del-agua-alcalina-ionizada-1892.html>

Instances where selected sources appear:

6

El plagio encontrado en el Proyecto de Titulación cuyo tema es **Estudio Del Efecto Citoprotector De *Allium Sativum* (Ajo) Y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Prevención de la Diabetes Inducida En Ratas Wistar** fue del 3% según lo certifica el Programa Urkund.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Glenda Sarmiento Tomalá".

QF. GLENDA SARMIENTO TOMALÁ, Msc.
TUTOR

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Zoraida Burbano Gómez".

QF. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ, Msc.
CO-TUTOR

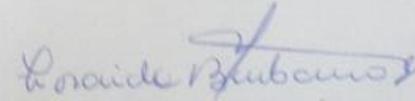
APROBACIÓN DEL TUTOR ACADÉMICO

En calidad de tutora del trabajo de titulación, Certifico: que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es **Estudio del Efecto Citoprotector de *Allium Sativum* (Ajo) Y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Prevención de la Diabetes Inducida con Aloxano en Ratas Wistar**, presentado por **Piguave Gutiérrez Michelle Melissa** y **Chaca Alcivar Gabriel Alejandro** con cédula de ciudadanía N° **0926291170** y **0503747941** respectivamente, previo a la obtención del título de Químico y Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti-plagio del programa URKUND. Lo certifico.

Guayaquil, 06 de noviembre del 2015

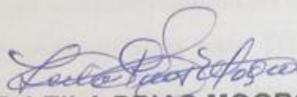

QF. GLENDA SARMIENTO TOMALÁ, Msc.
TUTOR


QF. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ, Msc.
CO-TUTOR

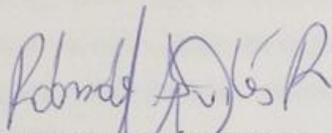
CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de Registro de la Sustentación Final

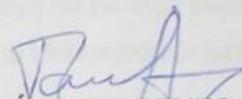
El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la Srta. Michelle Piguave Gutiérrez y el Sr. Gabriel Chaca Alcivar, después de ser examinado en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.



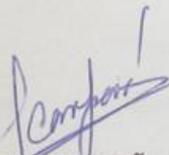
Q.F. LEILA PRIAS MOGRO, MSc.
DECANA - PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

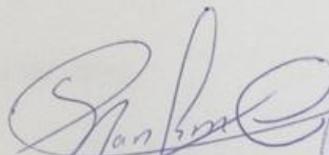
LCDO. ROLANDO AVILÉS REYES, Phd
DOCENTE - Oponente
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Ing. RAÚL DÍAZ REYES, Phd
DOCENTE - Oponente
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



LCDA. LILIAN CAMPAÑA GARCÍA, Msc.
DOCENTE
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



ING. NANCY VIVAR CÁCERES
SECRETARÍA ENCARGADA



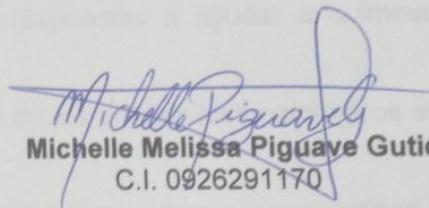
CARTA DE AUTORÍA TESIS

Nosotros, **PIGUAVE GUTIÉRREZ MICHELLE MELISSA** y **CHACA ALCIVAR GABRIEL ALEJANDRO**, autores de este trabajo, declaramos ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, nos corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaramos también todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además ratificamos que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en la Universidad nacional, ni una extranjera.



Gabriel Alejandro Chaca Alcivar
C.I. 0503747941



Michelle Melissa Piguave Gutiérrez
C.I. 0926291170

Guayaquil, 06 de noviembre del 2015.

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme vida, salud y ánimos para culminar este trabajo.

A mi madre por ser mi apoyo en todo momento, mi padre Luis Piguave por apoyarme a su manera.

A mi enamorado Gabriel Chaca, por ser mi mano derecha durante todo este proceso, ser mi puerto seguro, por todo el amor y siempre alentarme a conseguir mis metas.

A mi Lucas, mi príncipe que siempre estuvo a mi lado no importa lo tarde que acostara por culminar este trabajo.

A mis familiares Karen Jalón, Mery Gutiérrez, Mireya Gutiérrez, Alex Morán y Patricia Santos por apoyarme siempre de una u otra manera.

A mi hermana Andrea Morán por ser mi soporte siempre y darme los ánimos para seguir adelante.

A mis amigas Amy, Ana, Karla, Cynthia y Fanny, por ser una parte importante de mi vida, gracias por alentarme y aconsejarme.

A Diana y Lizbeth por siempre estar dispuestas a ayudar a culminar esta experimentación.

A la Dra. Ana Salvatierra por ayudarnos en los análisis histopatológicos siempre dispuesta a enseñar.

A QF. Glenda Sarmiento por su dedicación como tutora y disponibilidad incluso los fines de semana fuera de horario de trabajo, siempre ayudándonos a salir adelante con este trabajo.

Michelle Piguave Gutiérrez.

AGRADECIMIENTO

A Dios por estar siempre ahí y darle la fuerza a mi madre para poder seguir apoyándome hasta lo último.

A mi hermano Geomar por siempre apoyarme.

A mi hermosa novia Michelle que no dudó ni un solo segundo de mí.

A mi Pinina que es mi angelito que siempre me recibe con alegría sin importa que pase.

Gabriel Chaca Alcivar.

DEDICATORIA

A mi Dariel, Alice, María Cecilia, Camila y Emiliano, los pequeños que iluminan mi vida.

A mi hermano Christian, para que estudie y se prepare para no solo ser un buen profesional sino una gran persona.

En memoria de Zoila María Villavicencio Rodas y Marlon Santos.

Michelle Piguave Gutiérrez.

DEDICATORIA

A todas las personas con diabetes, en especial a mi hermosa Juanita, esperando en un futuro se realicen más estudios clínicos que puedan mejorar el estilo de vida de las personas con Diabetes.

Y a todos los animales de experimentación que son ángeles que nos regalan sus vidas para mejorar las nuestras.

Gabriel Chaca Alcivar.

ÍNDICE GENERAL

Aprobación del Tutor Académico.....	I
Certificado del Tribunal.....	II
Carta de Autoría.....	III
Agradecimiento.....	IV
Dedicatoria.....	VI
Resumen	XII
Abstract.....	XIII
Introducción.....	1
Planteamiento del Problema.....	2
Formulación del Problema.....	3
Objetivos.....	4
Hipótesis.....	5
Especificación de las Variables.....	6
Conceptualización E Indicadores De Las Variables.....	7
Justificación.....	8
1. Capítulo I: Marco Teórico.....	9
1.1. Antecedentes.....	9
1.2. Estado del Arte.....	11
1.3. Fundamentos Teóricos.....	12
1.3.1. Diabetes.....	12
1.3.2. Tipos de Diabetes.....	12
1.3.2.1. Diabetes Tipo 1.....	12
1.3.2.2. Diabetes Tipo 2.....	13
1.3.2.3. Diabetes Gestacional.....	14
1.3.3. Complicaciones de la Diabetes.....	15
1.3.3.1. Enfermedades Cardiovasculares.....	15
1.3.3.2. Nefropatías.....	16
1.3.3.3. Retinopatías.....	16
1.3.3.4. Neuropatías.....	16
1.3.3.5. Pie Diabético.....	16
1.3.3.6. Complicaciones en el Embarazo.....	17

1.3.4. <i>Allium sativum</i>	18
1.3.4.1. Descripción Botánica.....	18
1.3.4.2. Composición Química.....	18
1.3.4.3. Propiedades Farmacológicas.....	19
1.3.4.3.1. Actividad Antioxidante.....	19
1.3.4.3.2. Actividad Hipolipemiante.....	19
1.3.4.3.3. Actividad Aniagregante y Fibrinolítica.....	20
1.3.4.3.4. Actividad Antihipertensiva.....	20
1.3.4.3.5. Actividad Antimicrobiana y Antifúngica.....	21
1.3.4.3.6. Actividad Anticarcinogénica y Antitumorogénica.....	21
1.3.4.3.7. Actividad Inmunomoduladora.....	21
1.3.4.4. Indicaciones.....	22
1.3.4.5.Reacciones Adversas.....	22
1.3.4.6.Interacciones.....	23
1.3.4.7.Contraindicaciones.....	23
1.3.4.8.Preparados de <i>Allium sativum</i>	24
1.3.5. Agua Alcalina.....	25
1.3.5.1. Historia del Agua Alcalina.....	25
1.3.5.2. Relación de la Alcalinidad con la Salud.....	25
1.3.5.3. Diabetes y Deshidratación.....	26
1.3.5.4. El Agua Alcalina como Antioxidante.....	27
1.3.5.5. El Agua Alcalina en el Tratamiento de Enfermedades.....	28
1.3.5.6. El Agua Alcalina y la Diabetes.....	29
1.3.6. Aloxano.....	30
1.3.6.1.Fases de la Inducción de la Diabetes.....	30
1.3.6.1.1. Primera Fase.....	30
1.3.6.1.2. Segunda Fase.....	31
1.3.6.1.3. Tercera Fase.....	31
1.3.6.1.4. Cuarta Fase.....	31
1.3.7. Glibenclamida.....	32
1.3.7.1. Mecanismo de Acción.....	32
1.3.7.2. Indicaciones Terapéuticas.....	32
1.3.7.3. Posología.....	32

1.3.7.4. Modo de Administración.....	32
1.3.7.5. Contraindicaciones.....	33
1.3.7.6. Advertencias y Precauciones.....	33
1.3.7.7. Insuficiencia Hepática.....	34
1.3.7.8. Insuficiencia Renal.....	34
1.3.7.9. Interacciones.....	34
1.3.7.10. Embarazo.....	35
1.3.7.11. Lactancia.....	35
1.3.7.12. Efectos Sobre la Capacidad de Conducir.....	35
1.3.7.13. Reacciones Adversas.....	36
1.4. Glosario.....	37
2. Capítulo 2: Metodología de la Investigación.....	38
2.1. Métodos Científicos Empleados en la Investigación.....	38
2.1.1. Métodos Teóricos.....	38
2.1.2. Métodos Empíricos.....	38
2.1.3. Métodos Matemáticos o Estadísticos.....	38
2.2. Metodología.....	39
2.2.1. Conformación de Grupos de Trabajo y Aclimatización.....	39
2.2.2. Determinación de Glucosa Inicial.....	39
2.2.3. Fase de Tratamiento.....	41
2.2.3.1. Preparación de las Muestras.....	42
2.2.3.1.1. Aceite de <i>Allium sativum</i>	42
2.2.3.1.2. Agua Alcalina.....	42
2.2.3.1.3. Glibenclamida.....	42
2.2.4. Inducción de Diabetes.....	42
2.2.5. Determinación de Glucosa Final.....	42
2.2.6. Extracción del Páncreas.....	43
2.2.7. Procesamiento de Muestras Páncreas para Análisis Histopatológico.....	43
2.2.7.1. Formación de Bloques de Parafina.....	43
2.2.7.2. Corte del Tejido.....	44
2.2.7.3. Tinción Eosina-Hematoxilina.....	44
2.2.8. Análisis Histopatológico.....	45
2.3. Tipo de Investigación.....	45

2.4. Diseño Experimental de la Investigación.....	45
3. Capítulo 3: Análisis e Interpretación de los Resultados.....	47
3.1. Resultados de la Experimentación.....	47
3.1.1. Resultados de Glucosa Plasmática.....	47
3.1.2. Resultados Análisis Histopatológicos.....	57
3.2. Discusión.....	65
4. Capítulo 4: Conclusiones y Recomendaciones.....	60
4.1. Conclusiones.....	60
4.2. Recomendaciones.....	61
Bibliografía.....	62
Anexos.....	65

ÍNDICE DE FIGURAS

XII

Figura 1. Glucosa Plasmática Inicial (mg/dL) de los Diferentes Grupos de Experimentación Antes de Iniciar el Tratamiento.....	47
Figura 2. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Normal.....	51
Figura 3. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Negativo.....	51
Figura 4. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Positivo.....	52
Figura 5. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después de 7 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.....	53
Figura 6. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después 14 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes	53
Figura 7. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después de 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.....	54
Figura 8. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 7 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.....	54
Figura 9. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 14 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.....	55
Figura 10. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.....	55
Figura 11. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 3 después de 7, 14 y 21 días de tratamiento respectivamente.....	56
Figura 12. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 4 después de 7, 14 y 21 días de tratamiento y y 72 horas de Inducción de Diabetes respectivamente.....	56
Figura 13. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 5 después de 7, 14 y 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes respectivamente.....	59
Figura 14. Alcalinizador y Purificador de Agua.....	65

Figura 15. Extracción del Aceite de Allium sativum.....	65
Figura 16. Triturado de Tableta de Glibenclamida.....	66
Figura 17. Jeringuilla con la Dosificación de Aloxano.....	66
Figura 18. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo A y B.....	67
Figura 18. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo A y B.....	68
Figura 20. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo A y B.....	69
Figura 21. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo A y B.....	70
Figura 22. Corte del Páncreas.....	71
Figura 23. Corte del Páncreas en el Casete para Biopsias.....	71
Figura 24. Envases con Alcohol.....	71
Figura 25. Envases con Xileno.....	72
Figura 26. Casetes con Tejido Pancreático en Parafina.....	72
Figura 27. Equipo para Inclusión de Tejidos en Parafina Leica.....	72
Figura 28. Placa Congelante para la Formación Solida del Bloque de Parafina Leica.....	73
Figura 29. Micrótopo Leica.....	73
Figura 30. Baño Flotación de Tejido Leica.....	74
Figura 31. Corte del Tejido en Placa Portaobjetos.....	74
Figura 32. Circuito de Sustancias para la Tinción de Eosina-Hematoxilina.....	75
Figura 33. Placas Teñidas.....	75
Figura 34. Montaje de las Placas.....	75
Figura 35. Microscopio Axioscop 2 Plus.....	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Preparados de ajo más utilizados y sus características.....	24
Tabla 2. Esquema de cantidades de estándar, muestra y reactivo de trabajo para la determinación de glucosa mediante el método enzimático de Wiener Lab.....	40
Tabla 3. Tratamientos y dosis a los diferentes grupos de trabajo.....	41
Tabla 4. Promedio Niveles de Glucosa de los Grupos de Tratamiento a los 7 Días de Tratamiento.....	48
Tabla 5. Promedio Niveles de Glucosa de los Grupos de Tratamiento a los 14 Días de Tratamiento.....	49
Tabla 6. Promedio Niveles de Glucosa de los Grupos de Tratamiento a los 21 Días de Tratamiento.....	50

RESUMEN

El *Allium sativum* y el Agua Alcalina poseen efecto antioxidante, capaces de proteger cualquier célula de una degeneración. Estudios realizados demuestran que regulan los niveles de glucosa; sin embargo no hay evidencias de investigaciones sobre la mezcla de ambos tratamientos con estudios histopatológicos. El objetivo del presente estudio consistió en evaluar el efecto citoprotector de la administración conjunta de *Allium sativum* y el Agua Alcalina en diferentes dosis y periodos de tiempo. Para esta investigación se formaron 8 grupos de 12 animales cada uno, a los que se midió glucosa inicial, y luego se les administraron los tratamientos correspondientes durante 7, 14 y 21 días. El grupo control A sin tratamiento, grupo B inducción con aloxano, grupo C control positivo administrado: Glibenclamida, el Grupo D aceite de *Allium sativum*, Grupo E agua alcalina y los Grupos F, G, y H recibieron *Allium sativum* y Agua Alcalina en conjunto a diferentes dosis. Luego de cada período de tiempo se indujo la diabetes usando aloxano, se midió glucosa final y se extrajo el páncreas para posterior análisis histopatológico. Los resultados obtenidos fueron analizados por comparación de medias, observándose que desde los 7 días de tratamiento tanto el *Allium sativum* y Agua Alcalina por separado, como la administración conjunto de ambos, impidió el incremento de los valores de glucosa. En tanto los análisis histopatológicos evidenciaron que el *Allium sativum* tuvo un efecto citoprotector a los 21 días de tratamiento; por otro lado a los 21 días de tratamiento con Agua Alcalina se presenciaba un efecto citoprotector mínimo; en tanto los animales de experimentación tratados con ambos tratamientos a diferentes dosis, mostraron un efecto citoprotector desde el día 7 de tratamiento. Concluyendo que la administración conjunta de *Allium sativum* y Agua Alcalina tiene efecto citoprotector y normoglucemiante efectivo.

ABSTRACT

Allium sativum and alkaline water have an antioxidant effect, capable of protecting any cell from degeneration. Studies have shown that they regulate glucose levels; however, there is no evidence of histopathological studies about the mixture of both treatments. The objective of this study was to evaluate the cytoprotective effect of co-administration of *Allium sativum* and alkaline water in different doses and time periods. In order to perform this investigation, 8 groups of 12 animals each were formed, which initial glucose was measured, and then given the appropriate treatments for 7, 14 and 21 days. Control A untreated group, group B alloxan induction, group C positive control Glibenclamide administered, Group D *Allium sativum* Oil, Group E water alkaline and F, G, & H Groups were administered with *Allium sativum* and Alkaline Water at different doses. After each period the diabetes was induced using alloxan, final glucose was measured and pancreas was extracted for histopathological analysis. The results were analyzed by means comparison, noting that from 7 days of treatment both Alkaline Water and *Allium sativum* separately as the set of both administrations prevented the glucose values increment. The histopathological analysis showed that *Allium sativum* had a cytoprotective effect after 21 days of treatment; on the other hand after 21 days of treatment with alkaline, it showed a minimal cytoprotective effect; In addition, the experimental animals treated with both treatments at different doses showed a cytoprotective effect from day 7 of treatment. Concluding that the proposed treatment has cytoprotective and normoglycemia effect in a short treatment time.

INTRODUCCIÓN

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada ya sea por la degeneración de las células β pancreáticas o por resistencia a la insulina segregada por las mismas, siendo el resultado de estas condiciones un aumento de glucosa en la sangre, lo cual desencadena numerosas enfermedades. La incidencia de diabetes en el mundo es cada vez mayor, alcanzando cifras alarmantes, de tal manera que se hace necesaria la búsqueda de hábitos o tratamientos que puedan prevenir el desarrollo de esta enfermedad. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

En investigaciones sobre el efecto histopatológico y bioquímico de aceite de *Allium sativum* en ratas con diabetes tipo 1, el aceite de *Allium sativum* fue capaz de normalizar los niveles de glucosa en la sangre en ratas con diabetes tipo 1 con un incremento en la producción de insulina debido a la regeneración histológica del tejido pancreático dañado que se produjo en el proceso de la enfermedad. (Alashkham, Osman, Adnan, & Bakar, 2013). Por otro lado, un estudio del efecto preservativo del agua electrolizada reducida sobre las células β pancreáticas en ratones diabéticos, probó que el agua electrolizada produjo un aumento de la secreción de insulina y la sensibilidad a la insulina, lo que conllevó a una disminución de la hiperglucemia y una reducción del desarrollo de la diabetes. (Kim, Jung, Uhm, Leem, & Kim, 2007).

Si bien existen antecedentes que el *Allium sativum* y el Agua Alcalina podrían usarse como tratamientos en procesos diabéticos, esta investigación se propone un tratamiento para prevenir el desarrollo de esta enfermedad crónica, buscando un efecto normoglucemiante y citoprotector mediante la administración conjunta de *Allium sativum* y el Agua Alcalina en diferentes dosis y realizando mediciones a diferentes intervalos de tiempo (7, 14 y 21 días), analizando si es que el sinergismo va a depender de la dosis y el factor tiempo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La diabetes está caracterizada por un grupo de desordenes como deficiencia de insulina y anormal metabolismo de los lípidos. (Oyebadejo, Bassey, & Malachy, Antagonistic Salubrious Effects of Macerated Allium Sativum, 2013). Enfermedades asociadas a esta, son de tipo vascular, coronarias, arteriosclerosis, y complicaciones a largo plazo como nefropatía y retinopatía. (Jin, et al., 2006).

El estilo de vida, alimentación rica en grasa, sedentarismo, obesidad, entre otros, están considerados como factores principales y desencadenantes de esta afección. (Oyebadejo, Bassey, & Malachy, Antagonistic Salubrious Effects of Macerated Allium Sativum, 2013).

La diabetes no solo abarca a personas mayores con un elevado porcentaje de incidencia sino también existe una tendencia creciente de diabetes en personas cada vez más jóvenes, así en una generación se verán afectadas más de 592 millones de personas. (Oyebadejo, Bassey, & Malachy, Antagonistic Salubrious Effects of Macerated Allium Sativum, 2013).

Se estima que aproximadamente 382 millones de personas en el mundo tienen diabetes, estos incrementos de la enfermedad se dan principalmente en países de ingresos medios y bajos, donde viven cuatro de cada cinco personas con diabetes. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Con el presente estudio se comprobará la efectividad que tiene el *Allium sativum* y agua alcalina como protectores de las células pancreáticas, que en procesos diabéticos son destruidas. De los resultados obtenidos podremos extrapolar al ser humano y así ofrecer una alternativa para la prevención de la diabetes, o de la misma manera se podría aportar a investigaciones futuras para la síntesis y utilización del principio activo del *Allium sativum* y promover el consumo de agua alcalina.

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿La administración de la mezcla de *Allium sativum* y Agua Alcalina presentará propiedades citoprotectoras en células β pancreáticas de los animales de experimentación como tratamiento preventivo en diabetes inducida?

OBJETIVOS

Objetivo General:

Evaluar el efecto citoprotector de *Allium sativum* y Agua Alcalina en las células β pancreáticas como tratamiento preventivo en ratas wistar con diabetes inducida.

Objetivos Específicos:

1. Establecer el efecto normogluceante a partir de la medición de los valores de glucosa final; luego de los 7, 14 y 21 días de tratamiento en los diferentes grupos tratados.
2. Definir el tiempo de administración y la dosis de los diferentes tratamientos, a los que actúa como citoprotector del páncreas en los animales con diabetes inducida.
3. Comparar los resultados histopatológicos de las células β pancreáticas encontradas en los diferentes animales de experimentación sometidos al estudio.

HIPÓTESIS

La mezcla de *Allium sativum* y Agua Alcalina a los 21 días de administración en dosis de 500 mg/kg poseerán propiedades normoglucemiante y citoprotectora de las células β pancreáticas en ratas wistar, previniendo así el desarrollo de diabetes inducida.

ESPECIFICACIÓN DE LAS VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Tipo de tratamiento (Glibenclamida, *Allium sativum*, Agua Alcalina y mezcla *Allium sativum*, Agua Alcalina)
- Tiempo de administración (7, 14 y 21 días)

VARIABLES DEPENDIENTES:

- Niveles de glucosa en sangre. (mg/dl).
- Efecto citoprotector.
 - Estado de Células β pancreáticas.
 - Estado de Islotes de Langerhans.
 - Ausencia de Elementos Inflamatorios.
 - Estado de Acinos Pancreáticos.

CONCEPTUALIZACIÓN E INDICADORES DE LAS VARIABLES

VARIABLE	CONCEPTUALIZACIÓN	INDICADOR-MEDICIONES
INDEPENDIENTE	<i>Tratamiento.</i> - Es el conjunto de medios que se aplican para curar o aliviar una enfermedad a una persona.	Glibenclamida, <i>Allium sativum</i> , Agua Alcalina, Mezclas <i>Allium sativum</i> y Agua Alcalina.
	<i>Tiempo de Administración.</i> - Período de tiempo durante el cual se administra un tratamiento.	7 Días 14 Días 21 Días
DEPENDIENTE	<i>Glucosa.</i> - Carbohidrato relacionada con la cantidad de azúcar que el organismo es capaz de absorber a partir de los alimentos y transformar en energía para realizar diferentes funciones.	Niveles de Glucemia Hiperglucemia: >250mg/dL
	<p><i>Efecto citoprotector.</i>- Capacidad de prevenir que una célula sufra daño alguno. En este caso el efecto citoprotector estará relacionado con:</p> <p><i>Células β Pancreáticas.</i>- Son un tipo de célula endócrina del páncreas, cuya función es sintetizar y segregar insulina.</p> <p><i>Islotes de Langerhans.</i>- Contienen las células β.</p> <p><i>Elementos Inflamatorios.</i>- Se denomina así a las células inmunes procedentes de la sangre que llegan al lugar de una inflamación. La aparición de estas está ligada a la necrosis celular.</p> <p><i>Acinos Pancreáticos.</i>- Conjunto de células exocrinas del páncreas, cuya función es secretar enzimas digestivas.</p>	<p>Células β pancreáticas.</p> <p>Islotes Pancreáticas.</p> <p>Elementos Inflamatorios.</p> <p>Acinos Pancreáticos.</p>

JUSTIFICACIÓN

En el 2013 la Federación Internacional de la Diabetes estima que en el mundo existen aproximadamente 382 millones de personas con diabetes y el 80% de estas personas viven en países de ingresos medios y bajos. Si siguen estas tendencias, para el año 2035 unos 592 millones de personas, es decir, uno de cada 10 adultos, tendrá diabetes. Así mismo se estima que existen 24 millones de personas en América Central y del Sur con diabetes. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Por otro lado, la Federación Internacional de la Diabetes reporta que la diabetes causó 5,1 millones de muertes en el 2013 (esto se traduce a que cada 6 segundos una persona muere de diabetes) así como un gasto sanitario de 548 miles de millones de dólares. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

El Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censo publicó que en el año 2014 se diagnosticaron 18,073 casos de diabetes en el Ecuador de los cuales 17,470 casos fueron dados de alta pero 603 fallecieron. (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, 2015).

La prevalencia de la diabetes es cada vez mayor, esto podría ser debido a distintos factores; así mismo el aumento de la mortalidad de la diabetes podría atribuirse a la falta de cuidados del enfermo ya sea en dieta como en ejercicio.

Es por esto que se hace necesaria la presente investigación, así como el desarrollo de nuevos tratamientos para prevenir esta enfermedad crónica. El presente estudio promueve un posible tratamiento preventivo para la diabetes que busca no solo prevenir el aumento de los niveles de glucosa en sangre sino también el proteger las células que pueden dañarse en el proceso de la enfermedad.

CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO

1.1 ANTECEDENTES

Estudios sobre los efectos del macerado de *Allium sativum* en las alteraciones del páncreas en ratas diabéticas inducidas con aloxano, demuestran que el *Allium sativum* puede usarse en el tratamiento de las complicaciones de la Diabetes mellitus, esto puede deberse a que la preparación de ajo macerado administrado a las ratas contenía flavonoides y componentes azufrados, los cuales promovieron la secreción de insulina por parte de las células β pancreáticas. (Oyebadejo, Bassey, & Malachy, Antagonistic Salubrious Effects of Macerated Allium Sativum, 2013).

También se ha investigado el efecto histopatológico y bioquímico de aceite de *Allium sativum* en ratas con diabetes tipo 1, donde el aceite de *Allium sativum* fue capaz de normalizar los niveles de glucosa en la sangre en ratas con diabetes tipo 1 con un incremento en la producción de insulina debido a la regeneración histológica del tejido pancreático dañado que se produjo en el proceso de la enfermedad. (Alashkham, Osman, Adnan, & Bakar, 2013).

Así mismo, una investigación sobre la disminución de la glucosa plasmática mediante el extracto acuoso del ajo ha detallado que en ratas sanas el ajo tiene un efecto hipoglucemiante ya que aumenta la producción de insulina. (Mokni, Hamlaoui, Limam, Amri, & Aouani, 2013).

Además, se ha analizado el efecto del extracto en etanol de bulbos de *Allium sativum* en ratas con diabetes inducida usando estreptozotocin, estudio el cual demostró que después de 14 días de tratamiento el grupo al que se administraba una dosis alta de *Allium sativum* tuvo una mayor eficacia al momento de disminuir los niveles de glucosa en comparación con el grupo al cual se le administró un fármaco actualmente comercializado para el tratamiento de la diabetes. (Shakya, Saxena, & Anita, 2010).

Además, otro estudio sobre el efecto de la co-administración de extracto de *Allium sativum* y metmorfin sobre la glucosa en sangre de ratas con diabetes inducida por estreptozotocin detalló que las ratas con un tratamiento de *Allium sativum* y metmorfin en conjunto en una dosis alta obtuvo una mayor disminución de los niveles de glucosa en sangre así como un mayor aumento de peso en comparación con los demás grupos. (Tripathi, Gupta, & Lal, 2013).

Por otro lado, un estudio sobre el efecto antidiabético del agua alcalina reducida en ratas OLETF, estudio en el cual se expresó que el agua alcalina reducida tiene importantes efectos previniendo y controlando no solo la glucosa en sangre, sino también controlando el peso, colesterol, triglicéridos, GPT y GOT, indicadores que aumentan en las complicaciones de la diabetes. (Jin, et al., 2006).

Así mismo, otro estudio del efecto preservativo del agua electrolizada reducida sobre las células β pancreáticas en ratones diabéticos, donde se probó que el agua electrolizada reducida mejoró la función de las células β pancreáticas, lo que produjo un aumento de la secreción de insulina y la sensibilidad a la insulina, esto conllevó a una disminución de la hiperglucemia y una reducción del desarrollo de la diabetes. (Kim, Jung, Uhm, Leem, & Kim, 2007).

Una recopilación sobre las propiedades físico-químicas, biológicas y terapéuticas del agua alcalina nos dice que el agua alcalina fue incluida en la farmacopea japonesa desde 1965 para el tratamiento de problemas gastrointestinales, pero actualmente varios estudios han señalado que esta también podría tener beneficios terapéuticos para enfermedades como el cáncer, la diabetes entre otros. (Henry & Chambron, 2013).

Estudios realizados sobre el agua reducida o alcalina ha demostrado que posee beneficios para la salud, debido a que reduce el stress oxidativo que conlleva a enfermedades tales como la diabetes, cáncer, arterioesclerosis, entre otras. (Shitahata, Hamasaki, & Teruya, 2012).

1.2 ESTADO DEL ARTE

Una investigación científica sobre el efecto protector del extracto de *Allium sativum* frente a la inducción de diabetes con aloxano en ratas, en las que se administró un extracto acuoso de *Allium sativum* durante 7 días antes de la inducción de diabetes con aloxano y 14 días después de la misma, concluyendo que el *Allium sativum* tuvo un efecto preventivo sobre el aloxano, ya que previno la elevación de la glucosa en sangre. (Ojo, Memedu, Akintayo, & Akpan, 2012).

Un estudio del efecto del agua reducida o agua alcalina en la apoptosis y diabetes mellitus tipo 1 inducida con aloxano, tuvo como resultado que los ratones tratados con agua alcalina y luego inyectarles aloxano sufrieron una menor apoptosis en el páncreas; un menor incremento y posterior reducción de los niveles de glucosa en sangre; y una menor disminución y posterior aumento de la insulina; todo esto en comparación con ratones que fueron administrados con agua purificada y agua mineralizada. Concluyendo que el agua alcalina tiene un importante efecto en prevención de la apoptosis de células pancreáticas, así como un efecto positivo en la prevención y control de la enfermedad diabetes mellitus. (Li, et al., 2012).

Si bien se han realizado gran variedad de estudios sobre el efecto citoprotector y regenerativo del *Allium sativum* en las células β pancreáticas, y mediante otros estudios se ha determinado el efecto protector y regenerativo del agua alcalina frente a la inducción de diabetes en ratas; no se ha realizado una investigación científica como la que se plantea en este trabajo de titulación; ya que buscamos la prevención del desarrollo de diabetes inducida por aloxano al mezclar el *Allium sativum* y el Agua Alcalina, sinergismo del cual no se ha reportado estudio alguno a nivel mundial.

1.3 FUNDAMENTOS TEÓRICOS

1.3.1 Diabetes

En el páncreas se produce la insulina, hormona que tiene la función de convertir la glucosa de los alimentos en energía para el cuerpo humano. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Una persona presenta diabetes cuando no puede aprovechar la glucosa adecuadamente, ya sea porque la insulina es producida en cantidades insuficientes o porque no puede aprovecharla apropiadamente. Como consecuencia de esto, la glucosa continúa en la circulación, lo cual con el paso del tiempo daña tejidos del cuerpo, lo cual puede conllevar a complicaciones en la salud que pueden llegar a ser mortales. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Hay tres tipos principales de diabetes:

- Diabetes Tipo 1
- Diabetes Tipo 2
- Diabetes Gestacional

1.3.2 Tipos de Diabetes

1.3.2.1 Diabetes Tipo 1

Este tipo de diabetes se da debido a una reacción autoinmune, en esta enfermedad el sistema inmunológico del individuo va a atacar sus células β productoras pancreáticas de insulina. Y como resultado de esto, el páncreas ya no puede producir la insulina necesaria para el organismo. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

La diabetes tipo 1 generalmente afecta a niños y adultos jóvenes, pero también puede afectar a personas de cualquier edad. Las personas con este

padecimiento requieren insulina diariamente para poder controlar los niveles de glucosa sanguínea. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

La diabetes tipo 1 produce síntomas como:

- Polidipsia
- Poliuria
- Falta de energía, cansancio extremo
- Polifagia
- Pérdida de peso
- Lenta cicatrización de las heridas
- Infecciones frecuentes
- Visión borrosa

Los individuos con este tipo de diabetes pueden llevar una vida promedio normal mediante la administración de insulina diaria, dieta adecuada y el ejercicio físico constante. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

La incidencia este tipo diabetes está en aumento. Esto podría ser por factores medioambientales, acontecimientos en el útero, alimentos consumidos en los primeros años de vida, así como también a infecciones virales. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.2.2 Diabetes tipo 2

Es el tipo de diabetes más común, afecta normalmente en adultos, pero su está afectando cada vez más a niños y adolescentes. En este tipo de diabetes, el organismo tiene la capacidad de producir insulina, pero no reacciona correctamente a ella, lo que conlleva a una acumulación de glucosa sanguínea. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

En muchas personas, los síntomas demoran años en presentarse, pero durante esta etapa asintomática el cuerpo es afectado por el exceso de glucosa

en sangre. Esta enfermedad suele diagnosticarse sólo cuando las complicaciones se han desarrollado y el organismo ya está afectado. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Los factores de riesgo para el desarrollo de esta enfermedad son:

- Obesidad
- Alimentación inadecuada
- Falta de actividad física
- Edad avanzada
- Antecedentes de familiares con diabetes
- Raza
- Altos niveles de glucosa en el embarazo que pueden afectar al infante.

(Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

El mayor número de personas con este tipo de diabetes no requieren insulina para continuar su vida, debido a que pueden controlar los niveles de glucosa en su sangre mediante una dieta adecuada y ejercicio, además de la administración de medicamentos por vía oral. Pero en caso de no poder regular los niveles de glucosa sanguínea pueden llegar a necesitar insulina. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

La incidencia de este tipo de diabetes está aumentando precipitadamente en todo el mundo, lo cual podría estar asociado al desarrollo económico, el envejecimiento de la población, cambios en la alimentación y el sedentarismo. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.2.3 Diabetes Gestacional

Se denomina al suceso cuando una mujer desarrolla una resistencia a la insulina durante el embarazo. Esto produce debido a que la acción de la insulina

es anulada por hormonas segregadas durante el embarazo. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

Esta diabetes comúnmente se desarrolla en un tiempo tardío del embarazo y cuando el feto ya está formado, por lo tanto no existe un riesgo inmediato para el bebé. Pero en caso de no controlarse puede finalizar en graves consecuencias, tanto para la madre como para el bebé. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Las mujeres que han padecido de diabetes gestacional presentan un mayor riesgo de desarrollar diabetes gestacional en embarazos posteriores, así como de desarrollar diabetes tipo 2. Así mismo, los infantes nacidos de madres que padecieron diabetes gestacional tienen una tendencia mayor a desarrollar sobrepeso y diabetes tipo 2. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.3 Complicaciones de la Diabetes

Las personas diabéticas pueden desarrollar enfermedades graves o inclusive mortales. Los niveles elevados de glucosa sanguínea pueden conllevar a enfermedades graves que afecten al corazón, vasos sanguíneos, ojos, riñones y nervios. La diabetes es una de las causas principales de enfermedades cardiovasculares, ceguera, insuficiencia renal y la amputación de miembros inferiores. (Organización Mundial de la Salud, 2009).

1.3.3.1 Enfermedades Cardiovasculares

Son la causa más común de deceso en las personas con diabetes. Las enfermedades más comunes en personas diabéticas son: angina de pecho, el infarto de miocardio, enfermedad arterial periférica e insuficiencia cardíaca congestiva. Estos padecimientos se desencadenan debido a presión arterial alta, hipercolesterolemia, hiperglucemia. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.3.2 Nefropatías

La diabetes es un factor desencadenante de la enfermedad renal crónica. Esto se debe a que la hiperglucemia y la presión arterial alta pueden lesionar a los vasos sanguíneos en los riñones, lo que conlleva a que los riñones sean menos eficientes, o que fallen por completo. El control de hiperglucemia e hipertensión, pueden disminuir el riesgo de padecer nefropatías. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.3.3 Retinopatías

La hiperglucemia junto con la hipertensión e hipercolesterolemia conllevan a que una persona diabética desarrolle enfermedades visuales. Esto se debe a que la red de vasos sanguíneos que irrigan la retina puede bloquearse y dañarse lo que lleva a la pérdida permanente de la visión. Las retinopatías se pueden tratar a través de controles regulares de los ojos y manteniendo unos niveles normales de glucemia. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.3.4 Neuropatías

Cuando existe hiperglucemia e hipertensión puede desencadenarse un daño en el sistema nervioso. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Estas neuropatías conllevan a problemas con la digestión, la orina y disfunción eréctil, además de otras funciones, pero las zonas más comúnmente afectadas son las extremidades, especialmente los pies. Los daños en los nervios de las extremidades se llaman neuropatías periféricas, los síntomas de estos son dolor, hormigueo y pérdida de sensibilidad. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.3.5 Pie Diabético

Como resultado de lesiones en los nervios y vasos sanguíneos las personas diabéticas pueden desarrollar pie diabético. Esta complicación puede

desencadenar en una infección y ulceración, lo que aumenta el riesgo de amputación. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

Los diabéticos presentan un riesgo de amputación 25 veces superior al de las personas sanas. Pero esto puede prevenirse con un buen tratamiento. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013)

1.3.3.6 Complicaciones en el Embarazo

Las mujeres diabéticas de cualquier tipo, presentan un riesgo de sufrir complicaciones durante el embarazo si no llevan un debido control de su enfermedad. (Federación Internacional de la Diabetes, 2013).

1.3.4 *Allium sativum*

1.3.4.1 Descripción Botánica

Es una hierba anual perenne, que pertenece a la familia de las Alliáceas (Liláceas), se caracteriza por crecer formando bulbos de 20 dientes o más. El tallo nace a partir de los bulbos, pudiendo alcanzar una altura de hasta casi 50cm. A partir de la vaina alargada que rodea el tallo nacen las hojas, lineares, dispuestas en forma de roseta, pudiendo estas alcanzar hasta los 60cm de largo. Las flores pueden ser blancas o rosadas, conformando una umbela en el extremo del tallo que se cierra antes de la floración. (Alonso, 2008).

1.3.4.2 Composición Química

El *Allium sativum* contiene numerosos componentes activos, siendo los más importantes sus compuestos azufrados. (Luengo, 2007).

Si el bulbo está intacto y fresco, el componente en mayor proporción es la aliína o sulfóxido de S-alil-cisteína. La aliína es una sustancia inodora e inestable. Además de ésta, en el bulbo intacto se encuentran otros compuestos azufrados y solubles en medio acuoso, como son los sulfóxidos S-metil-L-cisteína y S-propenil- S-cisteína, S-glutación, g-glutamil-S-alil cisteína, y g-glutamil-S-alil-mercapto-L-cisteína. (Luengo, 2007).

Si los bulbos de *Allium sativum* se almacenan a temperatura baja, la aliína se mantiene inalterable, mientras que si el *Allium sativum* es machacado o triturado, la aliína se transforma en alicina y otros compuestos azufrados (tiosulfatos), por la acción de la enzima aliinasa. Estos últimos son muy inestables y se transforman con rápidamente en otros compuestos organosulfurados: sulfuro de dialilo, disulfuro de dialilo (mayoritario en la esencia de ajo), trisulfuro de dialilo y ajoenos, siendo todos solubles en medio oleoso. (Luengo, 2007).

Además, el bulbo de *Allium sativum* posee sales minerales como el selenio, azúcares, lípidos, aminoácidos esenciales, saponósidos, terpenos, vitaminas, enzimas, flavonoides y otros compuestos fenólicos. (Luengo, 2007).

1.3.4.3 Propiedades Farmacológicas

Estudios realizados han puesto en evidencia muchas de las propiedades farmacológicas del *Allium sativum*, entre los cuales destacan su acción antioxidante, hipolipemiante, antiaterogénica, antitrombótica, hipotensora, antimicrobiana, antifúngica, anticarcinogénica, antitumorogénica e inmunomoduladora. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.1 Actividad Antioxidante

En numerosas investigaciones realizadas se ha demostrado que el *Allium sativum* fresco, así como muchos de sus preparados poseen efecto antioxidante. Se ha observado que el *Allium sativum* es eficaz al inhibir la formación de radicales libres, refuerza el mecanismo de captación de radicales endógenos, aumenta las enzimas antioxidantes celulares, protege las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación por los radicales libres e inhibe la activación del factor nuclear Kappa B que es el factor de transcripción inducido por oxidantes. (Luengo, 2007).

Los componentes con una mayor capacidad antioxidante podrían ser S-alil-cisteína y alicina, y también se ha demostrado que el efecto antioxidante es dependiente tanto de la dosis como del tiempo. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.2 Actividad Hipolipemiante

Se encuentra documentado que el *Allium sativum* y sus componentes presentan un efecto positivo en la hipercolesterolemia, ya que disminuye los valores de colesterol total y de cLDL. Pero su efecto reductor del colesterol está relacionado con la dosis administrada. (Luengo, 2007).

Entre los mecanismos de acción propuestos, se incluye la inhibición de la biosíntesis del colesterol, ya que el *Allium sativum* podría inhibir la actividad de ciertas enzimas, como la hidroximetilglutaril- coenzima A reductasa (HMG-CoA) y la lanolesterol- 14-dimetilasa. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.3 Actividad Antiagregante y Fibrinolítica

Se han comprobado también que el *Allium sativum* posee propiedades inhibitorias en la agregación plaquetaria. Se considera que el componente del *Allium sativum* que actúa como inhibidor principal es la alicina, aunque algunos autores atribuyen esta propiedad a los ajoenos. (Luengo, 2007).

Entre los mecanismos de acción propuestos en su efecto antiagregante, se incluye la inhibición de la síntesis del tromboxano mediante la inhibición de la ciclooxigenasa y la lipooxigenasa, y su efecto inhibidor sobre receptores plaquetarios de ADP, colágeno y fibrinógeno. Así también, ciertos componentes del ajo afectan también a los procesos que preceden a la agregación plaquetaria, como la activación de los trombocitos. (Luengo, 2007).

En diferentes ensayos clínicos se ha observado que el efecto antitrombótico del *Allium sativum*, puede potenciar la actividad antiagregante de otros fármacos y ser causa de interacciones medicamentosas, así como originar efectos adversos. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.4 Actividad Antihipertensiva

Se han publicado un gran número de ensayos clínicos que demuestran el efecto hipotensor del *Allium sativum*. Este efecto antihipertensivo podría deberse a su efecto vasodilatador. (Luengo, 2007).

Además, se ha comprobado en cultivos de células endoteliales, que un extracto acuoso de ajo fresco puede inhibir de manera eficaz la actividad de la

adenosina desaminasa (ADA), lo que puede contribuir a la actividad antihipertensiva y a los efectos vasoprotectores del ajo. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.5 Actividad Antimicrobiana y Antifúngica

Se ha demostrado que la alicina es una molécula activa contra bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque parece que también contribuyen los ajoenos y el trisulfuro de dialilo. El *Allium sativum* es también antifúngico, ya que se ha demostrado su actividad frente a *Cándida* y otros hongos, teniendo una eficacia muy similar al clotrimazol en la eliminación de los síntomas clínicos de la candidiasis oral. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.6 Actividad Anticarcinogénica y Antitumorogénica

Estudios epidemiológicos y ensayos realizados en animales han demostrado que el consumo de ajo ejerce un efecto protector que reduce la incidencia de determinados tipos de cánceres, como el gástrico, colorrectal, de mama, cervical, etc. (Luengo, 2007).

El efecto anticancerogénico parece deberse a diversos mecanismos, como ser captador de radicales libres, incrementar los valores de glutatión, incrementar o modular la actividad de enzimas como glutatión-S-transferasa, catalasa, mecanismos de reparación de ADN, prevención del daño cromosómico, etc. (Luengo, 2007).

1.3.4.3.7 Actividad Inmunomoduladora

Estudios han demostrado que el ajo tiene varios efectos que aumentan la inmunidad, como la estimulación de la proliferación de linfocitos y la fagocitosis de macrófagos, así como la estimulación de la liberación del interferón gamma. También se ha demostrado que el ajo y sus componentes aumentan la actividad de las células asesinas naturales. (Luengo, 2007).

1.3.4.4 Indicaciones

Tradicionalmente se ha utilizado en el tratamiento de bronquitis crónica, catarros, asma bronquial y gripe. También se ha utilizado para tratar la aerofagia, dispepsias, espasmos abdominales y amenorrea. Tópicamente se lo ha utilizado para el tratamiento de callos, verrugas, otitis, artritis, artralgias, neuralgias o ciática. (Sociedad Española de Fitoterapia, 2007).

Sin embargo, el uso actual del *Allium sativum* y sus preparados se ha centrado en su acción antihipertensiva, antiaterogénica, antitrombótica, antimicrobiana, fibrinolítica, preventiva del cáncer e hipolipemiente. (Luengo, 2007).

En cuanto a las dosis recomendadas, la dosis eficaz todavía no ha sido bien determinada, pero en general se recomienda para un adulto una dosis de unos 4 g al día de ajo o 300 mg de ajo pulverizado encapsulado (valorado en 1,3% de aliína o 0,6% de alicina) dos o tres veces al día o 7,2 g de extracto de ajo envejecido al día. (Luengo, 2007).

1.3.4.5 Reacciones Adversas

Se considera que el *Allium sativum* carece de toxicidad. Sin embargo, el consumo del mismo puede producir efectos adversos, siendo los más comunes el desarrollo de mal aliento o mal olor corporal. (Sociedad Española de Fitoterapia, 2007).

En casos menos frecuentes y cuando se consume en dosis muy elevadas o en personas muy sensibles, el *Allium sativum* puede producir: dolor abdominal, sensación de saciedad, náuseas y flatulencia. También, mucho más raramente, podría producir síndrome de Ménière, infarto de miocardio, hematoma epidural o alteración en la coagulación. (Luengo, 2007).

Por otro lado, el poder alergénico del ajo está bien reconocido, esto se le ha atribuido a los compuestos disulfuro de dialilo, el sulfuro de alilpropilo y la alicina.

Se ha indicado aparición de reacciones alérgicas tanto por ingestión como por contacto, siendo la más frecuente la dermatitis por contacto. (Luengo, 2007).

1.3.4.6 Interacciones

El *Allium sativum* puede potenciar los efectos de los anticoagulantes y de los antiagregantes plaquetarios, lo que favorece la aparición de hemorragias. Diversos informes han sugerido que los complementos dietéticos y preparados fitoterapéuticos de *Allium sativum* aumentan el riesgo de hemorragia en pacientes durante una cirugía, por lo que se recomienda no consumir dosis elevadas de estos productos al menos 10 días previos a una intervención quirúrgica. (Sociedad Española de Fitoterapia, 2007).

También se ha registrado la interacción con saquinavir y posiblemente con otros inhibidores de la proteasa, ya que el *Allium sativum* puede disminuir los valores de saquinavir en sangre y, por lo tanto, reducir su efectividad. (Sociedad Española de Fitoterapia, 2007).

1.3.4.7 Contraindicaciones

Está contraindicado en personas hipersensibles, y debe usarse con precaución en caso de trastornos de la coagulación debido a que puede favorecer la aparición de hemorragias. (Luengo, 2007).

El *Allium sativum* se considera como abortivo y que afecta al ciclo menstrual, así también se ha descrito que presenta actividad uterínica. Además, algunos estudios han demostrado que el consumo de *Allium sativum* por parte de las madres lactantes altera el olor de su leche y la conducta de los lactantes. Esto puede deberse a que los sulfóxidos se excretan en cantidades significativas con la leche materna, lo que le confiere un sabor desagradable que puede afectar al niño. Por todo esto y la falta de informes clínicos completos sobre sus efectos adversos durante el embarazo y lactancia no debería ingerirse cantidades de *Allium sativum* que excedan a las utilizadas normalmente en las comidas durante dichos períodos. (Sociedad Española de Fitoterapia, 2007).

1.3.4.8 Preparados de *Allium sativum*

Tabla 1

Preparados de ajo más utilizados y sus características

PREPARADO DE AJO	CARACTERÍSTICAS
<i>Ajo deshidratado pulverizado y encapsulado</i>	Su producción conlleva a una pérdida casi total de aliína
<i>Aceite de Ajo (Esencia de Ajo)</i>	Es obtenido por destilación, carece de alicina y de compuestos hidrosolubles.
<i>Macerado Oleoso de Ajo</i>	Se obtiene por maceración de ajo machacado en aceite vegetal, se presenta encapsulado, contiene aliína y alicina la cual se descompone en numerosos compuestos organosulfurados.
<i>Extracto de Ajo Envejecido</i>	Obtenido por maceración de láminas de bulbo de ajo en solución hidroalcohólica (15-20%) durante 20 meses o más, a temperatura ambiente. Es rico en derivados azufrados solubles en agua compuestos fenólicos, saponinas y otros nutrientes esenciales. Carece de compuestos liposolubles inestables como la alicina.

Nota. Fuente: (Luengo, 2007)

1.3.5 Agua Alcalina

1.3.5.1 Historia del Agua Alcalina

En la antigüedad los griegos usaban envases de cobre y latón con movimientos circulares para ionizar el agua. (AQUAGOLDEN, 2013).

El Dr. Henri Coanda, en 1930, viajó a remotas aldeas del Himalaya (los Hunzas), y a algunas partes de China, para investigar la longevidad de las personas en esas áreas. Observó las propiedades del agua alcalina de los glaciales ingeridos por los habitantes del pueblo y planteó la idea de crear artificialmente la estructura de esta agua. (AQUAGOLDEN, 2013).

Pero fue en la década de los 40, cuando investigadores japoneses experimentaron con el proceso de electrólisis, el cual fue inventado por los rusos en 1920, separando así el agua en componentes alcalinos y ácidos usando una membrana. (AQUAGOLDEN, 2013) .

El agua alcalina ionizada se obtiene usando un ionizador de agua para así separar eléctricamente el agua del grifo filtrada en agua iónica alcalina y agua ácida, cada una de las cuales pasa a cámara separadas. (AQUAGOLDEN, 2013)

Los primeros ionizadores de agua alcalina estaban disponibles en Japón para 1958. Estos ionizadores de fabricación japonesa fueron introducidos por primera vez a Corea en los años 70. En 1985, se introdujo en los Estados Unidos, donde pruebas de toxicidad fueron llevadas a cabo con éxito; demostrándose así que no había toxicidad alguna en el agua ionizada alcalina, generada por el ionizador de agua. (AQUAGOLDEN, 2013).

1.3.5.2 Relación de la Alcalinidad con la Salud

El equilibrio ácido-alcalino del organismo es elemental para gozar de una buena salud. En los últimos 10 años, la obesidad, el cáncer, la diabetes, la osteoporosis, las enfermedades cardiovasculares, digestivas y crónicas, han

aumentado considerablemente. Esto se debe principalmente al aumento de los niveles de acidez en nuestro organismo, el cual posee un pH de alrededor 7,4, considerado ligeramente alcalino. (Ecogaia, 2010).

El sedentarismo, estrés, consumo de alcohol, tabaco y la contaminación ambiental, mezclados con una alimentación deficiente en minerales y de grasas excesivas, azúcares y aditivos químicos, contribuyen a un desequilibrio ácido en el organismo. Esa acidez degrada a las células y a causa malestares, fatiga, atrofas musculares, problemas neurológicos, trastornos digestivos y puede conllevar a enfermedades crónicas, degenerativas y fatales. (Ecogaia, 2010).

Todas las células de nuestro cuerpo en su actividad metabólica diaria, producen desechos al recibir los nutrientes que convierten en energía, desechos que en su mayoría son de naturaleza ácida. Estos desechos se eliminan por la orina, heces y la transpiración. Como el organismo tiene que preservar el pH de la sangre para preservar su vida, los desechos ácidos que no lograra eliminar los convertirá en desechos sólidos. Cuando se acumulan estos desechos, acaban convirtiéndose en colesterol, ácido graso, ácido úrico, cálculos en los riñones y vejiga, uratos, fosfatos, sulfatos, etc.; produciéndose así un gran número de enfermedades. (Ecogaia, 2010).

1.3.5.3 Diabetes Y Deshidratación

Para algunos investigadores la diabetes Tipo I podría ser también el resultado de una carencia de agua. Esto podría ser debido a que cuando hay una deshidratación, el cuerpo produce histamina para regular el nivel agua y las prostaglandinas. (Ecoportal, 2014).

Siendo una de ellas la prostaglandina tipo E, la cual parece estar implicada en la elaboración de la solución bicarbonatada que contrarresta la acidez de los alimentos, pero también se encarga de inhibir naturalmente la secreción de insulina. (Ecoportal, 2014).

Se podría decir que la prostaglandina E tiene dos funciones bien claras: distribuir agua al páncreas e inhibir la acción de la insulina. Siendo esa inhibición la que podría ser causa de la diabetes tipo I. (Ecoportal, 2014).

En cuanto a la diabetes Tipo II, se debería a la deshidratación crónica y al trastorno del metabolismo de los aminoácidos en el organismo, responsable muy probablemente de la destrucción del ADN en las células beta-pancreáticas. (Ecoportal, 2014).

1.3.5.4 El Agua Alcalina como Antioxidante

El oxígeno es esencial para sobrevivir. Es relativamente estable en el aire pero cuando se absorbe demasiado dentro del cuerpo, este se puede volver activo e inestable y posee la tendencia de anclarse a cualquier biomolécula incluyendo moléculas de células sanas. La actividad química de estos radicales libres es debida a que poseen uno o más pares de electrones libres. (Water for Health Ltd., 2009).

Estos radicales libres son inestables y poseen un gran potencial de oxidación, lo que significa que son capaces de robar electrones a otras células. Dentro del cuerpo, estos radicales libres suponen un gran beneficio para la salud debido a su habilidad de atacar y eliminar bacterias, virus y otros productos de desecho. El problema empieza cuando hay demasiadas moléculas de oxígeno activas o radicales libres, dentro del cuerpo y ya que son extremadamente reactivas pueden unirse a células sanas y dañarlas genéticamente. Así mismo, se considera que el robo de electrones por parte de los radicales libres es la mayor causa de las enfermedades degenerativas. (Water for Health Ltd., 2009).

Una forma de proteger los tejidos sanos de la acción de los radicales libres es neutralizando su alto potencial de oxidación y así prevenir que reaccionen con tejidos sanos. (Water for Health Ltd., 2009).

Las sustancias que son consideradas antioxidantes incluyen la vitamina C, vitamina E, beta carotenos, selenio y glutatión, estas sustancias aportan los

electrones que faltan a los radicales libres y así bloquean la interacción de los mismos con los tejidos sanos. (Water for Health Ltd., 2009).

No existe algún sustituto de los antioxidantes como vitamina C, vitamina E, betacaroteno y otros nutrientes que son buenos para el ser humano, Por otro lado, estas sustancias no son la mejor fuente de electrones libres que puedan bloquear la oxidación del tejido sano. (Water for Health Ltd., 2009).

El agua alcalina ionizada es una fuente segura de electrones libres que bloqueen la oxidación del tejido sano por la acción de los radicales libres. El agua alcalina o reducida con un exceso de electrones libres para donar oxígeno activo tiene una mejor capacidad de proveer muchos más antioxidantes que la comida o suplementos vitamínicos. Incluso el peso molecular del agua reducida es bajo, por lo que actúa más rápido ya que es capaz de llegar a todos los tejidos del cuerpo en muy poco tiempo. (Water for Health Ltd., 2009).

1.3.5.5 El Agua Alcalina en el Tratamiento de Enfermedades

Científicos y doctores han declarado que la mayoría de la población está sufriendo los efectos de la acidosis en los tejidos del cuerpo, lo cual es la principal causa de las enfermedades degenerativas. El estilo de vida moderno, dietas, estrés y la contaminación del medio ambiente contribuyen a un exceso de ácidos. (Water for Health Ltd., 2009).

El exceso de ácidos en los tejidos se manifiesta con fatiga, inflamación, reducción del sistema inmunológico y envejecimiento prematuro. (Water for Health Ltd., 2009).

La lista de las enfermedades que son atribuidas a un exceso de desechos ácidos en los tejidos y el daño por los radicales libres incluye: enfermedades cardiovasculares que incluyen el aumento de colesterol, hipertensión, diabetes, cáncer, hipotiroidismo, osteoporosis, artritis, daño renal, inflamación gastrointestinal, problemas de la piel como eccemas, gota, infecciones por Cándida. (Water for Health Ltd., 2009).

El consumo de agua alcalina es beneficioso para cualquier enfermedad que es causada por exceso de desechos ácidos en los tejidos y el daño celular causado por radicales libres. El agua alcalina ayuda a neutralizar los desechos ácidos dañinos que fluyen por el cuerpo. Así también, neutraliza los radicales libres al donarles electrones. (Water for Health Ltd., 2009).

Hay un número de enfermedades específicas que investigadores y profesionales de la salud han comprobado que el beber agua alcalina es beneficioso. (Water for Health Ltd., 2009).

1.3.5.6 El Agua Alcalina y la Diabetes

Desde el punto de vista de la biología moderna, se está aclarando que la diabetes no es solo una enfermedad del páncreas o de las células beta. Además, es el resultado de un desbalance de pH en los fluidos corporales, que interfiere con el funcionamiento óptimo de las células a su alrededor. Las células beta al estar rodeadas de ácidos no pueden producir suficiente insulina. Así también, los ácidos destruyen los receptores de insulina en la membrana celular, así el cuerpo no puede usar apropiadamente esta hormona. Los síntomas de la diabetes que incluye orina frecuente, sed extrema, polifagia, pérdida de peso, fatiga extrema, desgaste muscular así como cetoacidosis, son el resultado del cuerpo tratando de mantener o regular el balance normal del pH en la sangre. (Water for Health Ltd., 2009).

También se ha señalado, que la disminución de iones de calcio en el cuerpo disminuye la producción y liberación de la hormona insulina. Lo que eventualmente dirige al organismo a una condición de acidosis en la sangre. Los bloqueos en los vasos sanguíneos causados por excesos de proteína conllevan a un déficit en la función pancreática. El agua alcalina suple el calcio previniendo el exceso de proteínas y podría ayudar a prevenir y curar esta condición. (Water for Health Ltd., 2009).

1.3.6 Aloxano

El aloxano (2,4,5,6-tetraoxipirimidina) es una pirimidina oxigenada descubierta por Von Liebig y Wohler en 1828 y ha sido catalogado como un potente agente oxidante. (Ankur & Shahjad, 2012).

El aloxano ha sido usado para inducir diabetes de forma experimental, debido a su efecto de destrucción selectiva de los islotes beta que son los productores de la insulina. Este induce una respuesta multifacética de la glucosa sanguínea, lo cual se acompaña de cambios inversos en la concentración de insulina, seguido de cambios estructurales secuenciales de las células beta hasta culminar en una necrosis celular. (Ankur & Shahjad, 2012).

Se ha notado que el aloxano induce una diabetes insulino dependiente y todos los factores morfológicos de la destrucción de las células beta. (Ankur & Shahjad, 2012).

El aloxano tiene un efecto diabetogénico al ser administrado por vía intravenosa, intraperitoneal o subcutánea. Las dosis de aloxano requeridas para la inducción de diabetes van a depender de la especie de animal, vía de administración y estado nutricional. Es necesario mencionar, que el aloxano ha demostrado no ser tóxico para las células β humanas, incluso en altas dosis, esto podría atribuirse a los diferentes mecanismos de absorción de glucosa entre humanos y roedores. (Ankur & Shahjad, 2012).

1.3.6.1 Fases de la Inducción de Diabetes

1.3.6.1.1 Primera Fase

La primera fase se da dentro de los primeros minutos a partir de la inyección de aloxano, esta es una fase de hipoglucemia que dura por lo menos 30 minutos, esto se debe a un incremento de secreción de insulina, mecanismo que puede ser atribuido a un incremento temporal de disponibilidad de ATP debido a la

inhibición de la fosforilación de glucosa a través de la inhibición de la glucokinasa. (Ankur & Shahjad, 2012).

1.3.6.1.2 Segunda Fase

Esta aparece una hora después de la administración del aloxano y conlleva a un aumento de la concentración de glucosa en sangre y se presenta una disminución de la concentración de insulina plasmática. Esta es la primera fase hiperglucémica y dura de 2 a 4 horas, esto es el resultado de una inhibición de la secreción de insulina en las células beta, lo que se atribuye a la toxicidad del aloxano. (Ankur & Shahjad, 2012).

1.3.6.1.3 Tercera Fase

Es otra fase hipoglucémica que se nota después de 4 a 8 horas de la inyección de aloxano y dura por varias horas. El flujo de insulina en la circulación ocurre como resultado de los gránulos secretores inducidos por el aloxano y la ruptura de la membrana celular. También otros organelos subcelulares son lesionados incluyendo retículo endoplasmático y aparato de golgi. Así mismo en esta fase. Las membranas de la mitocondria pierden la integridad de su estructura. Estos cambios son irreversibles y muy característicos de células necróticas en los islotes pancreáticos. (Ankur & Shahjad, 2012).

1.3.6.1.4 Cuarta Fase

Se da la completa desgranulación y pérdida de la integridad de las células beta entre las 24 a 48 horas luego de la administración de aloxano. (Ankur & Shahjad, 2012).

1.3.7 Glibenclamida

1.3.7.1 Mecanismo de Acción

La Glibenclamida va a estimular a las células β pancreáticas para la secreción de insulina. También va a reducir la producción hepática de glucosa y a aumentar la capacidad de unión y respuesta de la insulina en los tejidos periféricos. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.2 Indicaciones Terapéuticas

Se indica el uso de este fármaco cuando la diabetes tipo II no puede ser controlada, ya sea mediante la dieta, el ejercicio físico y pérdida de peso. También, se indica como coadyuvante de la insulina en diabetes insulino dependiente. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.3 Posología

Adultos: Se recomienda una dosis inicial de 2,5 - 5 mg/día, para luego promover a un aumento gradual en fracciones de 2,5 mg durante 1 ó 2 semanas hasta lograr normalizar la glucemia. Dosis máxima de 15 mg/día y excepcionalmente 20 mg/día. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Ancianos: Recomendable iniciar con una dosis de 1,25 - 2,5 mg/día. Las dosis mayores a 10 mg/día deberán dividirse en 2 tomas una con la primera comida abundante y otra con la cena. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.4 Modo de administración

Debe administrarse por vía oral, inmediatamente antes de la primera comida abundante. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

No se debe compensar el olvido de una dosis con un aumento de la siguiente dosis. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.5 Contraindicaciones

Contraindicado en casos de hipersensibilidad a Glibenclamida, sulfonilureas, derivados de sulfonamida, pacientes con diabetes tipo I, cetoacidosis diabética, precoma y coma diabéticos, I.R. /I.H. graves, embarazo, lactancia, en concomitancia con bosentán y en pacientes hiperglucémicos que se han sometidos a intervenciones quirúrgicas o en los que aparezca infección severa o traumatismo grave. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.6 Advertencias y Precauciones

Control regular de la glucemia, mantener una dieta estricta y regularidad en la administración del medicamento. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Existe un mayor riesgo de hipoglucemia en pacientes: que no cooperan, ancianos, con malnutrición o hiponutrición, con horarios de comida irregulares u omisión de comidas, con cambios en la dieta, que consumen alcohol, que tengan un desequilibrio entre el ejercicio físico y la ingesta de carbohidratos, sin esfuerzo físico habitual, pacientes con insuficiencia hepática, insuficiencia renal, hipotiroidismo, hipopituitarismo o insuficiencia Adrenocorticotropa, que hayan finalizado un tratamiento prolongado a dosis altas con corticosteroides, que presenten vasculopatía grave, que ingieran sobredosis de Glibenclamida. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Situaciones de estrés podrían requerir un cambio temporal a insulina. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Su consumo conlleva el riesgo de deficiencia de G6PDH, anemia hemolítica y riesgo de porfiria asociada a otras sulfonilureas. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Los síntomas de una hipoglucemia son más leves o ausentes si ésta se produce gradualmente o en caso de neuropatía autónoma o en tratamiento con betabloqueantes, clonidina, reserpina, guanetidina u otros simpaticolíticos. Una hipoglucemia se puede controlar con la ingesta inmediata de carbohidratos. Se debe monitorizar en caso de que se presente una hipoglucemia recurrente. La Hipoglucemia grave o prolongada podría requerir un tratamiento inmediato u hospitalización. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

La seguridad y eficacia no han sido evaluadas en niños y adolescentes, por lo tanto no se recomienda. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.7 Insuficiencia Hepática

Contraindicado en Insuficiencia Hepática grave. Precaución en Insuficiencia Hepática ya que existe un mayor riesgo de hipoglucemia. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.8 Insuficiencia Renal

Contraindicado en Insuficiencia Renal grave. Precaución en Insuficiencia Renal ya que existe un mayor riesgo de hipoglucemia. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.9 Interacciones

Pueden potenciar su acción como hipoglucemiante: insulina y otros antidiabéticos orales, antibióticos (claritromicina, cloranfenicol y sulfamidas, incluyendo trimetoprim-sulfametoxazol), antimicóticos (fluconazol, miconazol, ketoconazol), antiinflamatorios no esteroideos y analgésicos (fenilbutazona, salicilatos), anticoagulantes cumarínicos, hipolipemiantes (clofibrato), ciertos antidepresivos (IMAO, antidepresivos tricíclicos), inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (captopril, enalapril), antagonistas H₂ (cimetidina, ranitidina). (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Pueden reducir su acción como hipoglucemiante: rifampicina, diuréticos tiazídicos y beta-bloqueantes. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Aumenta la concentración de: ciclosporina, por lo tanto se recomienda ajustar dosis. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Evitar asociación con: alcohol, pimozida. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.10 Embarazo

Contraindicado, se debe cambiar a insulina. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.11 Lactancia

Su administración está contraindicada, no debe administrarse en periodo de lactancia para prevenir su ingestión a través de la leche materna. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Si fuese necesario, la paciente deberá cambiar a insulina o suspender la lactancia. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Como efectos peri y/o postnatales, se ha reportado que al administrar dosis muy elevadas durante la lactancia se produjo deformaciones de los huesos de extremidades en las crías de rata. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.12 Efectos sobre la Capacidad de Conducir

La capacidad de concentración y de reacción del paciente puede verse afectada debido a una hipoglucemia o una hiperglucemia, así como también a consecuencia de la reducción de la capacidad visual. Lo que puede ser un riesgo en situaciones donde estas capacidades sean de especial importancia. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.3.7.13 Reacciones Adversas

Al inicio del tratamiento puede presentarse molestias visuales; hipersensibilidad; náuseas, vómitos, hiperacidez gástrica, dolor epigástrico, anorexia, estreñimiento, diarrea; prurito, eritema, dermatitis, erupciones exantematosas. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

Raras: anemia hemolítica y anemia aplásica, leucopenia, linfocitosis, trombopenia, porfiria; ictericia colestásica, hepatosis; aumento de transaminasas. (Vidal Vademecum Spain, 2011).

1.4 GLOSARIO

AD LIBITUM.- Es una expresión del latín que significa literalmente “a placer, a voluntad” y quiere decir “como guste”.

ANTIATEROGÉNICO.- Es el término que se usa para la propiedad, acción o característica de ser anti-formador de ateromas, que son depósitos de lípidos en la pared arterial con producción de masas amarillentas de induración y reblandecimiento, que se observa en la aterosclerosis.

APOPTOSIS.- Proceso ordenado por el que la célula muere ante estímulos extra o intracelulares. La apoptosis es fundamental en el desarrollo de órganos y sistemas, en el mantenimiento de la homeostasis del número de células y en la defensa frente a patógenos. Es un proceso finamente regulado que cuando se altera produce graves patologías como malformaciones, defectos en el desarrollo, enfermedades autoinmunes, enfermedades neurodegenerativas o aparición de tumores.

FITOFÁRMACOS.- Son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas.

HIPERGLUCEMIA.- Aumento anormal de la cantidad de glucosa que hay en la sangre.

HIPOGLUCEMIANTE.- Sustancia que posee la capacidad de disminuir los niveles de glucosa en sangre.

NECROSIS.- Esta puede definirse como la muerte celular patológica.

POSOLOGÍA.- Determinación de las dosis en que deben administrarse los medicamentos.

CAPÍTULO 2: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 MÉTODOS CIENTÍFICOS EMPLEADOS EN LA INVESTIGACIÓN

2.1.1 Métodos Teóricos

Por las características de este proyecto se usó el método Hipotético – Deductivo, ya que se busca la aseverar o refutar la hipótesis planteada.

2.1.2 Métodos Empíricos

Los métodos empíricos usados para esta investigación fueron los de observación y experimentación.

Se realizó una observación mediante la búsqueda de antecedentes para luego plantear la hipótesis. Luego se realizó la respectiva experimentación para así comprobar la hipótesis planteada.

2.1.3 Métodos Matemáticos o Estadísticos

Se utilizó el método estadístico análisis de variación de medias; ya que esto sirvió de soporte para el análisis de los resultados y discusión, a partir de los cual se determinaron las conclusiones.

2.2 METODOLOGÍA



2.2.1 Conformación de Grupos de Trabajo y Aclimatización

Se usaron ratas Wistar machos con un peso promedio de 200 g \pm 20%, los cuales fueron provistos por el Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas. Los animales de experimentación fueron seleccionados de forma aleatoria para la formación de los ocho grupos de 12 animales de experimentación.

Las condiciones en las que se mantuvieron a los animales fueron de 22 – 25°C de temperatura y un fotoperiodo de 12:12 (luz/oscuridad).

Durante el tiempo de prueba los animales sujetos de estudio permanecieron en jaulas plásticas con tapas metálicas que contenían el alimento y agua de consumo, los mismos que fueron suministrados de forma *ad libitum*.

2.2.2 Determinación de Glucosa Inicial

Se procedió a determinar los valores iniciales de glucosa en cada uno de los animales, para ello se retiró el alimento 12 horas antes de la extracción de sangre.

Para la realización de este procedimiento se anestesió al animal colocándolo en una cabina saturada con éter etílico, aplicando los principios éticos de refinamiento de la técnica, y con la ayuda de un capilar se obtuvo la muestra sanguínea del plexo ocular, se procedió a centrifugar la muestra para así separar el plasma y usar este para realizar las determinaciones de glucosa.

Para la determinación de glucosa se utilizó el método enzimático de Wiener Lab, el cual indica que en tres tubos marcados como B (Blanco), S (Estándar) y D (Desconocido) se debe agregar reactivos o muestra según se indica en la Tabla 2.

Tabla 2

Esquema de cantidades de estándar, muestra y reactivo de trabajo para la determinación de glucosa mediante el método enzimático de Wiener Lab.

	B	S	D
Estándar	-	20µl	-
Muestra	-		20µl
Reactivo de Trabajo	2ml	2ml	2ml

Nota. Fuente (Wiener Lab, 2000).

Se incubó por 10 minutos en baño de agua a 37°C. Luego se lee en espectrofotómetro a 505 nm llevando el aparato a cero con el blanco. (Wiener Lab, 2000).

Luego de la determinación de glucosa inicial se procedió a reorganizar los grupos de trabajo para empezar el experimento con un promedio igual y no exista diferencia estadística entre grupos que pueda comprometer los resultados estadísticos finales.

2.2.3 Fase de Tratamiento

Los diversos tratamientos se administraron a los grupos de experimentación de acuerdo a lo detallado en la Tabla 3.

Tabla 3

Tratamientos y dosis a los diferentes grupos de trabajo.

GRUPO DE EXPERIMENTACIÓN		TRATAMIENTOS	INDUCCIÓN DE DIABETES	DOSIS mg/Kg	VOLUMEN ml/Kg
Grupo A	<i>Control Normal</i>	Agua Potable	No	N/A	10
Grupo B	<i>Control Negativo</i>	Agua Potable	Si	N/A	10
Grupo C	<i>Control Positivo</i>	Glibenclamida	Si	0,05	N/A
Grupo D	<i>Muestra 1</i>	Allium sativum	Si	250	N/A
Grupo E	<i>Muestra 2</i>	Agua alcalina	Si	N/A	10 ^a
Grupo F	<i>Muestra 3</i>	Allium sativum y Agua Alcalina	Si	250	20 ^a
Grupo G	<i>Muestra 4</i>	Allium sativum y Agua Alcalina	Si	500	10 ^a
Grupo H	<i>Muestra 5</i>	Allium sativum y Agua Alcalina	Si	1000	5

Nota. Fuente: Chaca & Piguave (2015)

N/A No Aplica

^a Para la administración de este volumen se realizó un recálculo de acuerdo al peso corporal del animal y repartido durante el día en varias administraciones.

2.2.3.1 Preparación de las muestras

2.2.3.1.1 Aceite de *Allium sativum*

La muestra del aceite de *Allium sativum* se obtuvo a partir de cápsulas blandas de aceite de ajo, para lo cual se extrajo el aceite con la ayuda de una jeringuilla según la cantidad necesaria para la respectiva dosificación (Anexo1).

2.2.3.1.2 Agua Alcalina

Se vertió agua potable en un purificador de agua Pimag Water System de Nikken para purificar y mineralizar el agua, luego esta agua se pasó a un optimizador de agua Nikken Pimag Optimizer y de aquí se obtuvo el agua alcalina que será administrada (Anexo2).

2.2.3.1.3 Glibenclamida

Se trituró las tabletas de Glibenclamida hasta reducir a polvo fino, para con ello realizar una dilución en carboxi-metil celulosa 0.5% (Anexo3).

2.2.4 Inducción de Diabetes

La diabetes fue inducida después de los 7, 14 y 21 días de tratamiento, inyectando aloxano vía intraperitoneal en dosis de 100mg/Kg. El aloxano fue recién preparado y disuelto en 0,05 M de buffer Citrato a pH 4,5 debido a la inestabilidad del mismo. (Li, et al., 2012). La inducción de la diabetes se realizó en todos los grupos de experimentación con excepción del grupo control (Grupo A) (Anexo 4).

2.2.5 Determinación de Glucosa Final

Después de 72 horas de la inducción de diabetes se procedió a medir los niveles de glucosa final de 4 animales de experimentación de cada grupo. Para

esto los animales de experimentación fueron sujetos a ayuna de 12 horas pero tuvieron acceso a agua potable. Se procedió a tomar la muestra de sangre para el análisis de glucosa siguiendo el procedimiento antes mencionado.

2.2.6 Extracción del Páncreas

Luego de tomar la muestra para la determinación de glucosa final se procedió a darles eutanasia a los animales de experimentación, de acuerdo a los principios éticos 3Rs.

Comprobada la muerte del animal, se realizó la disección del mismo, se extrajo el páncreas y se lo colocó en recipientes con formol al 10% y solución tampón durante 48 horas.

2.2.7 Procesamiento de las Muestras del Páncreas para el Análisis Histopatológico

2.2.7.1 Formación de Bloques de Parafina

1. Luego de que el páncreas estuvo en formol buferado por 48 horas, se realizó el corte de una sección del órgano a estudiar (Anexo 9).
2. El corte realizado se colocó en un casete para biopsias (Anexo 10).
3. Se procedió a enjuagar los casetes con abundante agua potable para retirar excesos de formol.
4. Luego se colocó los casetes en Alcohol al 70%, Alcohol al 90% y alcohol absoluto durante 30, 40 y 40 minutos respectivamente (Anexo 11).
5. Después se sumergió los casetes en 3 diferentes frascos con Xileno durante 30, 40 y 40 minutos respectivamente (Anexo 12).
6. Los casetes fueron colocados en parafina líquida a 57°C durante 15 minutos, para luego ponerlos nuevamente en otro contenedor con parafina durante 15 minutos más (Anexo 13).

7. Se realizó la inclusión en parafina colocando el tejido en una placa de acero inoxidable y añadiendo parafina líquida (Anexo 14).
8. Se lo colocó en una placa congelante para solidificar y así formar los bloques de parafina (Anexo 15).

2.2.7.2 Corte del Tejido

1. Se procedió a cortar los bloques de parafina, usando un micrótopo graduado para obtener un corte de 5 μm del tejido parafinado (Anexo 16).
2. Se tomó con una pinza el corte en parafina y colocó en un baño para flotación de tejidos que contenía gelatina y agua a 50°C (Anexo 17).
3. Se seleccionó los mejores cortes y se los tomó con una placa portaobjetos (Anexo 18).

2.2.7.3 Tinción Eosina-Hematoxilina (Anexo 19).

1. Se realizó la desparafinización del tejido colocando las placas en una gradilla en la estufa durante 2 horas.
2. Se completó la desparafinización del tejido colocando las placas en 5 recipientes con xilol durante 30 minutos en cada uno.
3. Se hidrató el tejido colocando las placas en alcohol al 100%, 95% y 80% durante 20 minutos cada uno, esto se realiza para que la tinción entre fácilmente al tejido.
4. Se puso las placas en un recipiente con tinción de hematoxilina durante 4 minutos.
5. Se enjuagó con abundante agua potable hasta que el agua de lavado no presente coloración alguna.

6. Se procedió a sumergir las placas en alcohol ácido para retirar el exceso de hematoxilina.
7. Luego se colocó las placas en alcohol al 80%.
8. Se sumergió las placas en la tinción de eosina durante 4 minutos.
9. Las placas se enjuagaron, 2 veces en alcohol al 95% y otras dos con alcohol al 100%.
10. Se dejó secar las placas al ambiente. (Anexo 20).
11. Se colocó las placas en Xileno durante 15 minutos.
12. Se realizó el montaje de las placas, humedeciendo la placa con xileno y agregando 3 gotas de entellan a la placa, luego se colocó la laminilla cubreobjetos y se dejó secar (Anexo 21).

2.2.8 Análisis Histopatológico

Se procedió a observar al microscopio las diferentes placas con aumentos de 10x y 40x; diferenciando los Islotes de Langerhans, las Células β Pancreáticas, la arquitectura pancreática y determinando si hubo la presencia de indicadores de inflamación que demuestren necrosis celular (Anexo 22).

2.3 TIPO DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación es exploratoria, debido a que si bien hay antecedentes con respecto al efecto de los principios activos estudiados, el tema de investigación planteado no ha sido estudiado antes.

2.4 DISEÑO EXPERIMENTAL DE LA INVESTIGACIÓN

El diseño experimental del presente estudio fue un diseño experimental verdadero, ya que hubo la manipulación intencional de las variables

independientes como lo son las dosis y el tiempo de administración de los diferentes tratamientos.

El diseño experimental verdadero a su vez, fue un diseño con medición previa y posterior con grupo control, ya que se realizaron mediciones de glucosa antes y después del tratamiento, encontrándose todos los grupos de trabajo bajo las mismas condiciones durante todo el estudio.

Por otro lado, el diseño experimental verdadero usado también fue un diseño experimental de series cronológicas, debido a que el tiempo de tratamiento es una variable independiente en este proyecto investigativo, dándose las mediciones de glucosa y los análisis histopatológicos del páncreas en diferentes intervalos de tiempo (7, 14 y 21 días de tratamiento).

CAPITULO III: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

3.1 RESULTADOS DE LA EXPERIMENTACIÓN

3.1.1 Resultados Glucosa Plasmática

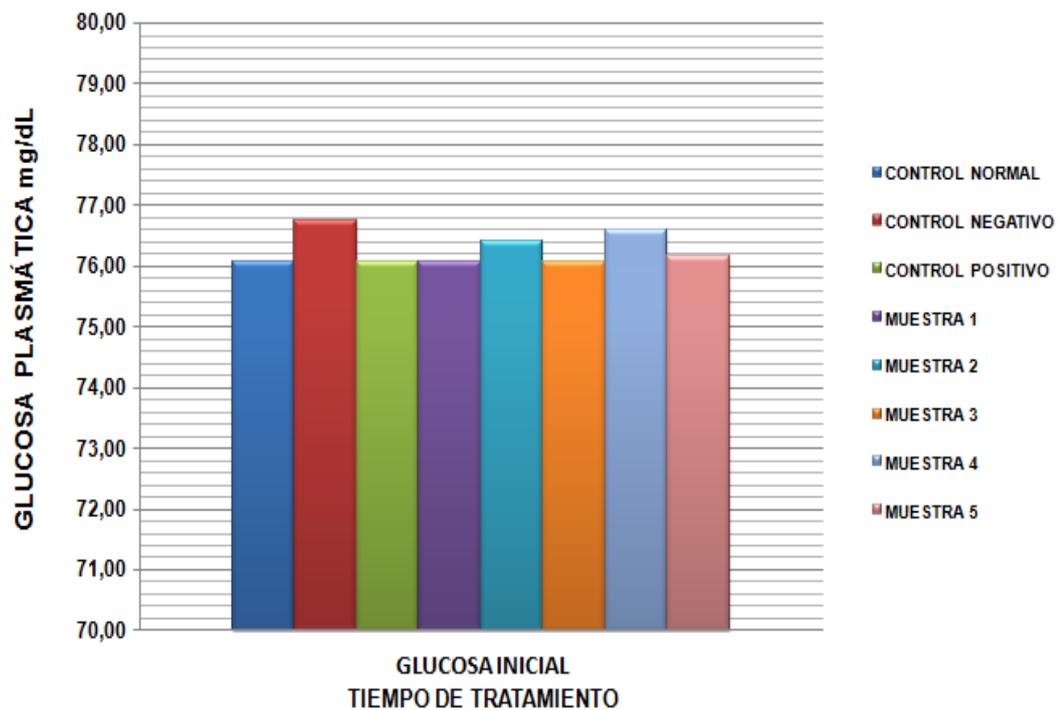


Figura 1. Glucosa Plasmática Inicial (mg/dL) de los Diferentes Grupos de Experimentación Antes de Iniciar el Tratamiento.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Previa reorganización de los animales de experimentación de los diferentes grupos para obtener un promedio igual, el análisis de comparación de medias demostró que no exista diferencia estadística entre grupos, según Figura 1.

Tabla 4

Promedio Niveles de Glucosa Final de los Grupos de Tratamiento después de 7 Días de Tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

GRUPO	PROMEDIO*	COMPARACIÓN DE MEDIAS
CONTROL NORMAL	100,00	A
CONTROL NEGATIVO	261	B
CONTROL POSITIVO (Glibenclamida)	112,00	A
MUESTRA 1 (<i>Allium sativum</i>)	92,00	A
MUESTRA 2 (Agua Alcalina)	111,25	A
MUESTRA 3 (<i>Allium sativum</i> 250mg/Kg + Agua Alcalina 20ml/Kg)	92,25	A
MUESTRA 4 (<i>Allium sativum</i> 500mg/Kg + Agua Alcalina 10ml/Kg)	103,50	A
MUESTRA 5 (<i>Allium sativum</i> 1000mg/Kg + Agua Alcalina 5ml/Kg)	93,75	A

Nota. Grupos con letras iguales en comparación de medias no poseen diferencia significativa entre sí. Fuente: Chaca & Piguave (2015)

* $p < 0,05$.

Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente en lo que se pudo demostrar que después de 7 días de tratamiento todos los grupos difieren del grupo B control negativo (sin tratamiento). Es decir, tanto los grupos tratados con *Allium sativum* y Agua Alcalina de forma independiente así como las mezclas consiguieron regular los niveles de glucosa en comparación al grupo control negativo; lo que se puede observar en la Tabla 4.

Tabla 5

Promedio Niveles de Glucosa Final de los Grupos de Tratamiento después de 14 Días de Tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

GRUPO	PROMEDIO*	COMPARACIÓN DE MEDIAS
CONTROL NORMAL	77,75	CD
CONTROL NEGATIVO	259,00	B
CONTROL POSITIVO (Glibenclamida)	93,50	AC
MUESTRA 1 (<i>Allium sativum</i>)	107,00	A
MUESTRA 2 (Agua Alcalina)	108,75	A
MUESTRA 3 (<i>Allium sativum</i> 250mg/Kg + Agua Alcalina 20ml/Kg)	103,75	A
MUESTRA 4 (<i>Allium sativum</i> 500mg/Kg + Agua Alcalina 10ml/Kg)	70,00	CD
MUESTRA 5 (<i>Allium sativum</i> 1000mg/Kg + Agua Alcalina 5ml/Kg)	66,75	D

Nota. Grupos con letras iguales en comparación de medias no poseen diferencia significativa entre sí. Fuente: Chaca & Piguave (2015)

* $p < 0,05$.

El análisis estadístico de los datos obtenidos demostró que después de la administración de 14 días de tratamiento todos los grupos presentaron diferencias estadísticas entre el grupo con control negativo sin tratamiento. Observándose que la muestra 5 redujo significativamente los valores de glucosa, pudiendo compararse con el control normal y la muestra 4. En tanto que aquellos animales que recibieron Glibenclamida tuvieron una proximidad a las muestra 1, muestra 2, muestra 3 y muestra 4; demostrándose con este análisis que a este periodo de administración (14 días) la mezcla muestra 5 consiguió mantener los niveles de glucosa en rangos normales (Tabla 5).

Tabla 6

Promedio Niveles de Glucosa Final de los Grupos de Tratamiento después de 21 Días de Tratamiento y y 72 horas de Inducción de Diabetes.

GRUPO	PROMEDIO*	COMPARACIÓN DE MEDIAS
CONTROL NORMAL	104,00	A
CONTROL NEGATIVO	273,50	B
CONTROL POSITIVO (Glibenclamida)	84,00	A
MUESTRA 1 (<i>Allium sativum</i>)	95,75	A
MUESTRA 2 (Agua Alcalina)	95,25	A
MUESTRA 3 (<i>Allium sativum</i> 250mg/Kg + Agua Alcalina 20ml/Kg)	88,75	A
MUESTRA 4 (<i>Allium sativum</i> 500mg/Kg + Agua Alcalina 10ml/Kg)	98,25	A
MUESTRA 5 (<i>Allium sativum</i> 1000mg/Kg + Agua Alcalina 5ml/Kg)	91,50	A

Nota. Grupos con letras iguales en comparación de medias no poseen diferencia significativa entre sí. Fuente: Chaca & Piguave (2015)

* $p < 0,05$.

Como se muestra en la tabla 6, el análisis estadístico de los niveles de glucosa después de 21 días de tratamiento evidenció que todos los grupos difieren del grupo B control negativo sin tratamiento. Lo que se traduce a que, tanto los grupos tratados con *Allium sativum* y Agua Alcalina de forma independiente así como las mezclas consiguieron regular los niveles de glucosa en comparación al grupo control negativo, pudiendo establecer que los valores de glucosa fueron estadísticamente iguales a los obtenidos a los 7 días de experimentación.

3.1.2 Resultados Análisis Histopatológicos

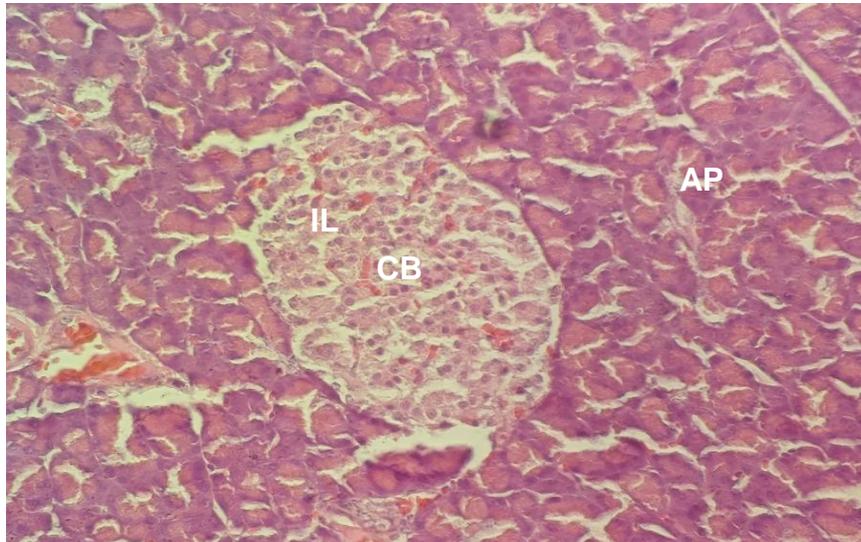


Figura 2. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Normal.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Para que un páncreas pueda ser considerado sano, se observan las células β pancreáticas (CB) en gran número dentro del Islote de Langerhans (IL), así como también los acinos pancreáticos (AP) con una arquitectura celular normal. (Figura 2).

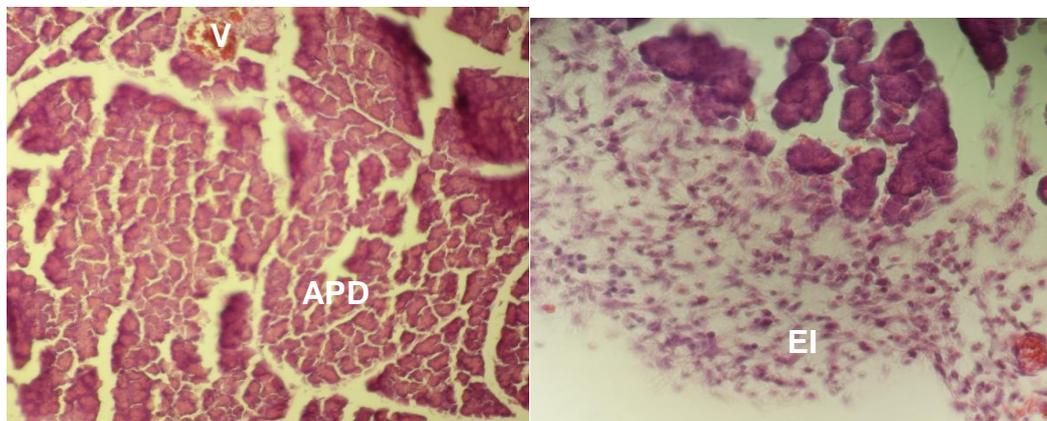


Figura 3. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Negativo.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

En el caso de un páncreas enfermo (Figura 3), se observan los acinos pancreáticos degenerados (APD), así mismo se aprecia la presencia de elementos inflamatorios (EI) en abundancia, que son signo de una necrosis. También se evidencia vascularización, que es la acumulación excesiva de glóbulos rojos en los vasos sanguíneos del páncreas, lo cual provoca la circulación lenta y por ende complicaciones diabéticas. No se pudo observar la presencia de Islotes de Langerhans o células β Pancreáticas.

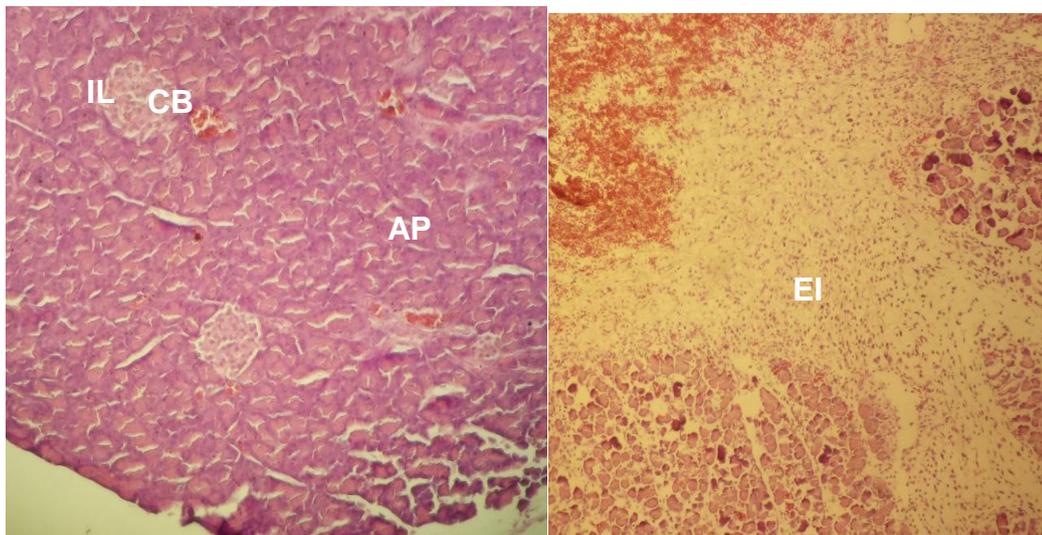


Figura 4. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Control Positivo.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Durante los 7, 14 y 21 se pudo apreciar la presencia de los Islotes de Langerhans (IL) pero si se observan las células β pancreáticas (CB), también se pueden observar los acinos pancreáticos (AP) con una arquitectura celular normal. Por otro lado también se pudo notar la presencia de elementos inflamatorios (EI) en abundancia lo que podría indicar que en el páncreas empezó un proceso de necrosis. (Figura 4).

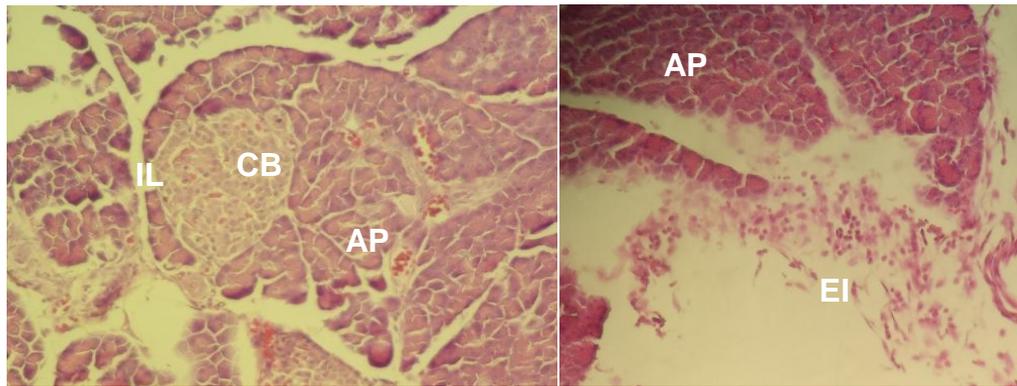


Figura 5. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después de 7 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 1 (*Allium sativum*) a los 7 días de tratamiento presentaron una preservación casi completa de la arquitectura celular de los acinos pancreáticos (AP), los islotes de Langerhans (IL) presentaban un tamaño reducido pero las células β pancreáticas (CB) se presentaron normales, también hubo presencia de elementos inflamatorios (EI). (Figura 5).

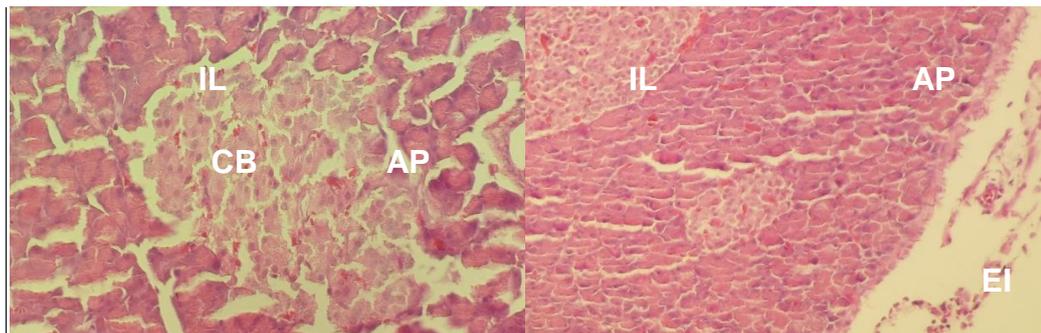


Figura 6. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después de 14 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales tratados con la muestra 1 (*Allium sativum*) a los 14 días de tratamiento presentaron una preservación de la arquitectura celular completa de los acinos pancreáticos (AP), los islotes de Langerhans (IL) presentaban un tamaño normal pero las células β pancreáticas (CB) se presentaron normales y casi no hubo presencia de elementos inflamatorios (EI). (Figura 6).

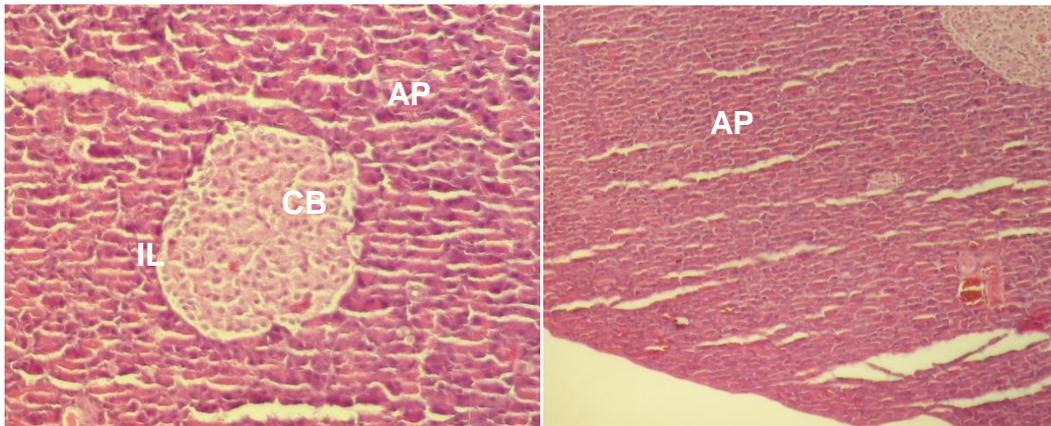


Figura 7. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 1 después de 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

A los 21 días de tratamiento con la muestra 1 (*Allium sativum*), los páncreas de los animales de experimentación presentaron observan las células β pancreáticas (CB) en gran número dentro del Islote de Langerhans (IL), así como también los acinos pancreáticos (AP) con una arquitectura celular completamente normal. (Figura 7).

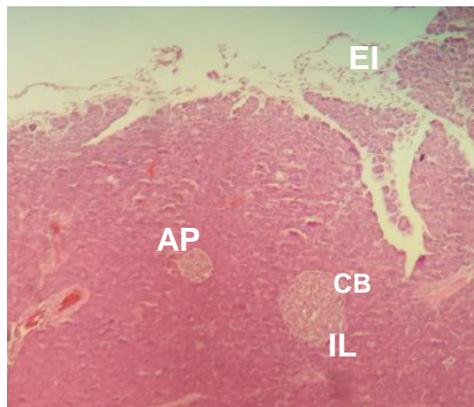


Figura 8. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 7 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

En el caso de los animales de experimentación tratados con la muestra 2 (agua alcalina) a los 7 días presentaron elementos inflamatorios, reducción del tamaño de los islotes pancreáticos pero con células β pancreáticas intactas y una conservación parcial de los acinos pancreáticos. (Figura 8).

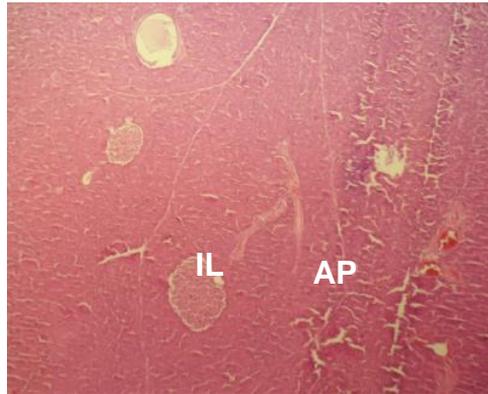


Figura 9. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 14 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 2 (agua alcalina) a los 14 días presentaron elementos inflamatorios, una reducción del tamaño de los islotes pancreáticos y una conservación mejor de los acinos pancreáticos en comparación a los 7 días de tratamiento. (Figura 9).

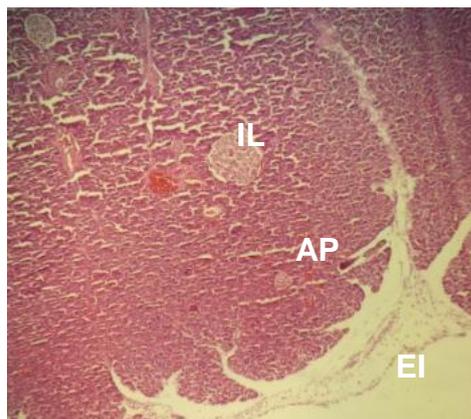


Figura 10. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 2 después de 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 2 (agua alcalina) a los 21 días presentaron elementos inflamatorios, pero una conservación total de los islotes pancreáticos, células β pancreáticas, así como de la arquitectura de los acinos pancreáticos. (Figura 10).

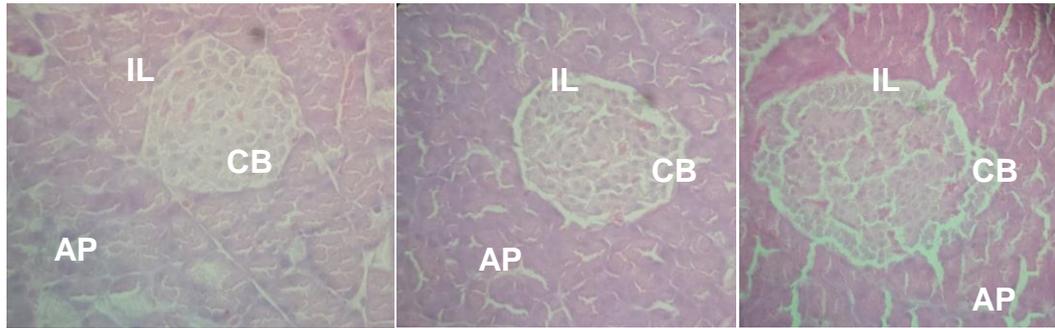


Figura 11. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 3 después de 7, 14 y 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes respectivamente.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 3 (*Allium sativum* 250mg/Kg + Agua Alcalina 20ml/Kg) tuvieron ausencia total de elementos inflamatorios, así como una conservación total de los islotes pancreáticos, células β pancreáticas, así como de la arquitectura de los acinos pancreáticos desde el día 7 de tratamiento. (Figura 11).

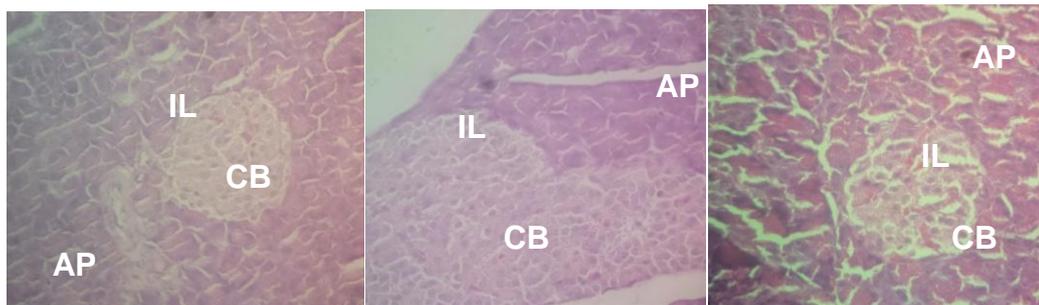


Figura 12. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 4 después de 7, 14 y 21 días y 72 horas de Inducción de Diabetes respectivamente.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 4 (*Allium sativum* 500mg/Kg + Agua Alcalina 10ml/Kg) tuvieron ausencia total de elementos inflamatorios, así como una conservación total de los islotes pancreáticos, células β pancreáticas, así como de la arquitectura de los acinos pancreáticos desde el día 7 de tratamiento. (Figura 12).

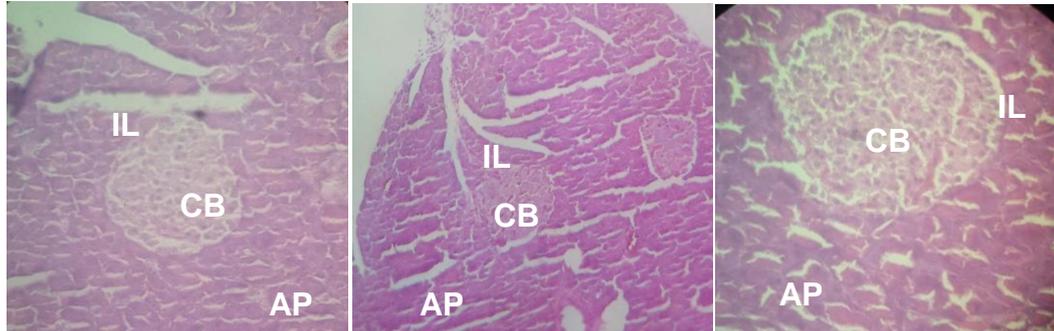


Figura 13. Apariencia Histológica del Páncreas Grupo Muestra 5 después de 7, 14 y 21 días de tratamiento y 72 horas de Inducción de Diabetes respectivamente.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Los animales de experimentación tratados con la muestra 5 (*Allium sativum* 1000mg/Kg + Agua Alcalina 5ml/Kg) tuvieron ausencia total de elementos inflamatorios, así como una conservación total de los islotes pancreáticos, células β pancreáticas, así como de la arquitectura de los acinos pancreáticos desde el día 7 de tratamiento. (Figura 13).

3.2 DISCUSIÓN

De acuerdo a lo expuesto en los análisis histopatológicos la Glibenclamida no ejerció un efecto citoprotector, pero según los análisis de glucosa plasmática si logró regular los niveles de glucosa, esto se debe a que el mecanismo de acción de la Glibenclamida es estimular a las células β pancreáticas para la secreción de insulina (Vidal Vademecum Spain, 2011).

En el caso del *Allium sativum*, esta al administrarse durante 7, 14 y 21 días impidió que los niveles de glucosa se elevaran luego de la inducción de diabetes. En los análisis histopatológicos de los grupos tratados con *Allium sativum*, se observó la conservación total del páncreas a partir de los 21 días de tratamiento, por lo que podríamos decir que el factor tiempo es importante para poder ejercer su efecto como citoprotector.

Este efecto normoglucemiante y citoprotector se debe a que el *Allium sativum* posee efecto antioxidante; ya que el *Allium sativum* inhibe la formación de radicales libres reforzando el mecanismo de captación de radicales endógenos, aumenta las enzimas antioxidantes celulares y protege las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación por los radicales libres. (Luengo, 2007).

Una investigación científica sobre el efecto protector del extracto de *Allium sativum* frente a la inducción de diabetes con aloxano en ratas, en las que se administró el extracto acuoso del mismo, durante 7 días antes de la inducción de diabetes con aloxano y 14 días después de la misma; concluyendo que el *Allium sativum* tuvo un efecto preventivo sobre el aloxano, ya que previno la elevación de la glucosa en sangre. (Ojo, Memedu, Akintayo, & Akpan, 2012).

Por otro lado, la administración de Agua Alcalina durante 7, 14 y 21 días también impidió que los niveles de glucosa se elevaran luego de la inducción de diabetes. De acuerdo al mecanismo de acción esto se debe que el agua alcalina cede electrones libres que hace que bloqueen la oxidación del tejido sano por la acción de los radicales libres.

Sin embargo, debido a la presencia de elementos inflamatorios a los 21 días de tratamiento con agua alcalina, podemos decir que esta presentó un efecto citoprotector menor que el *Allium sativum*, pero al compararlo con los análisis de glucosa su efecto normoglucemiante es igual.

Los resultados obtenidos coinciden con los obtenidos en otros estudios, por ejemplo un estudio del efecto del agua alcalina en la apoptosis y diabetes inducida con aloxano, tuvo como resultado que los ratones tratados con agua alcalina antes de inyectarles aloxano sufrieron una menor apoptosis en el páncreas; un menor incremento y posterior reducción de los niveles de glucosa en sangre; y una menor disminución y posterior aumento de la insulina; concluyendo que el agua alcalina tiene un importante efecto en prevención de la apoptosis de células pancreáticas, así como un efecto positivo en la prevención y control de la enfermedad diabetes mellitus. (Li, et al., 2012).

Del tratamiento que hemos propuesto (diferentes mezclas *Allium sativum* y Agua Alcalina) se obtuvo una función citoprotectora a los 7 días de tratamiento en todas las mezclas propuestas, lo que se obtuvo a los 21 días de tratamiento solo con *Allium sativum* y no se obtuvo ni a los 21 días de tratamiento con agua alcalina solo, lo que sugiere que si existe un sinergismo entre el *Allium sativum* y el Agua Alcalina para ejercer un efecto citoprotector en menor tiempo.

CAPITULO IV: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

De los resultados analizados se puede inferir que tanto el *Allium sativum*, Agua Alcalina administradas por separado, así como las mezclas de *Allium sativum* y Agua Alcalina, presentaron un efecto normoglucemiante a partir de los 7 días de tratamiento, manteniendo esta tendencia hasta el final de la experimentación, en las que de acuerdo al análisis estadístico no presentaron diferencia significativa entre grupos.

Según el análisis histopatológico realizado, se demostró que a los 21 días el *Allium sativum* presentó un mejor efecto citoprotector; en cambio con el Agua Alcalina no se pudo evidenciar protección celular durante el tiempo que duró la experimentación; por otro lado las mezclas de *Allium sativum* y Agua Alcalina propuestas en diferentes dosis tuvieron un efecto citoprotector sobre el páncreas a partir del séptimo día de tratamiento. Por lo que se puede concluir que la administración de las mezclas presenta mayor eficacia en relación al tiempo de tratamiento al ser comparados con los que tuvieron la administración independiente de *Allium sativum* y Agua Alcalina.

Al comparar los resultados histopatológicos de las células β pancreáticas encontradas en los diferentes animales de experimentación sometidos al estudio, se evidenció que: el aloxano provoca una pancreatitis severa, la Glibenclamida no posee un efecto citoprotector alguno; el *Allium sativum* posee un efecto citoprotector que depende del tiempo de tratamiento, cumpliendo este efecto a partir del séptimo día de tratamiento; el Agua Alcalina tiene un efecto citoprotector mínimo que empieza a denotarse a los 21 días de tratamiento; y, todas las mezclas de *Allium sativum* y Agua Alcalina presentaron un sinergismo, ejerciendo su efecto citoprotector desde el séptimo día de tratamiento.

4.2 RECOMENDACIONES

1. Promover el consumo de *Allium sativum* y agua alcalina, así como dar a conocer las propiedades normoglucemiante y citoprotectora que se han encontrado en la presente investigación.
2. Realizar nuevas investigaciones para la síntesis y comercialización de los principios activos del *Allium sativum*, de tal forma que puedan ser producidos, comercializados y exportados por nuestro país, debido a que el aceite de *Allium sativum* no se produce actualmente en Ecuador.
3. Analizar los principios físicos y químicos de la obtención de agua alcalina para así proponer alcalinizadores de agua hechos en Ecuador.
4. Promover la implementación de estudios farmacológicos en fitofármacos provenientes de recursos naturales ecuatorianos, ya que nuestro país es abundante en estos recursos, especialmente la selva amazónica y aprovechar el conocimiento de los pueblos indígenas acerca de las plantas medicinales.

BIBLIOGRAFÍA

- Alashkham, F. A., Osman, M. T., Adnan, A., & Bakar, N. S. (2013). Histopathological and Biochemical Effects of Allium Sativum Oil Administration on Type 1 Diabetic rats. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(1), 1045-1053.
- Alonso, J. (2008). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos*. Buenos Aires: Corpus.
- Ankur, R., & Shahjad, A. (2012). Alloxan Induced Diabetes: Mechanisms and Effects. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 3, 819-823.
- AQUAGOLDEN. (24 de Julio de 2013). *AQUAGOLDEN*. Recuperado el 05 de Junio de 2015, de La Historia del Agua Alcalina: <http://aquagoldens.weebly.com/agua-alcalina.html>
- Ecogaia. (09 de Agosto de 2010). *Efectos Curativos del Agua Alcalina Ionizada*. Recuperado el 07 de Agosto de 2015, de Ecogaia: <http://www.ecogaia.com/efectos-curativos-del-agua-alcalina-ionizada-1892.html>
- Ecoportal. (19 de Noviembre de 2014). *El agua que lo cura todo: alcalina y sin cloro*. Recuperado el 03 de Junio de 2015, de Ecoportal.net: <http://www.ecoportal.net/Eco-Noticias/El-agua-que-lo-cura-todo-alcalina-y-sin-cloro>
- Federación Internacional de la Diabetes. (2013). *ATLAS de la Diabetes de la FID* (6 ed.). Federación Internacional de la Diabetes.
- Henry, M., & Chambron, J. (2013). Physico-Chemical, Biological and Therapeutic Characteristics of Electrolyzed Reduced Alkaline Water (ERAW). *Water Journal*, 5, 2094-2115.
- Instituto Nacional de Estadísticas y Censos. (24 de Julio de 2015). *Anuario de Estadísticas Hospitalarias Camas y Egresos 2014*. Recuperado el 22 de Enero de 2015, de Ecuador en Cifras: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/>

- Jin, D., Ryu, S. H., Kim, H. W., Yang, E. J., Lim, S. J., Ryang, Y. S., . . . Lee, K. J. (2006). Anti-Diabetic Effect of Alkaline-Reduced Water on OLETF Rats. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry Journal*, 70(1), 31-37.
- Kim, M.-J., Jung, K. H., Uhm, Y. K., Leem, K.-H., & Kim, H. K. (2007). Preservative Effect of Electrolyzed Reduced Water on Pancreatic b-Cell Mass in Diabetic db/db Mice. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(2), 234-236.
- Li, Y., Hamasaki, T., Teruya, K., Nakamichi, N., Gadek, Z., Kashiwagi, T., . . . Shirahata, S. (2012). Suppressive effects of natural reduced waters on alloxan-induced apoptosis and type 1 diabetes mellitus. *International Journal of Cell Culture and Biotechnology*, 281 - 297.
- Luengo, T. L. (01 de Enero de 2007). *Revista Offarm*. Recuperado el 23 de Julio de 2015, de ELSEVIER: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-ajo-13097334>
- Mokni, M., Hamlaoui, S., Limam, F., Amri, M., & Aouani, E. (2013). Acute modulation of rat plasma glucose by an aqueous garlic extract. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 7(30), 2167-2172.
- Ojo, R. J., Memedu, A. E., Akintayo, C. O., & Akpan, I. S. (2012). Preventive Effect of *Allium sativum* on Alloxan Induced Diabetic Rat. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*, 7(8), 609-612.
- Organización Mundial de la Salud. (Noviembre de 2014). *Organización Mundial de la Salud*. Recuperado el Enero 21 de 2015, de OMS Diabetes: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/es/>
- Oyebadejo, S., Basse, E.-o., & Malachy, J. (2013). Antagonistic Salubrious Effects of Macerated *Allium Sativum*. *International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences*, 2(3), 50-57.
- Shakya, V. K., Saxena, R. C., & Anita, S. (2010). Effect of ethanolic extract of *Allium sativum* bulbs on Streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2(6), 171-175.

- Shitahata, S., Hamasaki, T., & Teruya, K. (2012). Advanced research on the health benefit of reduced water. *Trends in Food Science & Technology*, 23, 124-131.
- Sociedad Española de Fitoterapia. (06 de Noviembre de 2007). *Revista de Fitoterapia*. Recuperado el 08 de Febrero de 2015, de Fitoterapia: <http://www.fitoterapia.net/revista/pdf/RDF7-2%20all.pdf>
- Tripathi, P., Gupta, P. P., & Lal, V. K. (2013). Effect of Co-administration of *Allium sativum* extract and Metformin on Blood glucose of Streptozotocin induced diabetic rats. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 2(2), 81-84.
- Vidal Vademecum Spain. (02 de Septiembre de 2011). *Principios Activos:Glibenclamida*. Recuperado el 12 de Octubre de 2015, de Vademecum.es: <http://www.vademecum.es/principios-activos-glibenclamida-a10bb01>
- Water for Health Ltd. (20 de Marzo de 2009). *Water for Health*. Recuperado el 25 de Mayo de 2015, de Water for Health: www.water-for-health.co.uk
- Wiener Lab. (2000). *Vademecum Documentos*. Obtenido de Wiener Lab: http://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/glicemia_e nzimatica_sp.pdf

ANEXOS

Anexo 1. Equipos usados para la obtención del agua alcalina.



Figura 14. Alcalinizador y Purificador de Agua.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 2. Extracción del Aceite de *Allium sativum*.



Figura 15. Extracción del Aceite de *Allium sativum*.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 3. Preparación de la Glibenclamida.



Figura 16. Triturado de Tableta de Glibenclamida.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 4. Aloxano.



Figura 17. Jeringuilla con la Dosificación de Aloxano.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 5. Valores de Glucosa Inicial y Finales del Grupo A y Grupo B.

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL				
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS				
PROYECTO DE TITULACIÓN				
Estudio del Efecto Citoprotector de <i>Allium sativum</i> y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Tratamiento Preventivo de Diabetes Inducida en Ratas Wistar.				
AUTORES:	*MICHELLE PIGUAVE *GABRIEL CHACA			
TUTORA:	*QF. GLENDA SARMIENTO MSc.			
CONTROL DE GLUCOSA				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO A (CONTROL NORMAL)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	79	110	+	+
2	70	96	+	+
3	83	84	+	+
4	72	110	+	+
5	68	N/A	88	+
6	73	N/A	72	+
7	73	N/A	72	+
8	87	N/A	79	+
9	79	N/A	N/A	103
10	65	N/A	N/A	118
11	96	N/A	N/A	98
12	68	N/A	N/A	97
PROMEDIO	76,08	100	77,75	104
SD	9,08	12,54	7,59	9,70
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO B (CONTROL NEGATIVO)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	72	245	+	+
2	78	200	+	+
3	86	329	+	+
4	73	270	+	+
5	88	N/A	251	+
6	86	N/A	310	+
7	64	N/A	265	+
8	73	N/A	210	+
9	76	N/A	N/A	270
10	78	N/A	N/A	240
11	71	N/A	N/A	289
12	76	N/A	N/A	295
PROMEDIO	76,75	261,00	259	273,5
SD	7,06	53,80	41,24	24,75
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				

Figura 18. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo A y B.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 6. Valores de Glucosa Inicial y Finales del Grupo C y Grupo D.

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL				
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS				
PROYECTO DE TITULACIÓN				
Estudio del Efecto Citoprotector de <i>Allium sativum</i> y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Tratamiento Preventivo de Diabetes Inducida en Ratas Wistar.				
AUTORES:	*MICHELLE PIGUAVE *GABRIEL CHACA			
TUTORA:	*QF. GLENDA SARMIENTO MSc.			
CONTROL DE GLUCOSA				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO C (CONTROL POSITIVO)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	86	105	+	+
2	70	114	+	+
3	68	119	+	+
4	64	110	+	+
5	77	N/A	81	+
6	78	N/A	99	+
7	67	N/A	87	+
8	73	N/A	107	+
9	81	N/A	N/A	76
10	86	N/A	N/A	81
11	79	N/A	N/A	92
12	84	N/A	N/A	87
PROMEDIO	76,08	112,00	93,50	84,00
SD	7,61	5,94	11,70	6,98
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO D (MUESTRA 1)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	79	94	+	+
2	73	95	+	+
3	92	89	+	+
4	69	90	+	+
5	76	N/A	97	+
6	64	N/A	118	+
7	79	N/A	100	+
8	75	N/A	113	+
9	86	N/A	N/A	89
10	76	N/A	N/A	123
11	63	N/A	N/A	90
12	89	N/A	N/A	81
PROMEDIO	76,75	92,00	107,00	95,75
SD	9,09	2,94	10,10	18,61
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				

Figura 19. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo C y D.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 7. Valores de Glucosa Inicial y Finales del Grupo E y Grupo F.

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL				
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS				
PROYECTO DE TITULACIÓN				
Estudio del Efecto Citoprotector de <i>Allium sativum</i> y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Tratamiento Preventivo de Diabetes Inducida en Ratas Wistar.				
AUTORES:	*MICHELLE PIGUAVE *GABRIEL CHACA			
TUTORA:	*QF. GLENDA SARMIENTO MSc.			
CONTROL DE GLUCOSA				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO E (MUESTRA 2)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	66	109	+	+
2	68	118	+	+
3	74	96	+	+
4	83	122	+	+
5	74	N/A	100	+
6	83	N/A	111	+
7	74	N/A	120	+
8	69	N/A	104	+
9	87	N/A	N/A	79
10	71	N/A	N/A	105
11	96	N/A	N/A	81
12	72	N/A	N/A	116
PROMEDIO	76,42	111,25	108,75	95,25
SD	8,96	11,53	8,77	18,19
+ Animales Sacrificados para Extracción de Páncreas				
N/A No Aplica				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO F (MUESTRA 3)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	70	92	+	+
2	68	104	+	+
3	94	79	+	+
4	80	94	+	+
5	87	N/A	113	+
6	73	N/A	113	+
7	81	N/A	86	+
8	71	N/A	103	+
9	68	N/A	N/A	86
10	69	N/A	N/A	89
11	88	N/A	N/A	87
12	64	N/A	N/A	93
PROMEDIO	76,08	92,25	103,75	88,75
SD	9,63	10,28	12,74	3,10
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				

Figura 20. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo E y F.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 8. Valores de Glucosa Inicial y Finales del Grupo G y Grupo H.

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL				
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS				
PROYECTO DE TITULACIÓN				
Estudio del Efecto Citoprotector de <i>Allium sativum</i> y Agua Alcalina en las Células β Pancreáticas como Tratamiento Preventivo de Diabetes Inducida en Ratas Wistar.				
AUTORES:	*MICHELLE PIGUAVE *GABRIEL CHACA			
TUTORA:	*QF. GLENDA SARMIENTO MSc.			
CONTROL DE GLUCOSA				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO G (MUESTRA 4)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	74	105	+	+
2	79	101	+	+
3	70	114	+	+
4	75	94	+	+
5	88	N/A	69	+
6	87	N/A	76	+
7	64	N/A	80	+
8	81	N/A	55	+
9	71	N/A	N/A	95
10	84	N/A	N/A	107
11	67	N/A	N/A	95
12	79	N/A	N/A	96
PROMEDIO	76,58	103,50	70,00	98,25
SD	7,74	8,35	10,98	5,85
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				
NIVELES DE GLUCOSA GRUPO H (MUESTRA 5)				
ANIMAL	GLUCOSA INICIAL	GLUCOSA FINAL 7 DÍAS	GLUCOSA FINAL 14 DÍAS	GLUCOSA FINAL 21 DÍAS
1	71	97	+	+
2	69	93	+	+
3	76	89	+	+
4	93	96	+	+
5	69	N/A	70	+
6	89	N/A	64	+
7	72	N/A	74	+
8	78	N/A	59	+
9	74	N/A	N/A	77
10	70	N/A	N/A	97
11	69	N/A	N/A	91
12	84	N/A	N/A	101
PROMEDIO	76,17	93,75	66,75	91,50
SD	8,28	3,59	6,60	10,50
+ Animales Sacrificados para Análisis Histopatológicos				
N/A No Aplica				

Figura 21. Datos Recolectados de los Niveles de Glucosa del Grupo G y H.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 9. Corte de la Sección de Páncreas para el Análisis Histopatológico.



Figura 22. Corte del Páncreas.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 10. Colocando el Páncreas en el Casete para Biopsias.

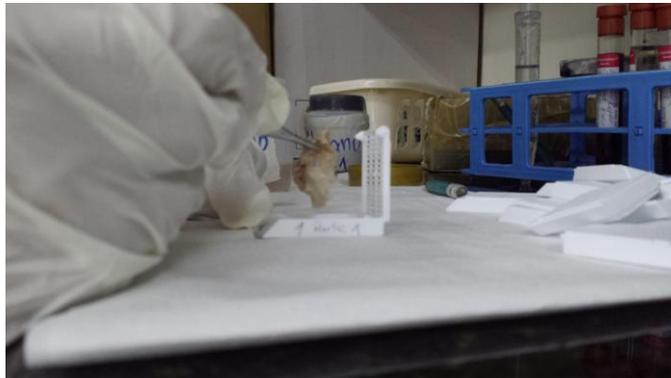


Figura 23. Corte del Páncreas en el Casete para Biopsias.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 11. Envases de Alcohol al 70%, 90% y alcohol absoluto donde se colocaron los casetes con el tejido pancreático.



Figura 24. Envases con Alcohol.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 12. Envases con Xileno donde se colocaron los casetes con el tejido pancreático.



Figura 25. Envases con Xileno.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 13. Recipiente con parafina donde se colocó los casetes con tejido pancreático.



Figura 26. Casetes con Tejido Pancreático en Parafina.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 14. Inclusión del tejido pancreático.

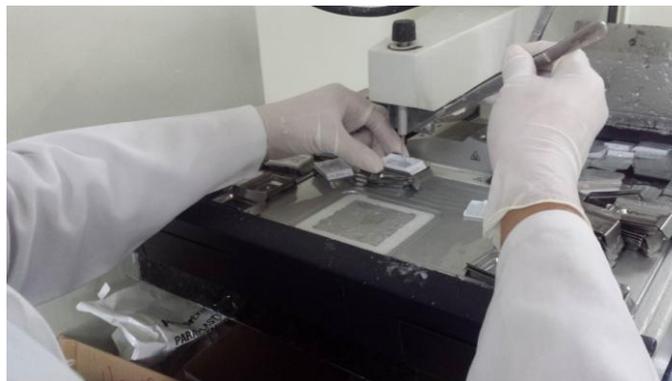


Figura 27. Equipo para Inclusión de Tejido en Parafina Leica .

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 15. Formación sólida del bloque de parafina.



Figura 28. Placa Congelante para la Formación Solida del Bloque de Parafina Leica.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 16. Micrótopo con el bloque de parafina donde se realiza el corte del tejido.



Figura 29. Micrótopo Leica.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 17. Baño de flotación de tejidos para colocar el corte del tejido.



Figura 30. Baño Flotación de Tejido Leica.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 18. Toma del corte del tejido pancreático con el cubreobjetos.

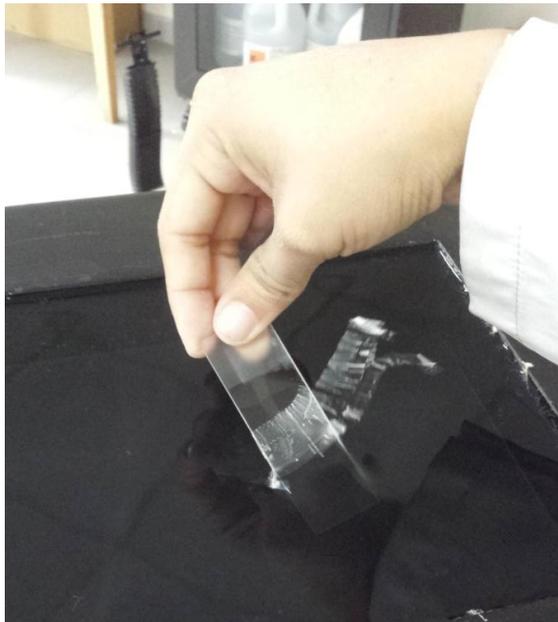


Figura 31. Corte del Tejido en Placa Portaobjetos.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 19. Recipientes con los correspondientes Xilol, alcoholes, tinción de hematoxilina y tinción de eosina para la tinción del tejido pancreático.



Figura 32. Circuito de Sustancias para la Tinción de Eosina-Hematoxilina.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 20. Placas de los tejidos con la tinción de eosina hematoxilina.



Figura 33. Placas Teñidas.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 21. Agregando entellan en las placas para sellarlas con el cubreobjetos.

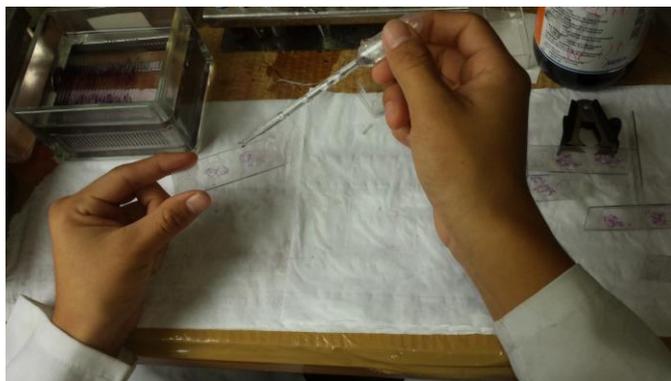


Figura 34. Montaje de las Placas.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).

Anexo 22. Microscopio usado para el análisis histopatológico.



Figura 35. Microscopio Axioskop 2 Plus.

Fuente: Chaca & Piguave (2015).