



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA**

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana*  
“achiote” COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE  
GLICEMIA EN *Rattus rattus*

**TESIS PARA OPTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE  
MEDICO CIRUJANO**

**AUTORA:**

GARCIA RAZURI, MILAGROS CECILIA

**ASESORES:**

DR. ALVAREZ BAGLIETTO, CARLOS

MG. BLGO. PLASENCIA CUBA, JORGE LUIS

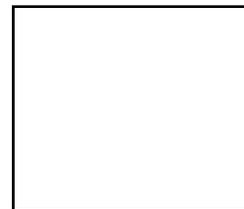
**LINEA DE INVESTIGACION**

Enfermedades Crónicas y Degenerativas

**PERÚ-TRUJILLO  
2016**

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana* "achiote"  
COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN  
*Rattus rattus*

**JURADO:**



---

**PRESIDENTE**

**Dr. Alfredo González Saavedra**

---

**SECRETARIO**

**Dr. Robert Peter Angeles Reyes**

---

**VOCAL**

**Dr. Carlos Alvarez Baglietto**

FECHA DE SUSTENTACIÓN Y APROBACIÓN:

06 de noviembre de 2016

## **DEDICATORIA**

### **A DIOS**

Por las bendiciones derramadas en mí, su inmenso amor y ser la luz en mi camino.

### **A MI PADRES**

Por ser los pilares fundamentales en mi formación académica y personal, y por el apoyo incondicional mantenido a través del tiempo.

## **AGRADECIMIENTO**

### **A Dios**

Por estar conmigo en todo momento, iluminar mi mente, fortalecer mi corazón y haber puesto en mi camino a personas que han sido mi compañía y soporte durante todo el periodo académico.

### **A mi universidad**

Y su plana docente, quienes en el transcurso de mi formación académica han logrado crear en mí un profesional con aspiraciones, y actitud para encarar las adversidades que se presentan en la especialidad.

### **A mis asesores**

Por su paciencia, dedicación, motivación y aliento.

### **Mis Padres y abuelito**

Quienes me brindaron su apoyo incondicional para seguir adelante sin dejarme caer en el conformismo y desmotivación.

## DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, **Milagros Cecilia García Razuri** con DNI N° **72503277** a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 18 de mayo del 2016.

---

**García Razuri, Milagros Cecilia**

## PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: "EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana* "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *Rattus rattus*.", la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

La Autora

## ÍNDICE

Página de jurado .....	ii
Dedicatoria .....	iii
Agradecimiento .....	iv
Declaración de autenticidad .....	v
Presentación .....	vi
Resumen .....	viii
Abstract .....	ix
I. Introducción .....	pág. 01
II. Método .....	pág. 06
III. Resultados .....	pág. 11
IV. Discusión .....	pág. 15
V. Conclusiones .....	pág. 19
VI. Recomendaciones .....	pág. 20
VII. Referencias bibliográficas .....	pág. 21
Anexos	

## RESUMEN

Objetivo: Se determinó el efecto del extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote”, comparada con Metformina, sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*, mediante estudio experimental, prospectivo, longitudinal, comparativo y analítico. Se utilizaron 20 ratas machos tipo *Rattus rattus*, variedad albinos, adultos, en 2 grupos de 10 cada uno, a los cuales se les inyectó vía intraperitoneal aloxano. Resultados: grupo *Bixa Orellana* “achiote”: pre prueba:  $439.8 \pm 77.2$  mg/dl, post-prueba:  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl, significancia 0.56. ( $p > 0.05$ ). Grupo Metformina: pre-prueba:  $426.1 \pm 122.6$  mg/dl, post-prueba:  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl, significancia 0.69. ( $p > 0.05$ ). La diferencia de grupos fue, achiote:  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl, Metformina  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl, significancia 0.97. ( $P > 0.05$ ). Conclusión: El extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina, disminuyen los niveles de glicemia en ratas.

Palabras Claves: *Bixa Orellana*, Diabetes Mellitus, Metformina.

## ABSTRACT

Aim: we determined the effect of hydro-alcoholic extract of *Bixa Orellana* "achiote", compared with metformin on blood sugar levels in *Rattus rattus*, through an experimental, prospective, longitudinal, comparative and analytical study. A 20 male adults rats *Rattus rattus* type, albinos variety, were utilized, divided 2 groups of 10, to whom were injected aloxan through intraperitoneal route. Results: *Bixa Orellana* "achiote" pretest group:  $439.8 \pm 77.2$  mg / dl, posttest:  $408.8 \pm 143.1$  mg / dl, significance 0.6. ( $P > 0.05$ ). Metformin pretest group:  $426.1 \pm 122.6$  mg / dl, posttest:  $411.4 \pm 110.7$  mg / dl, significance 0.7. ( $P > 0.05$ ). The groups difference was, achiote:  $408.8 \pm 143.1$  mg / dl, Metformin  $411.4 \pm 110.7$  mg / dl, significance 0.97 ( $P > 0.05$ ). Conclusion: The hydroalcoholic extract of *Bixa Orellana* "achiote" and Metformin decreases glucose levels in rats.

Key words: *Bixa Orellana*, Diabetes Mellitus, Metformin.

## INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) evaluó que a nivel mundial, desde 1995 hasta el 2013 se había triplicado el número de personas diabéticas, alcanzando a más de 347 millones. Según la Federación Internacional de Diabetes, Brasil, Estados Unidos, México, China, Rusia e India, eran los países con mayor número de personas con diabetes.<sup>1</sup> La OMS deduce que para el 2030, la diabetes se nominaría como séptima causa de muerte. En el 2014, 9% de las personas mayores de 18 años tenían diabetes, y encima del 80% de las muertes se registraban en países de medianos y bajos ingresos, siendo el 50% quienes fallecían por enfermedades cardiovasculares y/o cerebrovasculares.<sup>2</sup>

En Perú, la prevalencia de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) para el 2004 fue de 1% a 8% de la población, siendo Lima y Piura departamentos quienes presentaban un alto número de casos. La DM2 aqueja a más de un millón de peruanos, y menos del 50% poseen un diagnóstico confirmado.<sup>3</sup> En el 2005, la DM2 tuvo una prevalencia de 2,8% en mayores de 20 años, además, la Dirección General de Epidemiología realiza un estudio de factores de riesgo para enfermedades no transmisibles, encontrando una prevalencia de 2,8% a 3,9% en ciudades de Lima, Trujillo y Huancayo. Sin embargo, otro estudio por la misma dirección, reportó que la DM2 fue responsable del 3,4% de los casos en el año 2008.<sup>4</sup>

El uso de plantas medicinales para tratar la diabetes, hoy en día sigue vigente. Según la OMS, el 80% de la población mundial utiliza tratamientos tradicionales y al menos 35 000 especies vegetales son de uso medicinal.<sup>5</sup> En algunos países latinoamericanos, la *Bixa Orellana* “achiote” en su forma de extracto o componente farmacéutico, es empleada para tratar la DM2.<sup>5, 6</sup> Otros tratamientos empleados son los fármacos, como, sulfonilureas, biguanidas, insulina, entre otros. De estos, las más usadas son las biguanidas (Metformina), siendo el segundo fármaco más prescrito después de la Glibenclamida. En Europa, la Metformina es empleado como monoterapia en un 40%, y combinado con sulfonilureas en un 60%.<sup>7, 8</sup>

Roehrs M. et al (Brasil, 2014)<sup>9</sup>. Investigaron los efectos de la administración oral de *Bixina* (BIX) y *Norbixina* (NBIX), principios activos de la *Bixa Orellana*, sobre los niveles de glucosa, perfil lipídico y estrés oxidativo. Los animales se dividieron en ocho grupos de 6 ratas. El grupo de ratas diabéticas + Metformina 100 mg/Kg, ratas diabéticas + *Bixina* 10 mg/Kg y ratas diabéticas + *Bixina* 100 mg/Kg, redujeron los niveles de glicemia significativamente, en cambio el grupo de ratas diabéticas + *Norbixina* 10 mg/Kg y ratas diabéticas + *Norbixina* 100 mg/Kg, no redujeron la glicemia. Otro grupo de ratas diabéticas + Insulina tuvo una disminución significativa de glicemia; por otro lado, el grupo con ratas diabéticas sin tratamiento no tuvo disminución de la glicemia, el grupo control con ratas no diabéticas, mostró una disminución no significativa de la glicemia. ( $p < 0.05$ ). La *Bixina* y la Metformina fueron eficaces para disminuir la glicemia, en cambio la *Norbixina* no tuvo efecto hipoglicemiante.

Teles, F. et al (Brasil, 2014)<sup>10</sup>, Evaluaron el efecto hipoglucemiante de *Bixa Orellana*. Los animales se dividieron en 3 grupos de 8 ratas. GC (Grupo de ratas control), DM (Grupo de ratas diabéticas, sin achiote), DMA (Grupo de ratas diabéticas tratado con achiote a dosis diaria 540 mg/Kg). DM =  $507 \pm 48$  mg/dl, DMA =  $423 \pm 18$  mg/dl, GC =  $100 \pm 2$  mg/dl. ( $p < 0,05$ ). Reducción de glicemia a las dos horas GC =  $100 \pm 2$  mg/dl; DMA =  $380 \pm 43$  mg/dl y DM =  $529 \pm 32$  mg/dl. Los niveles de glicemia se redujeron al administrar achiote, la reducción fue más significativa a las 2h.

Patnaik, S. et al (India, 2011)<sup>11</sup>. Estudiaron el efecto antidiabético de *Bixa Orellana*. Usaron ocho grupos de 6 ratas, dividiéndolos en grupo de ratas control, grupo control de ratas diabéticas, grupo de ratas diabéticas con Glibenclamida y cinco grupos de ratas diabéticas con 5 extractos diferentes de *Bixa Orellana*. Grupo de ratas control =  $80.8 \pm 1.9$  mg/dl, grupo control de ratas diabéticas =  $334.5 \pm 10.8$  mg/dl, grupo ratas diabéticas con Glibenclamida 0.5 mg/Kg =  $248.3 \pm 12.2$  mg/dl, extracto etanólico 400 mg/Kg =  $263.5 \pm 11.3$  mg/dl, extracto de petróleo 200 mg/Kg =  $290.0 \pm 8.1$  mg/dl, extracto dietílico 200 mg/Kg =  $269.3 \pm 8.7$  mg/dl, extracto acetato de etilo 200 mg/Kg =  $268.5 \pm 7.3$  mg/dl, extracto n-butanol 200 mg/Kg =  $250.7 \pm 10.4$  mg/dl. ( $p < 0.01$ ). De los extractos realizados

todos disminuían la glicemia, pero el extracto de Acetato de etilo disminuía significativamente la glicemia.

Martínez, N. et al (México, 2010)<sup>12</sup>. Evaluaron el efecto hipoglucemiante de la *Bixa Orellana*. Usaron 6 grupos de 6 conejos. Grupo de conejos control a las 0 horas = 119.1 mg/dl, grupo de conejos control a las 2 horas = 122.6 mg/dl, grupo de conejos control a las 4 horas = 128.4 mg/dl, grupo de conejos diabéticos a las 0 horas = 119.8 mg/dl, grupo de conejos diabéticos a las 2 horas = 143.6 mg/dl y grupo de conejos diabéticos a las 4 horas = 143.2 mg/dl. ( $p=0.060$ ). La glicemia en los grupos de conejos diabéticos y grupos de conejos control no se evidenciaban diferencias estadísticamente significativas.

Lugardo S. (México, 2010)<sup>13</sup>. Determinó el efecto de 16 especies y 21 chiles sobre la glucosilación no enzimática de proteínas in vitro. Se determinó que la inhibición de glucosilación no enzimática de proteínas era más activa con el extracto hidroalcohólico, y la *Bixa Orellana* fue una de las especies más activas (94.32 ug/ml). Dentro de los derivados del geranil-geraniol se encontró, que el geranil-geraniol-octadecanoato, geranil-geraniol, famesilacetona y el geranil-geranil acetato eran más activos para inhibir la AGEs. Se recomendó el uso del Achiote en la prevención o el tratamiento de patologías donde la hiperglicemia y la glucosilación de las proteínas (AGEs) juegan un papel importante.

El Achiote (*Bixa Orellana*), pertenece a la Familia *Bixaceae*, Género *Bixa* y Especie *orellana* L. Es un árbol de 3 a 8 m de alto, con tronco leñoso, erecto y ramificado. Hojas ovaladas, lisas y puntiagudas (8-20 cm de largo). Su flor de 4 cm de ancho, tiene 5 pétalos de color blanco o rosa. Su fruto posee una cápsula espinosa (3-4 cm de largo), ovoide, rojizo o amarillo, con semillas de 5 mm de largo, cubiertas de fina pulpa rojo-naranja. Las semillas están compuestas por bixina, norbixina, metilbixina, aminos, triterpenos, taninos, carotenoides, flavonoides, diterpenos (geranil-geranil-octadecanoato, geranil, geraniol) y ácido gálico.<sup>14</sup>

Planta oriunda de Brasil, que crece hasta los 1 800 msnm desde la región amazónica de Brasil hasta Centro América. En el Perú, se encuentra en los departamentos de Pasco, Madre de Dios, Amazonas, San Martín, Huánuco, entre

otros. Es conocido como achote, Bixa, annate, entre otros, y se desarrolla en climas cálidos-húmedos y semicálidos.<sup>14, 15</sup> Las partes usadas de la planta son los frutos, hojas, semillas y raíz. El uso popular y la farmacología experimental demuestran que la raíz tiene un efecto hipoglicemiante, y, las hojas y semillas otros efectos terapéuticos. Se ha demostrado que el achiote tiene actividad antibacteriana en su extracto etanólico, y actividad hipotensora y relajante muscular en extractos acuosos.<sup>16</sup>

La Diabetes Mellitus (DM), incluye un conjunto de alteraciones metabólicas que se caracterizan por hiperglicemia, y los factores que la contribuyen son, disminución de la utilización de glucosa, deficiencia de secreción de insulina y aumento de la producción de glucosa.<sup>17</sup> La DM se divide en dos categorías, DM tipo 2 (insulinorresistencia) y DM tipo 1 (insulinodependiente). En etapas iniciales de la enfermedad, la tolerancia a la glucosa sigue siendo casi normal, porque las células  $\beta$  del páncreas incrementan la elaboración de insulina. Al evolucionar la resistencia de insulina, los islotes pancreáticos no pueden conservar el estado hiperinsulinémico, surgiendo insuficiencia de las células  $\beta$ .<sup>17, 18</sup> La diabetes se puede complicar con cetoacidosis diabética, síndrome hiperglicémico hiperosmolar, nefropatía diabética, retinopatía diabética, entre otros.<sup>19</sup>

La Metformina, es la única biguanida hipoglicemiante disponible. Reduce las concentraciones de glucosa al incrementar su captación periférica y disminuir su producción hepática. Aumenta la acción de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK), que al disminuir las reservas de energía celular, esta se activa por fosforilación. Esta proteína cinasa activada, incita el metabolismo no oxidativo, la oxidación de ácidos grasos, la captación de glucosa y reduce la gluconeogénesis y lipogénesis. Teniendo como resultado, menor tasa de elaboración de glucosa hepática y aumento de sensibilidad a la insulina.<sup>20</sup>

Uno de los aspectos más sensibles, es el aumento de enfermedades crónicas no transmisibles, como la DM tipo 2. Para su control, se utilizan ciertos medicamentos con una variedad de efectos adversos, además de necesitar supervisión médica. Los efectos adversos de su empleo prolongado, han llevado a buscar alternativas naturales que pueden ser usadas en este tipo de problema,

además, que puedan ser accesibles, no necesiten supervisión médica y tengan un costo bajo.

La *Bixa Orellana* “achiote”, ha demostrado, propiedades hipoglicemiantes cuando se emplean extractos obtenidos de sus semillas. Con estos postulados y dado la alta prevalencia de diabetes mellitus en nuestro país, se creyó conveniente realizar este estudio y validar científicamente su acción hipoglicemiante, para poder recomendar su uso como coadyuvante para el control de la glicemia. La poca información que actualmente se tiene de la *Bixa Orellana* “achiote” como hipoglicemiante, y la popularidad que su empleo tiene entre la población rural y urbano marginal, nos motivaron a realizar este trabajo de investigación. De ser los datos satisfactorios y probarse la hipótesis planteada, se incentivaría el desarrollo de mayores estudios, utilizando quizás extractos a dosis diferentes, de manera que se pueda resaltar las bondades de esta planta.

Por ello, se plantea el siguiente problema: ¿Es más eficaz el extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote” en comparación con la Metformina sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*? Las hipótesis planteadas son:  $H_0$ : El extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* es menos eficaz que la Metformina sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*. Y  $H_1$ : El extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* es igual o más eficaz que la Metformina sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*. Y como objetivos: General: Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote” comparada con Metformina sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*. Específicos: Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las *Bixa Orellana* “achiote” sobre los niveles de glicemia, Determinar el efecto de la Metformina sobre los niveles de glicemia, y, Analizar el efecto glicemiante del extracto hidroalcohólico de las *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina.

## MÉTODO

**Tipo de estudio:** Experimental, Básico, Prospectivo, Longitudinal, Comparativo, Analítico.

**Diseño de investigación:** Experimental propiamente dicho. Pre prueba, grupo control y post prueba.

RG1: O1 – X1 – O2 – O3 – O4 – O5

RG2: O6 – X2 – O7 – O8 – O9 – O10

Donde:

R: Asignación al azar

G1: Grupo con extracto hidroalcohólico de *Bixa orellana* “Achiote”.

G2: Grupo control positivo (Metformina)

X1: Extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “Achiote” a 400 mg/Kg

X2: Metformina a 850 mg

O1 y O6: Glicemia pre prueba

O2, O7: Glicemia post prueba a las 2 horas

O3, O8: Glicemia post prueba a las 4 horas

O4, O9: Glicemia post prueba a las 6 horas

O5, O10: Glicemia post prueba a las 12 horas

### Identificación de Variables:

Variable independiente: Extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “Achiote”.  
Cualitativo nominal.

Variable dependiente: Niveles de glicemia. Cuantitativo de razón.

### Operacionalización de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<b>Variable independiente:</b>  Extracto hidroalcohólico de <i>Bixa orellana</i> "Achiote"	Obtenido de la maceración de las semillas de <i>Bixa Orellana</i> con etanol al 80% y agua destilada. <sup>11</sup>	Se administró el extracto hidroalcohólico de <i>Bixa orellana</i> "Achiote a las <i>Rattus rattus</i> por sonda orogástrica a dosis de 400 mg/Kg.	SI / NO	Cualitativo nominal
<b>Variable dependiente:</b>  Niveles de glicemia	Valoración de glucosa en sangre susceptible a ser medida. <sup>21</sup>	Se midió el nivel de glucosa a las <i>Rattus rattus</i> con un glucómetro digital marca "Accu-Check Active" con tiras reactivas, a través de sangre periférica a las 2h, 4h, 6h y 12h.	Glicemia ≥ 200 mg/dL  Glicemia < 200 mg/dL	Cuantitativo de Razón

**Población:** Las Ratas tipo *Rattus rattus*, variedad Albinos especie Wistar.

**Muestra:**

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$Z_{\alpha/2}$ : 1.96

$Z_{\beta}$ : 0.842

$\bar{X}_1$ : 149.8±6.5

$\bar{X}_2$ : 142.1±11.4

n: 5

SE AUMENTA LA MUESTRA A 10 RATAS POR GRUPO.

**Técnicas:** Se aplica la experimentación. Observación de los hechos y manipulación de las variables permitiendo la obtención de datos.

**Procedimiento:** El extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote”, se preparó de las semillas maduras de achiote, traídas del Distrito de Uchiza (Provincia Tocache – Departamento de San Martín). Se utiliza el método de percolación para obtener los fitoconstituyentes de la *Bixa Orellana* intactos, previa identificación de las semillas. Se emplea un depósito con 6 litros de Etanol a 80%, canicas, papel filtro y algodón, se coloca las semillas dentro, y por 48 horas se macera para obtener la tintura de *Bixa Orellana*, en otro depósito se mezcla 75% de la tintura y 25% de agua destilada, obteniendo el extracto fluido.

Los animales empleados fueron ratas tipo *Rattus rattus*, variedad Albinos especie Wistar, machos adultos, entre 200-310g, sanos, mantenidas en bioterios, considerando requisitos de bioseguridad. Para desinfectar el ambiente se utilizó etanol 70%, 3 vez por día; se determinó direccionalidad del aire, y adecuada exposición a luz natural. Alimentación a base de maíz y agua, ad libitum.

Para inducir a diabetes a las *Rattus rattus*, se utilizó aloxano, compuesto químico que causa diabetes al destruir las células  $\beta$  del páncreas. La respuesta a aloxano se divide en tres fases: la hiperglicemia inicial debido a la degradación del glucógeno hepático, que tiene una duración aproximadamente de 2 horas; la hipoglicemia temporal en las próximas 6 horas, causadas por la secreción de insulina a partir de las células dañadas; y, la hiperglicemia permanente que comienza en 12 horas.

A los grupos de ratas experimentales, se le administró solución de aloxano 1g diluido con agua destilada al 5% a una dosis de 150 mg/Kg<sup>22</sup>, por vía

intraperitoneal, previa formación de los grupos. Se midió la glicemia, al obtenerse sangre de la cola a 24h, 48h, 96h y 120h post inducción. Se declaró a las ratas como diabéticas con valores superiores a 200 mg/dl. Considerando valores normales de glicemia en ratas de 90 a 160 mg/dL.<sup>23</sup>

A uno de los grupos de ratas se les administró extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” por 7 días a dosis de 400 mg/Kg y al otro grupo, Metformina a 100 mg/Kg, a través de sonda orogástrica. Las mediciones de la glucosa se realizaron con un glucómetro digital (“Accu-Check Active”), y las muestras se tomaron a las 2h, 4h, 6h y 12h, por 7 días post inducción a diabetes. Antes de iniciar el procedimiento se midió el peso de cada rata, incluyendo solo las que cumplen los criterios establecidos.

Se realizaron controles fotográficos en distintos momentos de la experiencia, contándose con el apoyo del asesor, quien en todo momento verificará los procedimientos, de acuerdo con lo establecido en el estudio.

El manejo de residuos biocontaminados como material punzo cortante se dispuso en botellas con etanol 70%, posteriormente fueron eliminados. El material biológico (ratas), fue incinerado en campo rural, previa eutanasia.

### **Criterios de selección:**

#### Criterios de Inclusión:

- Ratas macho variedad albinos especie Wistar.
- Ratas con Hiperglicemia (glucosa  $\geq$  200 mg/dl).
- Ratas que pertenezcan a la misma camada.
- Ratas que presenten peso entre 200-310g.
- Ratas que tengan de 7 a 10 meses.

#### Criterio de Exclusión:

- Ratas con enfermedad metabólicos y otra patología

**Validación y confiabilidad del instrumento:** El Instrumento elaborado y utilizado para la recolección de datos de este trabajo, fue validado mediante el

juicio de 03 expertos de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad César Vallejo.

**Métodos de análisis de datos:** Los datos fueron recolectados a través de fichas, y analizados a través de la prueba t student. Para diferencia de medias con grupos independientes, y comportamiento o distribución normal, se empleó la prueba de varianza (ANOVA) y diagrama de cajas, haciendo uso de Software SPSS 22,0 para evidenciar el efecto del achiote con Metformina. Se tomó los valores de  $p < 0.05$  como significativos siempre y cuando exista efecto.

**Aspectos Éticos:** Se consideró el bienestar del animal, utilizándolos de forma adecuada (trato humanizado), y realizando buenas prácticas de inyección, sujeción, considerando, las variables ambientales (temperatura, ventilación, iluminación, etc.), atención directa (agua, alimentación, etc.) y eutanasia.<sup>24</sup>

Los principios señalados en el Artículo 6° del reglamento de ética del INS (Instituto Nacional De Salud) para el uso de animales en investigación, incluyen, respeto hacia el animal, garantizando su vida, evitando acciones abusivas, sacrificios innecesarios y procurando el máximo refinamiento en su utilización; No maleficencia, es decir, no causar daño mediante los procedimientos de investigación; justicia, garantizando su calidad de vida y comportamiento ajustados al orden natural y; gratitud y afecto, al ser nuestros colaboradores incondicionales.<sup>25</sup>

## RESULTADOS

### ACHIOTE PRE - POST PRUEBA

TABLA N 01

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa Orellana*  
“ACHIOTE” SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *Rattus rattus*

Glicemia	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Pre Prueba	439.8	8	77.8	27.3
Post Prueba	408.8	8	143.1	50.6

FUENTE: Laboratorio de la UNT.

P=0.56 (p<0.05), t= - 0.6, gl= 7.0

Los niveles de glicemia del grupo de extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” en la pre prueba tuvieron una media de  $439.8 \pm 77.2$  mg/dl, y en la post prueba,  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl. (P=0.56).

## METFORMINA PRE - POST PRUEBA

TABLA N 02

### EFFECTO DE LA "METFORMINA" SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *Rattus rattus*

GLICEMIA	Media	N	Desviación típ.	Error típ. de la media
Pre Prueba	426.1	7	122.6	46.3
Post Prueba	411.4	7	110.7	41.8

FUENTE: Laboratorio de la UNT.

P=0.69 (p<0.05), t= -0.407, gl= 6

Los niveles de glicemia del grupo de Metformina en la pre prueba tuvieron una media de  $426.1 \pm 122.6$  mg/dl, y de post prueba,  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl. (P=0.69).

## POST TESTGRUPO EXPERIMENTAL - GRUPO CONTROL

TABLA N 03

### EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa Orellana* “ACHIOTE” COMPARADA CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *Rattus rattus*

Grupo	N	Media	Desviación típ.	Error típ. de la media
Achiote	8	408.8	143.1	50.6
Metformina	7	411.4	110.7	41.8

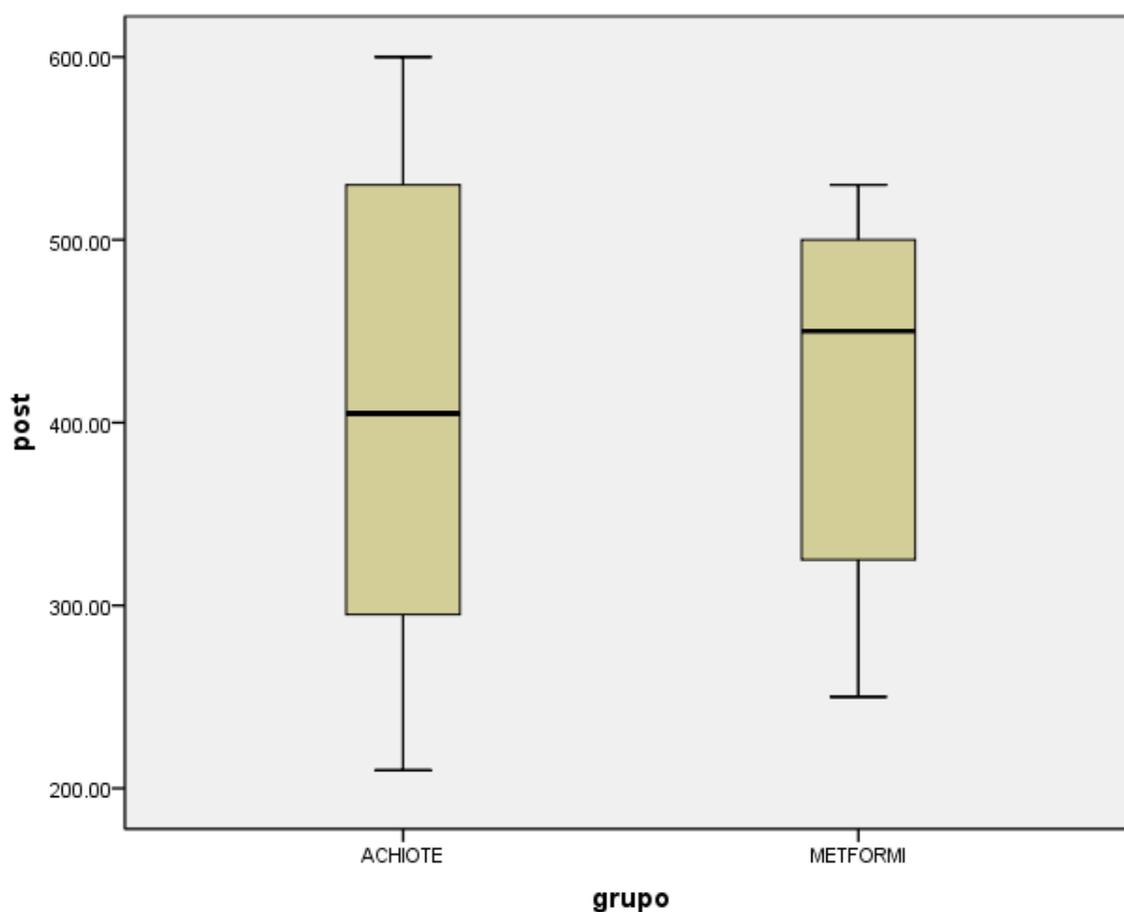
FUENTE: Laboratorio de la UNT.

P=0.97 ( $p < 0.05$ ),  $t = -0.040$ ,  $gl = 13$

Los niveles de glicemia del grupo de extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” tienen una media de  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl, y del grupo de Metformina,  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl, observando una disminución de la glicemia en ambos grupos. (P=0.97).

**FIGURA N 01**

**EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *BIXA ORELLANA* “ACHIOTE” COMPARADA CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *RATTUS RATTUS***



Los niveles de glicemia del grupo de *Bixa Orellana* “achiote” se encuentran más dispersos que los del grupo de Metformina.

## DISCUSIÓN

En la tabla N°01 se muestran los valores de glicemia de ratas tratadas con extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” ( $P = 0.56$ ), con lo que se deduce que los valores de glicemia en la pre y post prueba son estadísticamente iguales ( $p < 0.05$ ), a pesar de tener una media en la pre prueba de  $439.8 \pm 77.2$  mg/dl y post prueba  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl. Nuestros datos son diferentes al estudio de Teles, F. et al<sup>10</sup>, quienes obtuvieron disminuciones de glicemia en el grupo de achiote de hasta  $423 \pm 18$  mg/dl y en el grupo sin achiote  $507 \pm 48$  mg/dl, concluyendo que había una reducción de los niveles de glicemia estadísticamente significativos, siendo esta aún mayor a las 2h de administración. ( $p < 0,05$ ); diferencia que probablemente se debió a que el investigador utilizó estreptozotocina a 60 mg/Kg, inductor de diabetes, a diferencia de nuestro trabajo en donde se empleó aloxano a 150 mg/Kg. De la misma manera los autores emplearon dosis límites de extracto de achiote, como es 540 mg/Kg.

Martínez, N. et al<sup>12</sup>, sin embargo, al evaluar el efecto hipoglicemiante de la *Bixa Orellana*, obtuvieron resultados promedio bajos, que resultan diferentes a nuestro trabajo puesto que los niveles de glicemia en el grupo control y experimental, aumentaron en vez de disminuir (Grupo de conejos control a las 0 horas = 119.1 mg/dl, grupo de conejos control a las 2 horas = 122.6 mg/dl, grupo de conejos control a las 4 horas = 128.4 mg/dl, grupo de conejos diabéticos a las 0 horas = 119.8 mg/dl, grupo de conejos diabéticos a las 2 horas = 143.6 mg/dl y grupo de conejos diabéticos a las 4 horas = 143.2 mg/dl), y ello ocurrió probablemente, debido a que utilizaron el extracto acuoso, que posiblemente tiene una potencia hipoglicemiante menor, o quizá, debido al empleo de una dosis menor del extracto (100 mg/Kg) que la utilizada en nuestra investigación (400 mg/Kg), o el utilizar conejos como población de estudio, en vez de ratas, concluyendo de esa manera que los niveles de glicemia no evidenciaba diferencia estadísticamente significativa ( $P=0.060$ ).

En la tabla N°02, los niveles de glicemia de las ratas tratadas con Metformina, tuvieron medias en la pre prueba de  $426.1 \pm 122.6$  mg/dl y post prueba  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl. ( $P = 0.69$ ), deduciendo que los valores de ambas pruebas son estadísticamente iguales ( $p < 0.05$ ), Sin embargo, Patnaik, S. et al<sup>11</sup>, quienes

estudiaron el efecto antidiabético de *Bixa Orellana*, obtuvieron resultados diferentes, siendo el grupo de ratas control =  $80.8 \pm 1.9$  mg/dl, grupo control de ratas diabéticas =  $334.5 \pm 10.8$  mg/dl, grupo ratas diabéticas con Glibenclamida 0.5 mg/Kg =  $248.3 \pm 12.2$  mg/dl, extracto etanólico 400 mg/Kg =  $263.5 \pm 11.3$  mg/dl, extracto de petróleo 200 mg/Kg =  $290.0 \pm 8.1$  mg/dl, extracto dietílico 200 mg/Kg =  $269.3 \pm 8.7$  mg/dl, extracto acetato de etilo 200 mg/Kg =  $268.5 \pm 7.3$  mg/dl, extracto n-butanol 200 mg/Kg =  $250.7 \pm 10.4$  mg/dl. A pesar de que todos los tratamientos disminuían la glicemia, el extracto de Acetato de etilo obtuvo una disminución estadísticamente más significativa. ( $p < 0.01$ ), probablemente por las diferentes dosis de los extractos que utilizaron en su estudio, y al tipo de hipoglicemiante.

El estudio realizado por Patnaik, S. et al<sup>11</sup>, incluyó también a la Glibenclamida, una sulfonilurea usada junto a la Metformina para disminuir los niveles de glicemia. Aunque al compararlas, se observa que el tratamiento con Glibenclamida es más potente que con Metformina, debido al diferente mecanismo de acción que estas tienen, la Metformina es la más utilizada, puesto que tiene menor riesgo de hipoglicemia en comparación con la Glibenclamida al no modificar la concentración de insulina.

La Metformina, reduce las concentraciones de glucosa, producción hepática e incrementa la captación periférica de esta, al aumentar la acción de la proteína cinasa dependiente de AMP (AMPK), y de esta manera, incita la oxidación de ácidos grasos, reducción de gluconeogénesis y lipogénesis, y mayor captación de glucosa, teniendo como resultado, una menor elaboración de glucosa hepática y aumento de la sensibilidad a insulina.<sup>20</sup> En cambio, las sulfonilureas como la Glibenclamida, incitan a la liberación de insulina al acoplarse a su receptor de sulfonilureas (SUR), ubicado en las células  $\beta$  del páncreas, esta unión causa inhibición de los canales  $K_{ATP}$ , lo que produce la despolarización de su membrana, ocasionando que el calcio ( $Ca^{2+}$ ) ingrese, estimulando la liberación de insulina por exocitosis. Además, pueden reducir la eliminación hepática de insulina, con lo que se incrementa aún más la concentración plasmática de esta hormona.<sup>26</sup>

En la tabla N°03, se compararon los niveles de glicemia de las ratas del grupo tratadas con extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina,

( $P=0.97$ ), deduciendo que los valores de ambas pruebas eran estadísticamente iguales ( $p < 0.05$ ), a pesar de tener medias de  $408.8 \pm 143.1$  mg/dl en el grupo de extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote” y  $411.4 \pm 110.7$  mg/dl en el de Metformina. Analizándose el diagrama de cajas (figura N°01), los valores de glicemia del grupo de *Bixa Orellana* “achiote” se encontraban más dispersas que los de Metformina, dando a entender que las glicemias del grupo de Metformina eran más homogéneas que del extracto hidroalcohólico de *Bixa Orellana* “achiote”, lo que estaría explicando su definida actividad hipoglicemiante.

Nuestros datos son diferentes al estudio de Roehrs M. et al<sup>9</sup>, quienes investigaron los efectos de la administración oral de *Bixina* (BIX) y *Norbixina* (NBIX), principios activos de la *Bixa Orellana*, sobre los niveles de glicemia, obteniendo que el grupo de ratas diabéticas con Metformina a 100 mg/Kg, *Bixina* 10 mg/Kg y *Bixina* 100 mg/Kg, redujeron los niveles de glicemia significativamente, en cambio, el grupo de ratas tratadas con *Norbixina* 10 mg/Kg y *Norbixina* 100 mg/Kg, no redujeron los niveles de glicemia, ( $p < 0.05$ ), por lo que se concluyó que la *Bixina*, era tan eficaz como la Metformina para disminuir los niveles de glicemia, en cambio la *Norbixina* no lo era, lo cual probablemente se debió a las diferentes dosis utilizadas y al distinto mecanismo de acción que los medicamentos y tratamientos puedan tener.

En nuestra investigación se utilizó el extracto hidroalcohólico de achiote, y no los principios activos de este por limitaciones técnicas, debiendo considerarse que el extracto contiene varios principios activos con función hipoglicemiante y otros principios cuya función metabólica se desconoce, además de principios inactivos, que pueden alterar las propiedades hipoglicemiantes de esta planta, y de esa manera pueda alterar la absorción de los principios activos con acción hipoglicemiante. Esta reflexión es válida y es punto de partida para explicar por qué a pesar de haber trabajado con una muestra adecuada y haber demostrado la propiedad hipoglicemiante, la diferencia entre los niveles de glucosa inicial y final no fue estadísticamente significativamente, aunque existió una marcada tendencia a la hipoglicemia. De la misma manera, pensamos que la administración de dosis

elevadas del extracto definitivamente habrá de conllevar el efecto hipoglicemiante estadísticamente significativo.

Los valores de los grupos tratados con Metformina (fármaco usado como tratamiento en la DM2 para disminuir la glucosa postprandial), no muestran una diferencia entre los niveles de glucosa inicial y final estadísticamente significativa, a pesar de haberse probado científicamente y clínicamente lo contrario, este hecho probablemente ocurrió por el efecto del medicamento inductor (aloxano), que al destruir las células  $\beta$  del páncreas en un 90% aproximadamente este estaría produciendo artificialmente diabetes tipo 1 sobre las ratas, y se sabe que la Metformina no actuaría adecuadamente sobre esta, evidenciándose estadísticamente como que no tiene efecto en el grupo de ratas experimental, a pesar de observarse que sí disminuía la glicemia.

Si bien es cierto no se conoce exactamente el mecanismo de como la *Bixa Orellana* “achiote” disminuye los niveles de glicemia, se han realizado estudios bioquímicos para poder explicarlo, como el de Lugardo S.<sup>13</sup>, quien determinó que la *Bixa Orellana* tiene efecto inhibitorio en la glucosilación no enzimática de proteínas (Glicación o reacción de Maillard), definida como una reacción bioquímica de los grupos amino primarios (aminoácidos, péptidos y proteínas) con el grupo carbonilo (azúcares reductores), distinguiéndose tres etapas: la formación del compuesto base de Schiff (asociación inestable de azúcar con proteínas), producto de Amadori (asociación estable de azúcar y proteínas) y la formación de compuestos fluorescentes y/o coloreados.

En medios fisiológicos la aparición de estos compuestos está definitiva por la agrupación de azúcares reductores (glucosa) y el tiempo de exposición de la proteína. En su estudio identificó que el extracto hidroalcohólico tenía mejor efecto inhibitorio de esta reacción, recomendando el uso del Achiote en la prevención o el tratamiento de patologías donde la hiperglucemia y la glucosilación de las proteínas (AGEs) juegan un papel importante. (Lugardo S.<sup>13</sup>).

## CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote”, no muestra efecto significativo sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*, sin embargo existe una tendencia marcada y definida hacia la hipoglicemia
2. La Metformina, no muestra efecto estadísticamente significativo sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*, sin embargo existe una tendencia marcada y definida hacia la hipoglicemia.
3. El extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote” y Metformina tienen el mismo efecto sobre los niveles de glicemia en *Rattus rattus*.

## RECOMENDACIONES

1. Continuar estudios sobre el extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote”, empleando distintas dosis, a fin de identificar cual tiene mejor efecto.
2. Ampliar el conocimiento sobre los principios activos hipoglicemiantes de la *Bixa Orellana* “achiote”, a fin de identificarlos para su uso en la práctica clínica.
3. Identificar los efectos tóxicos a corto y largo plazo del uso del extracto hidroalcohólico de la *Bixa Orellana* “achiote”, a fin de evitarlos en el tratamiento de la diabetes.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hernández M, Gutiérrez J, Reynoso N. Diabetes mellitus en México. El estado de la epidemia. SPM [Internet]. 2013 (Revisado el 27 de abril del 2015); 55 (2): 129-130. Disponible en: [http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt&pid=S0036-36342013000800009](http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt&pid=S0036-36342013000800009)
2. OMS [Internet]; (Actualizado en noviembre 2014, Revisado el 27 de abril del 2015). Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
3. Untiveros F, Nuñez O, Tapia L, Tapia G. Diabetes mellitus tipo 2 en el Hospital II EsSalud-Cañete, Aspectos demográficos y clínicos. RMH [Internet]. 2004 (Revisado el 27 de abril del 2015); 15 (1): 19-20. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1018-130X2004000100005](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1018-130X2004000100005)
4. Ramos W, López T, Revilla L, More L, Huamani M, Pozo M. Resultados de la vigilancia epidemiológica de diabetes mellitus en hospitales notificantes del Perú, 2012. RPMESP [Internet]. 2014 (Revisado el 27 de abril del 2015); 31(1): 9-10. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342014000100002&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342014000100002&script=sci_arttext)
5. Alba J, Ramírez B, Robles G, Zañudo J, Salcedo Rocha A, García J. Conocimiento y uso de las plantas medicinales en la zona metropolitana de Guadalajara. D [Internet]. 2012 (Revisado el 27 de abril del 2015); (39): 29-30. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-92742012000200003&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-92742012000200003&script=sci_arttext)
6. Martínez N, Jiménez R, Moreno W, Lamont L, Cayamal E, Espino C. Efecto hipoglucemiante de la planta *B. orellana* L, en conejos de la raza Nueva Zelanda y en medios de glucosa con células resuspendidas. En: Rivas J. Anuario de investigación en Etnomedicina, medicinas complementarias y utilización de plantas medicinales. 5ta edición. México; 2010. p. 43-46.
7. Camacho L, Soberón M. Eficacia de la glibenclamida con Metformina en el control de la glicemia en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. BSPMI [Internet]. 2001 (Revisado el 13 de julio del 2015); 14 (3):148-152. Disponible en: [http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v14n3/ef\\_gliben.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v14n3/ef_gliben.htm)
8. Salazar Y. Uso de la Metformina en la diabetes mellitus tipo II. RCF [Internet]. 2011 (Revisado el 13 de julio del 2025); 45 (1): 157-166. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152011000100015&nrm=iso](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152011000100015&nrm=iso)
9. Roehrs M, Figueiredo C, Magalhães M, Vargas G, Moresco R, Quatrin A, et al. Bixin and Norbixin Have Opposite Effects on Glycemia, Lipidemia, and Oxidative Stress in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. IJE [Internet]. 2014 (Revisado el 28 de setiembre del 2015); pag: 1-10. Disponible en: <http://www.hindawi.com/journals/ije/2014/839095/>

10. Teles F, Silveira F, Machado T, Lima R. Bixa orellana (annatto) exerts a sustained hypoglycemic effect in experimental diabetes mellitus in rats. ME [Internet]. 2014 (Revisado el 28 de abril del 2015); 1 (1): 36-38. Disponible en: **<http://www.medicalexpress.net.br/details/43/bixa-orellana--annatto--exerts-a-sustained-hypoglycemic-effect-in-experimental-diabetes-mellitus-in-rats>**
11. Patnaik S, Mishra S, Choudhury G, Panda S, Behera M. Phytochemical Investigation and Simultaneously Study on Anticonvulsant, Antidiabetic Activity of Different Leafy Extracts of Bixa Orellana Linn. IJPB [Internet]. 2011 (Revisado el 28 de abril del 2015); 2(5): 1497-1501. Disponible en: **<http://www.ijpba.info/ijpba/index.php/ijpba/article/view/440>**
12. Marínez N, Jiménez R, Moreno W, Lamont L, Espino C. Efecto hipoglucemiante de la planta Bixa orellana L., en conejos de la raza nueva Zelanda y en medios de glucosa con células resuspendidas. R [Internet]. 2010 Revisado el 28 de abril del 2015). Disponible en: **[http://www.researchgate.net/publication/270569637\\_Efecto\\_hipoglucemiante\\_de\\_la\\_planta\\_Bixa\\_Orellana\\_L\\_en\\_conejos\\_de\\_la\\_raza\\_Nueva\\_Zelanda\\_y\\_en\\_medios\\_de\\_glucosa\\_con\\_clulas\\_resuspendidas](http://www.researchgate.net/publication/270569637_Efecto_hipoglucemiante_de_la_planta_Bixa_Orellana_L_en_conejos_de_la_raza_Nueva_Zelanda_y_en_medios_de_glucosa_con_clulas_resuspendidas)**
13. Lugardo S. Efecto de Bixa Orellana, 16 especias y 21 chiles utilizados en la comida tradicional mexicana, sobre la glucosilación no enzimática de proteínas in vitro. IPN [Tesis]. México; 2010 (Revisado el 26 de octubre de 2015). Disponible en: **<http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9204/34.pdf?sequence=1>**
14. Mendocilla M, Villar M. Monografías de plantas medicinales. En: Villar M, Villavicencia O. Manual de fitoterapia. Lima: EsSalud; 2001. p. 96-100.
15. Granados G. Estudio sobre producción y comercialización del achiote en los cantones de Aguirre y dota. En: Arce J. Aspectos sobre el achiote y perspectivas para Costa Rica. Costa Rica: IICA; 1983. p. 15.
16. Quiceno J, Peláez L, Corrales O, Fabio H, Cardona I, Cartagena M, et al. El milagro de las plantas. 21 ed. Colombia: Lexus; 2010. p. 29.
17. Power, A. Diabetes Mellitus. En: Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Harrison principios de Medicina interna. Vol II. 18 ed. México: McGrawHill; 2012. p. 2968.
18. Power, A. Diabetes Mellitus. En: Longo D, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Jameson J, Loscalzo J. Harrison principios de Medicina interna. Vol II. 18 ed. México: McGrawHill; 2012. p. 2974.
19. Vidal A. et al. Diabetes Mellitus. Farreras P, Rozman C. Medicina interna Vol II. 17 ed. España: Elsvier; 2012. p.1767.
20. Powers A, D'Alessio D. Páncreas endocrino y farmacoterapia de la diabetes mellitus e hipoglucemia. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12 ed. México: McGrawHill; 2012. p. 1258.

21. Zuñiga L. Conocimiento y cumplimiento del régimen terapéutico y la presencia de complicaciones en pacientes diabéticos Tipo II Centro Médico San Francisco de Asis. URP [Tesis]. Perú; 2006 (Revisado el 10 de mayo del 2016). Disponible en: **[http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/274/1/Zu%C3%B1iga\\_lm.pdf](http://cybertesis.urp.edu.pe/bitstream/urp/274/1/Zu%C3%B1iga_lm.pdf)**
22. Dornas W, Nagem T, Toledo T, Contelli R. Aloxano e Diabetes. RBT. 2006; 19 (2): 81-87.
23. Rigalli A, Di Loreto V. Experimental Surgical Models the Laboratory Rat. 1ra Ed. USA: CRC; 2009.
24. Organización Panamericana de Salud. Ética de la investigación en modelos animales de enfermedades humanas. Acta Bioethica [Internet]. 2007 (Revisado el 18 de mayo del 2016);13(1):17-23. Disponible en: **<http://www.paho.org/spanish/bio/acta15.pdf>**
25. Instituto Nacional de Salud. Reglamento del Comité Institucional de Ética para el uso de animales en investigación. 1ra ed. Perú. 2012. p. 3-4.
26. Powers A, D'Alessio D. Páncreas endocrino y farmacoterapia de la diabetes mellitus e hipoglucemia. Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 12 ed. México: McGrawHill; 2012. p. 1255.
27. Urzua Z. Efectos crónicos de la cafeína sobre el nivel y tolerancia a la glucosa en ratas sanas y con diabetes mellitus experimental. UC [tesis]. México; 2011 (Revisado el 26 de octubre del 2015). Disponible en: **[http://digeset.ucol.mx/tesis\\_posgrado/Pdf/Zorayda\\_Urzua\\_Garcia\\_Dr.pdf](http://digeset.ucol.mx/tesis_posgrado/Pdf/Zorayda_Urzua_Garcia_Dr.pdf)**
28. ADA. Standards of medical care in diabetes. JCARE [Internet]. 2015 (Revisado el 26 de octubre del 2015); 38 (sup1): S13. Disponible en: **<http://diabetes.teithe.gr/UsersFiles/entypa/STANDARDS%20OF%20MEDICAL%20CARE%20I N%20DIABETES%202015.pdf>**.

## ANEXO N° 01

### EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA Bixa orellana "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN Rattus rattus

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 1			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 2			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 3			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 4			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 5			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 6			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Bixa orellana "Achiote" 400 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 7			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

## ANEXO N° 02

### EFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA Bixa orellana "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN Rattus rattus

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 1			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 2			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 3			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 4			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 5			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 6			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

GRUPO DE RATAS	Metformina 100 mg/Kg			
	Glucosa mg/dL			
	Día 7			
	2h	4h	6h	12h
RATA 01				
RATA 02				
RATA 03				
RATA 04				
RATA 05				
RATA 06				
RATA 07				
RATA 08				
RATA 09				
RATA 10				

### ANEXO N° 03

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA Bixa orellana "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN Rattus rattus.

GRUPO DE RATAS	PESO (g)	NIVELES DE GLICEMIA CONTROL	NIVELES DE GLICEMIA POST ALOXANO (mg/dL)			
			24H	48H	96H	120H
RATA 01						
RATA 02						
RATA 03						
RATA 04						
RATA 05						
RATA 06						
RATA 07						
RATA 08						
RATA 09						
RATA 10						
RATA 11						
RATA 12						
RATA 13						
RATA 14						
RATA 15						
RATA 16						
RATA 17						
RATA 18						
RATA 19						
RATA 20						

Criterios para diabetes en ratas	
<b>Normal</b>	100-115 mg/dL
<b>Glicemia basal alterada</b>	≥126 mg/dL
<b>Intolerancia a la glucosa</b>	≥140 mg/dL
<b>DM</b>	≥200 mg/dL

FUENTE: Urzua Z. <sup>27</sup>

Criterios para diabetes en humanos	
<b>Hb A1c</b>	≥6.5%
<b>Glicemia basal</b>	≥126 mg/dL
<b>Glicemia post prandia a 2h</b>	≥200mg/DI
<b>Glicemia al azar + sintomas</b>	≥200mg/DI

FUENTE: ADA 2015<sup>28</sup>

ANEXO N° 04

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana*  
 "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE  
 GLICEMIA EN *Rattus rattus*

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ITEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento o refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCCION (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
2	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
3	✓		✓		✓		✓		✓		✓	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES		SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos		✓		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación		✓		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial		✓		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir		✓		
VALIDEZ				
APLICABLE	✓	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN

Validado por: *Jaime Polo Gamboa*

Fecha: *02-11-2015*

*[Firma]*  
 Firma y sello

ANEXO N° 05

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana* "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE GLICEMIA EN *Rattus rattus*

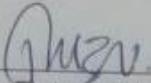
FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento o refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCCION (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
2	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
3	✓		✓		✓		✓		✓		✓	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos			✓		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación			✓		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial			✓		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir			✓		
VALIDEZ					
APLICABLE	X	NO APLICABLE	APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN		

Validado por: MAGALI ZAMUDIO VEJARANO

Fecha: 02/11/15

  
Firma y sello

ANEXO N° 06

EFFECTO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA *Bixa orellana*  
 "achiote" COMPARADO CON METFORMINA SOBRE LOS NIVELES DE  
 GLICEMIA EN *Rattus rattus var. albinus*

FICHA DE EVALUACIÓN INSTRUMENTO POR EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento o refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCCION (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
2	✓		✓		✓		✓		✓		✓	
3	✓		✓		✓		✓		✓		✓	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES			SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos			✓		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación			✓		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial			✓		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir			✓		
VALIDEZ					
APLICABLE	NO APLICABLE	APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN			
✓					

Validado por:

Fecha: 29/10/15

Dr. Marco A. Montoya C.  
 ENDOCRINOLOGO  
 CMP. 39057 - RNE. 23159  
 Firma y sello

## ANEXO N° 07

### PESO DE LAS RATAS

TABLA N 04

#### INDICADORES ESTADISTICOS DEL PESO EN RATAS ANTES DE INDUCIR

GRUPO	N	Media	Desviación n típ.	Error típ. de la media	SIGNIFICANCI A
ACHIOTE	8	255.6	29.2	10.3	P> 0.05
METFORMINA	7	231.4	30.1	11.4	

FUENTE: Elaborada por el investigador

El peso de las ratas en el grupo de Bixa Orellana "achiote" tuvo una media de  $255.6 \pm 29.2$  g, y del grupo de Metformina  $231.4 \pm 30.1$  g. ( $p > 0.05$ ).