

## Efecto hipoglucemiante de *Gentianella bicolor* (Wedd.) *Fabris ex J.S. Pringle* (Corpus Huay) en *Sprague Dowley*

### Hypoglycemic effect of *Gentianella bicolor* (Wedd.) *Fabris ex* *J.S. Pringle* (Corpus Huay) in *Sprague Dowley*

Ludisleydis Bermúdez Díaz,<sup>I</sup> Armando Cuéllar Cuéllar,<sup>II</sup> Milagros Abad Licham,<sup>III</sup> Jorge Huamán Saavedra<sup>IV</sup>

I Universidad Privada Antenor Orrego. Trujillo, Perú.

II Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana. Cuba.

III Instituto Regional de Enfermedades Neoplásicas. Trujillo, Perú.

IV Facultad de Medicina Humana. Universidad Nacional de Trujillo. Perú.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** la medicina tradicional peruana ha empleado desde tiempos remotos a especies de la familia *Gentianaceae* para el tratamiento de la Diabetes Mellitus. Entre ellas destaca la *Gentianella bicolor* (Wedd.) *Fabris ex J.S. Pringle* (*G. bicolor*) conocida comúnmente como "corpus huay", "campanilla", "shashacuma", "campanilla morada". Esta planta, descrita en la botánica como hierba bianual, perenne, de hasta 60 cm de altura y de raíz leñosa, se ha reportado en la región de Cajamarca, Perú y también en Bolivia entre los 3000 y 4500 metros sobre el nivel del mar.

**Objetivo:** evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Gentianella bicolor* (Wedd.) *Fabris ex J.S. Pringle* en *Sprague Dowley* (SD) con diabetes inducida por Streptozotocina.

**Métodos:** se emplearon 28 animales de experimentación *Sprague Dowley*, conformándose 04 grupos de experimentación de 07 animales cada uno. El grupo 01 estuvo conformado por *Sprague Dowley* sanas y el resto de los grupos por *Sprague Dowley* diabéticas que fueron inducidas con una inyección intraperitoneal de Estreptozotocina (STZ) (60 mg/kg). Un grupo de *Sprague Dowley* diabéticas fue tomado como control positivo, otro recibió 10 mg/Kg de peso de glibenclamida y al otro grupo se le administró una dosis diaria de 500 mg/kg de peso de extracto acuoso de *G. bicolor* durante 21 días.

**Resultados:** a partir del día 14, se observó una disminución significativa de la glucemia en el grupo que recibió el tratamiento con *G. bicolor*, observándose una disminución de la glucemia alrededor del 40 %, a las 06 horas después de administrado el extracto. Al realizar el análisis histopatológico de los páncreas correspondientes a los animales de experimentación tratados con el extracto acuoso

de *G. bicolor*, se observó una estructura pancreática homogénea, con presencia de islotes de Langerhans de tamaño normal.

**Conclusión:** Se corroboró el efecto hipoglucemiante crónico de *G. bicolor* y se evidenció un posible efecto regenerador de las células  $\beta$  del páncreas.

**Palabras clave:** Diabetes Mellitus; *Gentianella bicolor*; efecto hipoglucemiante; diabetes inducida; Streptozotocina; Sprague Dowley; *Gentianaceae*.

---

## SUMMARY

**Background:** the traditional Peruvian medicine has been used since ancient times to *Gentianaceae* species for Diabetes Mellitus treatment. These include the *Gentianella bicolor* (Wedd.) Fabris ex JS Pringle (*G. bicolor*), known as "corpus huay", "campanilla", "shashacuma", "campanilla morada ". This plant, botanically described as biennial herb, perennial, up to 60 cm tall, woody root, has been reported in the region of Cajamarca, Peru and in Bolivia between 3000 and 4500 metres above sea level.

**Objective:** to evaluate the hypoglycemic effect of the *G. bicolor* aqueous extract in streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats.

**Methods:** in this study Twenty-eight Sprague Downley (SD) (9 weeks and weighing 200-210 g) were tested. Sprague Downley were divided into 04 experimental groups; 01 control group consisted of 07 healthy Sprague Downley and other groups consisted were STZ-induced diabetic Sprague Downley by intraperitoneal injection of Streptozotocin (60 mg/Kg B.W). A group was taken as untreated STZ-diabetic positive control SD, another STZ-induced diabetic group received glibenclamide (10 mg/kg B.W.), and the other group received the aqueous extract of *G. bicolor* (500 mg/Kg B.W.) daily for 21 days.

**Results:** from day 14 of de experimentation, a significant decrease in blood glucose was observed in the experimental group treated with *G. bicolor* aqueous extract, showing a decrease about 40 %, 06 hours after the extract administered. The histopathological examination showed that the pancreas of STZ-diabetic SD treated with the aqueous extract of *G. bicolor* had a pancreatic homogeneous structure with the presence of islets virtually normal size.

**Conclusion:** *G. bicolor* aqueous extract have a chronic hypoglycemic effect and a possible regenerative effect of the pancreatic islets.

**Keywords:** Diabetes Mellitus; *Gentianella bicolor*; hypoglycemic effect; Streptozotocin; induced diabetes; Sprague Dowley; *Gentianaceae*.

---

## INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus (DM) es una enfermedad endocrino-metabólico-vascular crónica, genética, causada por un defecto absoluto o relativo de la producción y/o liberación de la insulina efectiva que se produce en el páncreas o por un aumento en la secreción de las hormonas hiperglucemiantes: glucagón, adrenalina y los glucocorticoides; provoca una alteración en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos, lo cual se traduce a la larga por un aumento de la glucosa en sangre y orina, y de los niveles de lípidos en la sangre.<sup>1,2</sup>

---

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se estima que para el año 2025 el 5,4 % de la población mundial padecerá DM, reportándose 171 millones de personas con esta enfermedad en el 2000, cifra que alcanzará los 336 millones de enfermos para el año 2030, es Latinoamérica el tercer lugar con mayor prevalencia de esta enfermedad.<sup>3</sup>

En el Perú existen plantas de diferentes especies que son conocidas y empleadas desde los antiguos peruanos para tratar la DM. Dentro de estas plantas destaca la familia *Gentianaceae*, la cual está representada con alrededor de 15 géneros y un aproximado de 170 especies repartidas, en la mayoría en hierbas y arbustos, dentro de las cuales existen algunas especies endémicas del Perú.<sup>4-6</sup>

Las especies de la familia *Gentianaceae* como la *Gentianella umbellata* y *Gentianella graminea*, presentan fitoconstituyentes como flavonoides, peptinas, saponinas, triterpenos a los que se les atribuye el efecto hipoglucemiante.<sup>7,8</sup> A estas especies se les atribuye una serie de usos medicinales por los principios amargos que todas ellas poseen.

*G. bicolor*, conocida por lo común como: "corpus huay", "campanilla", "shashacuma", "campanilla morada", es una planta que crece entre los 3000 y 4500 m.s.n.m., que se ha reportado en la región de La Libertad y Cajamarca, en Perú y también en Bolivia.<sup>6</sup> Entre sus usos etnomedicinales destacan su empleo como antianémico, antidiabético, antipirético, purificador de la sangre y para trastornos hepáticos.<sup>5</sup> También se le atribuye un efecto hipocolesterolémico, anti-artiritis y para aliviar el reumatismo.<sup>7-9</sup>

Existen pocos estudios publicados sobre la identificación de los metabolitos bioactivos presentes en las especies *Gentianella*, lo cual puede deberse en gran medida a que la mayoría de estas plantas son endémicas del Perú. Por otra parte, no se han encontrado publicaciones anteriores donde se validen los usos etnomedicinales y las propiedades terapéuticas de *G. bicolor*, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *G. bicolor* en animales de experimentación *Sprague Dowley* (SD) con diabetes inducida por Streptozotocina.

## MÉTODOS

### Recolección y procesamiento inicial del material vegetal

Se recolectó la *G. bicolor* "corpus huay" en las alturas de Quiruvilca, Santiago de Chuco, Departamento de La Libertad, Perú a 3500 m.s.n.m, en la mañana del 22 de agosto de 2013, la cual fue identificada por el botánico José Mostacero y depositada en el *Herbarium Truxillense* de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), Perú con código de herbario: HUT-57361.

Toda la planta fue recolectada y separada de forma manual. Se utilizó tijeras de corte para las hojas y ramas. Debido a la lejanía del lugar de recolección, todo el material vegetal empleado se secó a la sombra y una vez en el laboratorio, se completó el secado en estufa con aire recirculado a temperatura inferior a los 50 °C.

Para el secado en la estufa, la droga se colocó esparcida directo en bandejas esmaltadas cubiertas con papel Kraft y fueron removidas cada cierto tiempo. El punto exacto del secado se determinó según la friabilidad y fractura de las partes vegetales. Las plantas secadas se trituraron y pasaron por un tamiz con poros de 0,2 mm de

diámetro antes de ser almacenadas a temperatura ambiente hasta el momento de su procesamiento.

#### Preparación del extracto acuoso de *G. bicolor*

Todo el material vegetal recolectado, secado y triturado, de forma independiente fue colocado en un matraz con tapa hermética. Se mezcló 1 Kg de material vegetal con 3 L de agua destilada (proporción 1:3) y se dejó reposar por 24 h. Al día siguiente se calentó a 50-60 °C durante 15 min y se filtró. A continuación se añadió más agua destilada al material vegetal en la misma proporción del día anterior, se calentó por 15 minutos 50-60 °C y se filtró, repitiéndose el proceso una vez más. El filtrado resultante se concentró con vapor de agua hasta sequedad.

El residuo se guardó en refrigeración a 4 °C hasta su redisolución para las evaluaciones biológicas.<sup>10</sup>

#### Animales de experimentación

Para este estudio se emplearon 28 animales de ambos sexos de ratas de la cepa SD, con 9 semanas de edad y un peso de 200 ± 10 g con la certificación de salud correspondiente. Los animales de experimentación fueron sometidos a un fotoperiodo de 12 h de luz y 12 h de oscuridad, a una temperatura de 20<sup>0</sup> ± 4<sup>0</sup> °C y una humedad relativa de 50 ± 5 %. Se mantuvieron 7 días antes, y durante el ensayo (28 días en total) con una dieta estándar y agua *ad libitum*. El estudio se efectuó de acuerdo con las reglamentaciones y principios éticos existentes para la investigación en animales de experimentación.

#### Inducción de diabetes con Streptozotocina

Se realizó el ensayo de inducción de hiperglucemia con la administración de una dosis de 60 mg/kg de estreptozotocina (STZ) (SIGMA, USA) vía intra peritoneal (*i.p.*), a las SD mantenidas 24 h en ayuna. La STZ se disolvió en una solución amortiguadora de citrato de sodio 0,1 M (pH 4,5) que se preparó justo antes de ser administrada.

El grupo Control sano recibió una inyección *i.p.* de 2 mL/Kg de peso de solución amortiguadora de citrato de sodio (0,1M; pH 4,5). Transcurridas 48 h se procedió a la determinación de las concentraciones de glucosa en sangre para lo cual se realizó una pequeña incisión en la punta de la cola de los animales de experimentación para la toma de las muestras de sangre. Los niveles de glucemia fueron determinadas mediante el empleo de un glucómetro ACCU-CHEK® Active (Roche, Alemania).

Las SD cuyo valor de concentración de glucosa en sangre estuvieron por encima de 250 mg/dL, fueron seleccionadas como diabéticas para el presente estudio.

#### Diseño experimental para la evaluación de la respuesta hipoglucemiante del extracto acuoso de *G. bicolor*

Se conformaron cuatro grupos de experimentación de 07 animales cada uno. El grupo 01 estuvo conformado por SD sanas y el resto de los grupos estuvo conformado por SD diabéticas que fueron inducidas con una inyección intraperitoneal de STZ. Un grupo de SD diabéticas fue tomado como control positivo que no recibió tratamiento,

otro grupo recibió 10 mg/Kg de peso de glibenclamida y al otro grupo se le administró una dosis diaria de 500 mg/kg de peso del extracto acuoso de *G. bicolor* durante 21 días.

La administración del extracto acuoso y de la glibenclamida se realizó todos los días con el empleo de cánulas intragástricas de 0,7 mm de diámetro. Para determinar los niveles de glucosa en sangre se colectaron las muestras por incisión en la cola de los animales de experimentación a las: 03, 06 y 24 h después de la administración oral de los tratamientos. Las concentraciones de glucosa en sangre se determinaron con el uso del glucómetro ACCU-CHEK® active (Roche, Alemania).

### **Análisis histopatológico de páncreas**

Se seleccionaron 02 animales por cada grupo de experimentación al azar, los cuales fueron anestesiados y sacrificados con la finalidad de extraer los páncreas y hacer un análisis histopatológico. Se realizó la extracción de todo el sistema digestivo junto con el páncreas para la fijación en una solución de formaldehído al 10 %, pH = 7,6.

Al día siguiente se procedió a la separación de los páncreas del resto de los órganos en fijación y se colocaron en recipientes con nueva solución fijadora para garantizar un adecuado proceso de fijación. Se procedió a la preparación de las muestras de páncreas y se realizaron los cortes histológicos según procedimiento descrito antes.<sup>11</sup> Luego se realizó la tinción histológica con el método de Hematoxilina de *Harris-Floxina B*.<sup>11</sup>

Una vez terminado el proceso de coloración, se procedió a la observación de todos los cortes histológicos realizados a la cabeza, cuerpo y cola de los páncreas de los animales seleccionados, con el empleo de un microscopio óptico con aumentos de 65X, 200X y 450X. Se realizaron microfotografías con el uso de una cámara de alta resolución Carl Zeiss (Alemania).

### **Procesamiento estadístico**

Para comparar los grupos de trabajo en una variable en cuestión se utilizó un Anova de clasificación simple, seguido de una prueba de comparación múltiple (Tukey-b). Para las transformaciones que cumplen con los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza se empleó el estadístico de Levene. Los datos fueron procesados con el paquete estadístico Statistica versión 5.01 para Windows.

## **RESULTADOS**

### **Evaluación de la respuesta hipoglucemiante del extracto acuoso de *G. bicolor***

Se realizaron comparaciones entre los grupos de experimentación a los cuales se les aplicó los diferentes tratamientos con la utilización de diseños aleatorizados y mediante el análisis de varianza, en las dos etapas del experimento: los primeros trece días de tratamiento, donde no se observó diferencias en los niveles de glucemia de los animales que conformaron los grupos de experimentación, y del 14 al 21 día de experimentación, donde se observó una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre alrededor del 36 %, llegó en algunos casos a una disminución del

40 % en el grupo que recibió el tratamiento con *G. bicolor* a las 6 horas después de administrado el extracto acuoso.

También se observó, pero en menor medida, una disminución de la glucemia alrededor del 25 % en los animales tratados con glibenclamida.

En la tabla se muestran los valores promedio de las glucemias de los animales que conformaron los diferentes grupos de experimentación durante los primeros 13 días y del 14 al 21 de experimentación.

**Tabla.** Valores de glucosa en sangre de los animales que conformaron los diferentes grupos de experimentación

Grupos de experimentación*	Glucemia (mg/dL)		
	Día 1	Día 13	Día 14-21
Control negativo (sin diabetes)	105	107	101
Diabéticas sin tratamiento	433	514,51	526,62
Diabéticas + Glibenclamida	420	536,47	398,06
Diabéticas + <i>G. bicolor</i>	430	537,57	341,89

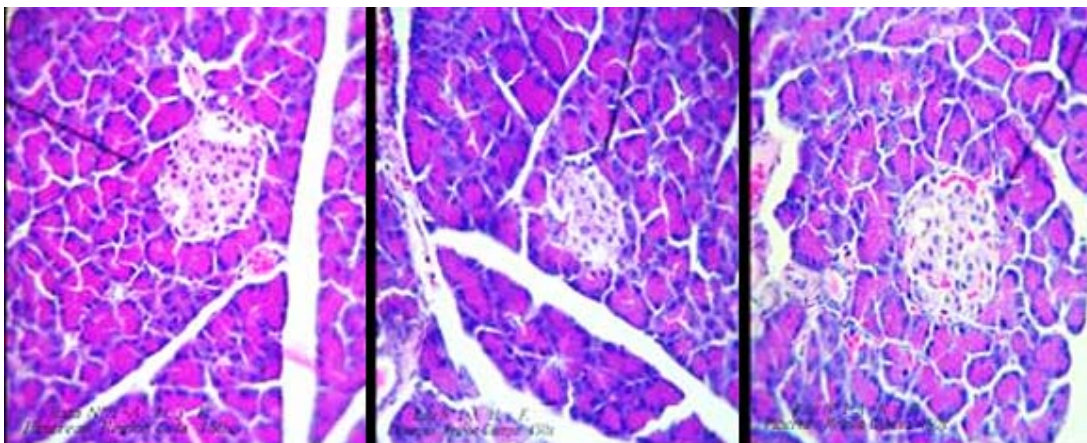
\*Los datos fueron analizados empleando ANOVA y prueba de Tukey-B para comparación de medias de los diferentes grupos de experimentación.

#### Análisis histopatológico de los cortes de páncreas

Se realizó un análisis histopatológico del páncreas, tanto de la región cabeza, cuerpo, como de cola del páncreas de los animales seleccionados por cada grupo de experimentación.

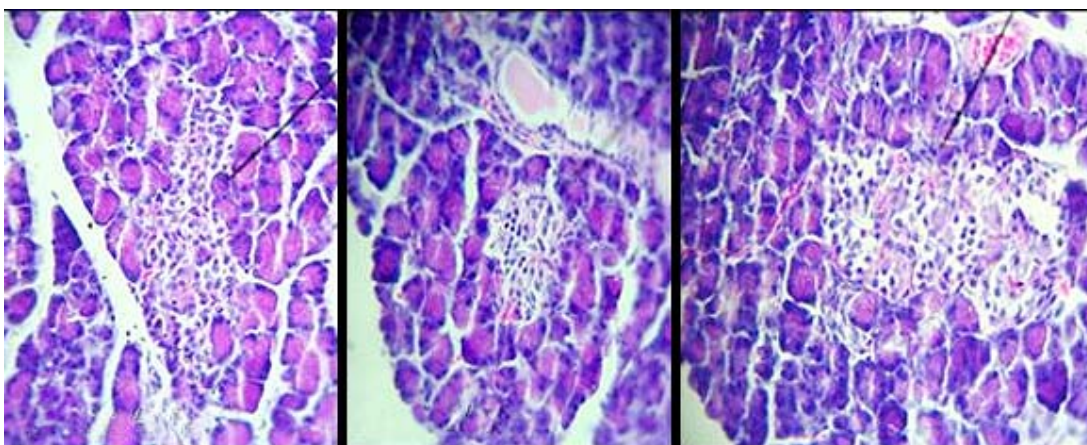
En la figura 1 se muestran los cortes histológicos de páncreas realizado a un animal de experimentación sano (grupo 01 de experimentación). Se observa un tejido pancreático conservado con los acinos glandulares bien formados. En el corte aparecen como formaciones redondeadas o alargadas cuyas células piramidales y oscuras, con núcleos redondeados y basales, delimitan una luz estrecha o virtual. Es posible determinar la existencia de células que se sitúan en el centro entre ellos y la luz del acino, correspondientes a las células centroacinosas. Los islotes de Langerhans están formados por cordones celulares que se anastomosan y en conjunto forman una red entre cuyas mallas se encuentran numerosos capilares sanguíneos.





**Fig. 1.** Microfotografía de corte histológico de páncreas perteneciente al grupo de experimentación sano. De izquierda a derecha se muestran los cortes histológicos de cola, cuerpo y cabeza del páncreas, con un aumento de 450X.

En la figura 2 se muestran microfotografías de cortes histológicos de las tres regiones del páncreas de un animal de experimentación perteneciente al grupo al cual se le administró glibenclamida. Se puede observar un tejido pancreático normal con islotes de Langerhans pequeños que están evolucionando hacia un islote atrófico. Se aprecia la presencia de vasos congestivos, la disminución del número de acinos pancreáticos e indicios de infiltrado linfocítico.

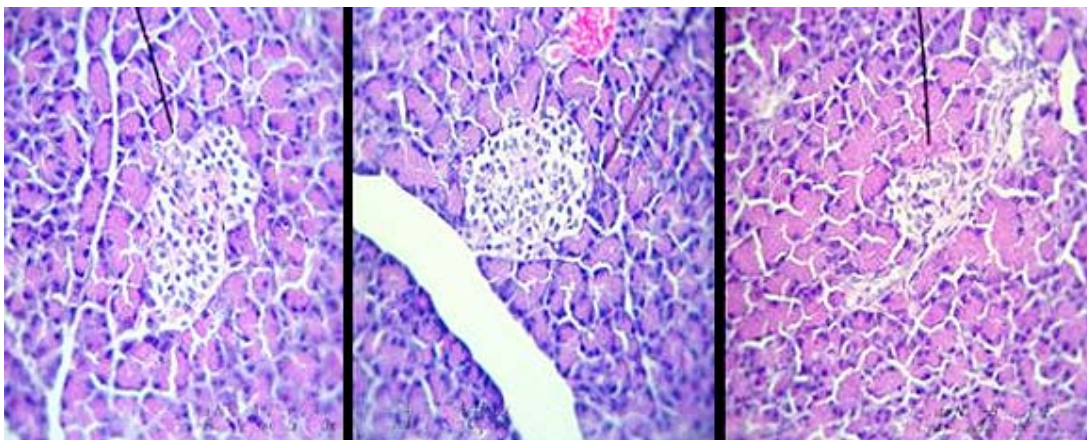


**Fig. 2.** Microfotografía de corte histológico de páncreas perteneciente al grupo de experimentación tratado con glibenclamida. De izquierda a derecha se muestran los cortes histológicos de cola, cuerpo y cabeza del páncreas, con un aumento de 450X.

En la figura 3 se muestran cortes histológicos de páncreas de un animal de experimentación perteneciente al grupo que recibió tratamiento con *G. bicolor*. En la región de cola y cuerpo de páncreas se puede observar una estructura pancreática homogénea, con presencia de islotes de Langerhans de tamaño normal. Morfológicamente es un tejido pancreático normal.

Sin embargo, en la región de cabeza de páncreas se observan islotes pequeños y presencia de células primitivas (células madres), lo que evidencia signos de regeneración morfológica en esta región del páncreas y una evolución a la normalidad.

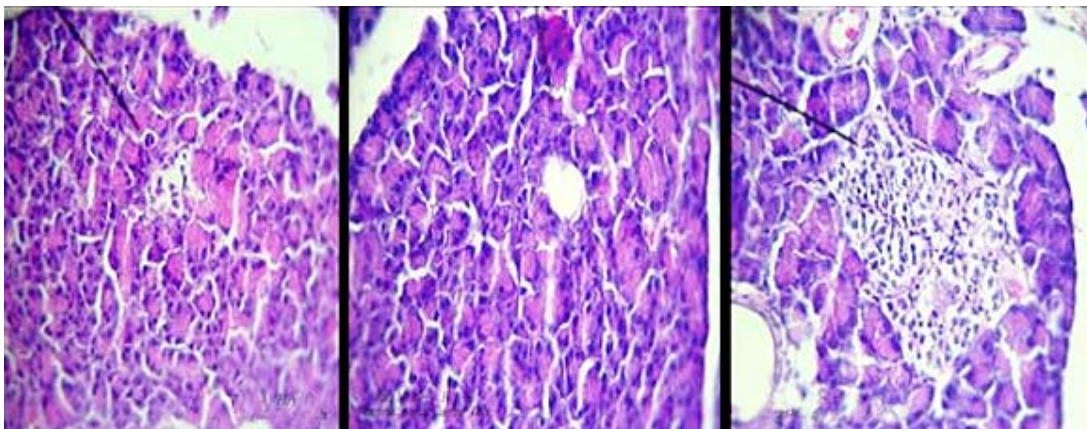




**Fig. 3.** Microfotografía de corte histológico de páncreas perteneciente al grupo de experimentación tratado con el extracto acuoso de *G. bicolor*. De izquierda a derecha se muestran los cortes histológicos de cola, cuerpo y cabeza del páncreas, con un aumento de 450X.

En la figura 4 se muestran cortes histológicos de páncreas de un animal de experimentación perteneciente al grupo diabético que no recibió ningún tratamiento. Se puede apreciar un tejido pancreático con una disminución marcada de la cantidad de islotes de Langerhans, observándose sólo 1 a 2 por campo microscópico. Además se observan alteraciones morfológicas del núcleo mostrando picnosis, carirrexis y cariólisis.

Es notable la hipertrofia y atrofia de las células beta (aumento y disminución del volumen celular) del páncreas, así como la degranulación de las células beta e hipertrofia con disminución del tamaño de los islotes. La morfología insular está alterada, se muestra contornos estrellados o disgregados con presencia de congestión vascular. También se observa necrosis de los islotes de Langerhans y lesiones degenerativas de las células beta del páncreas.



**Fig. 4.** Microfotografía de corte histológico de páncreas perteneciente al grupo de experimentación que no recibió ningún tratamiento. De izquierda a derecha se muestran los cortes histológicos de cola, cuerpo y cabeza del páncreas, con un aumento de 450X.



## DISCUSIÓN

La medicina tradicional ofrece una alternativa para el tratamiento de enfermedades metabólicas tales como la DM. Las plantas son fuentes de sustancias bioactivas, sin embargo, algunas de ellas son tóxicas y perjudiciales para el ser humano. Por ello, es importante realizar estudios químico-biológicos que evalúen la efectividad de estas plantas en el tratamiento de enfermedades, así como la posible toxicidad que pueden presentar, para que se pueda recomendar su uso de una manera segura.

En este trabajo se planteó la evaluación del efecto hipoglucemiante de *G. bicolor* por ser una planta empleada ancestralmente en el Perú para combatir diversas enfermedades, entre ellas la DM.<sup>4</sup>

Estudios anteriores donde han evaluado el efecto hipoglucemiante de *Gentianella umbellata* y *Gentianella thyrsoidea*, especies de la familia *Gentianaceae*, han observado un efecto hipoglucemiante agudo a las 05 horas después de administrar el extracto diclometánico de esta especie desde el primer día de experimentación.<sup>8,12</sup> Sin embargo, hasta la fecha no se ha encontrado un estudio anterior donde se haya empleado plantas de la familia *Gentianaceae* y/o se haya reportado el mismo comportamiento observado en este estudio.

Si bien no se observó un efecto hipoglucemiante hasta valores basales, hay que destacar que a medida que avanzó la experimentación, los niveles de glucemia de los animales diabéticos incluidos en el estudio, llegaron en muchos casos por encima de los 600 mg/dL y lograr una disminución alrededor del 40 % con la administración del extracto acuoso de *G. bicolor*, es una disminución importante y de estadística significativa.

El hecho de que no se observara una disminución de la glucemia hasta el día 14 de experimentación, sugiere que el efecto hipoglucemiante de esta especie es crónico y muy probable si se hubiera prolongado el tiempo de experimentación, se hubiera podido observar una disminución mayor de los niveles de glucemia, así como una mayor recuperación de los islotes de Langerhans y por tanto un aumento de la producción de insulina por las células beta.

Un estudio previo realizado por *Alimohammadi* y colaboradores en el 2013, evidenció que el extracto hidroalcohólico de *Nigella sativa* L., administrado a ratas con hiperglucemia inducida por la administración intraperitoneal de STZ, no solo tuvo un efecto hipoglucémico a partir del día 16 de experimentación, sino que además se observó un incremento del número de células beta de los islotes de Langerhans y de la producción de insulina en el tejido pancreático.<sup>13</sup>

Los resultados obtenidos con la administración del extracto acuoso de *G. bicolor*, sugieren una recuperación y/o regeneración morfológica de las células beta del páncreas producto del mismo. Para comprobar la funcionalidad del tejido pancreático regenerado, es necesario realizar ensayos inmunohistoquímicos para identificar la presencia de insulina en las células beta de los islotes de Langerhans de páncreas.

En este estudio se evidenció la capacidad regeneradora de células beta de páncreas con la administración del extracto acuoso de *G. bicolor*, demostrándose las potencialidades de la medicina tradicional y la necesidad de realizar estudios posteriores para la separación e identificación de los metabolitos presentes en el extracto acuoso de *G. bicolor*, que pudieran ser responsables del efecto hipoglucemiante observado.

"

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Diabetes Association. Classification and Diagnosis of Diabetes. Diabetes Care. 2015;38(1):S8-16.
2. Sacks D, Arnold M, Bakris G. Guidelines and Recommendations for Laboratory Analysis in the Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. Diabetes Care. 2011;34:61-99.
3. Ke-wei Wang. Assessment of the Magnitude of Contextual and Individual Demographic Effects on Diabetes Mellitus and Glucose Intolerance in Rural Southwest China: A Multilevel Analysis. PLoS ONE. 2013;8(7):6855-65.
4. Bussmann R, Paniagua-Zambrana N, Chamorro M, Moreira N, del Rosario Cuadros Negri M, Olivera J, et al. Peril in the market-classification and dosage of species used as anti-diabetics in Lima, Peru. J Ethnobiol Ethnomed. 2013;9:37.
5. León B, Roque J, Ulloa C. El Libro Rojo de las Plantas Endémicas del Perú. Revista Peruana de Biología. 2006;13(2):339-54.
6. Mostacero León J, Castillo Picón F, Mejía Coico FR, Gamarra Torres A, Charcape Ravelo JM, Ramírez Vargas RA, et al. Plantas Medicinales del Perú. Taxonomía, Ecogeografía, Fenología y Etnobotánica. Perú: Asamblea Nacional de Rectores ed; 2011.
7. Brako L, Zaruchi J. Catalogue of the flowering Plants and Gymnosperm of Peru. United States of America: Missouri Botanical Garden ed; 1993.
8. Salazar Díaz J. Contribución al Estudio Químico y Farmacológico de la *Gentianella umbellata* (*G. Don*) *Fabris*. Tesis presentada por Para optar el Grado Académico de Magister en Química: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2011.
9. Becerra Juan. Estudio morfo-histotaxonomico e identificación de los fitoconstituyentes de la especie *Gentianella alborosea* (*Gilg*) *Fabris* "Hercampuri". Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico, Universidad Nacional de Trujillo; Perú 1991.
10. Miranda M, Cuéllar A. Farmacognosia y Productos naturales. Cuba: EIMAV, Ministerio de Educación ed; 2000.
11. Bancroft J, Gamble M. Theory and Practice of Histological Techniques, 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone; 2001.

12. Tomas G. Estudio fitoquímico y farmacológico de la *Gentianella thyrsoidea* Hooker *fabris*. Tesis para optar por el título de Magister en Química. Pontificia Universidad Católica del Perú; 2000.

13. Alimohammadi S, Hobbenaghi R, Javanbakht J, Kheradmand D, Mortezaee R, Tavakoli M, et al. Protective and antidiabetic effects of extract from *Nigella sativa* on blood glucose concentrations against streptozotocin (STZ)- induced diabetic in rats: an experimental study with histopathological evaluation. *Diagnostic Pathology*. 2013;8:137-44.

Recibido: 27 de noviembre de 2014.

Aprobado: 22 de agosto de 2015.

*Ludisleydis Bermúdez Díaz*. Universidad Privada Antenor Orrego. Av. América Sur 3145. Trujillo, Perú.  
Correo electrónico: lbermudezd1@upao.edu.pe