

Rev. Ciencia, Tecnología y Humanidades 7(1): 99 – 108, 2016
Revista de Investigación Científica
Vicerrectorado de Investigación
Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo

Efecto glicemiante de *Pellaea ternifolia* "cuti - cuti" sobre *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina

César Cabrejos M⁴., Katherine Ipanaqué M.,⁴
Eduardo Tejada S.³, Jorge Fupuy C.², Ana Vásquez del C.¹

Resumen

En el presente estudio se trabajó con 20 ejemplares machos de *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c, con peso mayor de 25 gramos, con alimentación estándar y agua ad libitum, procedentes del Bioterio del Instituto Nacional de Salud (INS) – Lima; distribuidos en grupo control (I) y experimental (II), de 10 ratones cada uno. La inducción de hiperglicemia de ambos grupos fue realizada con Estreptozotocina a dosis de 50, 60 y 70 mg/Kg (vía intraperitoneal). El grupo I recibió solución salina fisiológica y al grupo II se le administró el infuso de Cuti - cuti, por vía orogástrica. La determinación de la glicemia fue realizada en ayunas en los días 1, 4 y 7 a los 0, 60, 120, 180 y 240 minutos (durante una semana de tratamiento) con el Glucómetro marca BIONIME Rightest™ GM300. Los resultados demostraron mediante un análisis de varianza (ANOVA) que la hiperglicemia fue mejor controlada a los 180 minutos y durante el cuarto día, evidenciándose en los ratones cepa Balb/c una disminución significativa de glucosa de 185 y 194.22 mg/dL respectivamente.

Palabras Clave: *Pellaea ternifolia*, ratones cepa Balb/c, hiperglicemia, estreptozotocina.

Glycaemic effect of *Pellaea ternifolia* "cuti - cuti" on *Mus musculus* (mouse) strain Balb / c with hyperglycemia induced with streptozotocin Peru

Abstract

In the present study we worked with 20 male specimens of *Mus musculus* (mouse) strain BALB / c, with greater weight of 25 grams, with standard food and water ad libitum, from the Bioterio the National Institute of Health (NIH) - Lima; distributed control group (I) and experimental (II) of 10 mice each. Induction of hyperglycemia of both groups was performed with streptozotocin at doses of 50, 60 and 70 mg / kg (intraperitoneally). Group I received physiological saline and the group II was given the infuso cuti - cuti, via orogastric. The determination of glycemia was performed on fasting on days 1, 4 and 7 at 0, 60, 120, 180 and 240 minutes (for a week of treatment) with glucometer brand BIONIME Rightest™ GM300. The results demonstrated by analysis of variance (ANOVA) that hyperglycemia was best controlled at 180 minutes and on the fourth day, showing in mice Balb / c significantly decreased glucose of 185 and 194.22 mg / dL respectively.

Keywords: *Pellaea ternifolia*, mouse strain Balb/c, hyperglycemia, streptozotocin

¹ Departamento Académico de Microbiología, UNPRG, Lambayeque, Perú

socovdelc@hotmail.com

² Departamento Académico de Pesquería y Zología, UNPRG, Lambayeque, Perú

jafupuy@hotmail.com

³ Departamento Académico de Biología, UNPRG, Lambayeque, Perú

ejutesan@hotmail.com

⁴ Biólogos de la Maestría en Ciencias de la Salud con mención en Microbiología. Escuela de Post – Grado UNPRG.

doc_erika@hotmail.com

ceili_22@hotmail.com

Recibido : 10 mayo 2016

Aceptado : 30 junio 2016

Introducción

La Diabetes mellitus es una enfermedad crónica relativamente frecuente en la población, su prevalencia va en incremento, no sólo en los países desarrollados sino también en los que se encuentran en vías de desarrollo.

Esta enfermedad es una entidad de origen inmunológico, en la cual mecanismos citotóxicos llevan a la destrucción de la célula beta pancreática que trae como consecuencia la deficiencia absoluta o relativa de insulina. Por ello, la manifestación más frecuente de la Diabetes mellitus sería la hiperglicemia asociada a otros trastornos metabólicos y en casos extremos preceden al coma diabético y a la muerte.

La insulino terapia diaria por vía intradérmica resulta incómoda para el paciente, obligándolo a un control periódico de la glucosa sanguínea para evitar la hipoglicemia;

además de ello esta forma de tratamiento puede conducir a ciertas complicaciones como reacciones alérgicas y resistencia a la insulina.

Estudios experimentales recientes sugieren que algunos principios activos aislados de las plantas como flavonoides y alcaloides, cuentan con investigaciones probadas de su efecto hipoglicemiante. Entre ellas, el cuti – cuti, que por acción de su quercetina ejerce un efecto hipoglicemiante, inhibiendo a la enzima aldosa reductasa, la cual está relacionada con la producción de polioles, responsables de los efectos crónicos en la diabetes.

En este trabajo se determinó el efecto glicemiante de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti” sobre *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina.

Metodología

El trabajo de investigación que se ejecutó corresponde a un estudio experimental basado en un diseño clásico.

Inducción de hiperglicemia con estreptozotocina (N-methylnitrosocarbamoyl –D–glucosamine) sigma chemical USA.

Se administró por vía intraperitoneal (Figura 1) el estreptozotocina (Figura 2) a dosis de 50, 60 y 70 mg/Kg disuelta en solución salina fisiológica estéril al 9°/oo, siendo preparada inmediatamente antes de su administración, Los valores hiperglicémicos considerados fueron >176 mg/dL.

Determinación de la glicemia en ratones de estudio

Se realizó un corte en el extremo distal de la cola del ratón con la lanceta (Figura 3) y posteriormente se recolectó 1,4 uL de sangre en una tira reactiva, previamente insertada en el glucómetro digital marca Bionime GM300.

Preparación del infuso de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti”

De la planta de *Pellaea ternifolia* se pesó 200 miligramos, que fueron colocados en un Beacker con 150 mL de agua caliente (sin llegar a hervir). Posteriormente se dejó reposar por 10 – 15 minutos y luego se filtró (Figura 4).

Administración del infuso de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti” en *Mus musculus* “ratón” cepa Balb/c con hiperglicemia

inducida con estreptozotocina

La administración del infuso fue realizada por vía oral utilizando una sonda orogástrica, a una dosis de 3 mL diarios por una semana de tratamiento (Figura 5).

Evaluación del efecto glicémico del infuso de *Pellaea ternifolia* "cuti – cuti" y solución salina fisiológica estéril en *Mus musculus* "ratón" cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina

Se utilizaron 20 ratones machos *Mus musculus* de la cepa Balb/c, de 1 mes y medio de edad y con un peso mayor a 25 gramos; los cuales fueron distribuidos en grupo control y experimental, de 10 ratones cada uno. Todos los animales fueron sometidos a ayuno

de 12 horas previo a la realización de los experimentos.

Para observar los efectos del Cuti – cuti sobre la glicemia normal, ambos grupos de 10 ratones cada uno recibieron 60 y 70 mg/Kg de estreptozotocina, vía intraperitoneal, para inducir hiperglicemia experimental. Posteriormente, el grupo I recibió suero fisiológico y el grupo II, Cuti – cuti a la dosis de 1 mL durante una semana de tratamiento; controlándose la glicemia a los 0, 60, 120, 180 y 240 minutos y al primer, cuarto y séptimo día de tratamiento respectivamente. Los resultados fueron leídos con tiras reactivas del glucómetro digital marca Bionime GM300.



Figura 1. Agente diabotogénico, 2. Inducción de hiperglicemia por vía intraperitoneal a ratones *Mus musculus* cepa Balb/c, 3. Medición por vía intracaudal utilizando glucómetro digital marca Bionime GM300.



Figura 4. Infuso de *Pellaea ternifolia* a 200 mg/Kg, 5. Inoculación por vía orogástrica del infuso de "cuti – cuti" a ratones *Mus musculus* cepa Balb/c.

Resultados

El trabajo de investigación que se ejecutó corresponde a un estudio experimental basado en un diseño clásico.

Inducción de hiperglicemia con estreptozotocina (N- methylnitrosocarbamoyl -D-glucosamine) sigma chemical USA.

Tabla.1.

Material clasificado taxonómicamente en el Herbarium Truxillense.

División	Pteridophyta
Clase	Pteridophyceae
Orden	Pteridales
Familia	Pteridaceae
Género	Pellaea
Especie	Pellaea ternifolia



Tallos y hojas de Pellaea ternifolia

Figura 6. Taxonomía del Helecho de Pellaea ternifolia “cuti – cuti” a cargo del Dr. José Mostacero León – Herbarium truxillense (HUT) - UNT.

Tabla.2.

Glicemia basal e hiperglicemia inducida con estreptozotocina en ratones cepa Balb/c del grupo control y experimental.

Ratones Mus	Glucosa basal (mg/dL)		Hiperglicemia inducida con STZ (mg/dL)*	
	Control (C)	Experimental (E)	Control (C)	Experimental (E)
musculus cepa Balb/c				
1	84	57	235	241
2	97	87	274	294
3	117	94	261	277
4	98	111	276	307
5	70	105	200	206
6	106	78	225	236
7	89	72	235	240
8	94	94	316	325
9	103	80	241	249
10	92	96	310	318

*Prueba T para 2 muestras suponiendo varianzas iguales.

Se muestran los valores de glicemia basal del grupo control (C1 – C10) y experimental (E1 – E10) en ratones *Mus musculus* cepa Balb/c, presentando antes de la inoculación con estreptozotocina valores de glicemia de 84– 117 mg/dL y 57 – 111 mg/dL respectivamente. Para conseguir el objetivo en la investigación se ensayó con dosis de 50, 60 y 70 mg/Kg de

estreptozotocina por vía intraperitoneal, en los dos grupos: control (n=10) y experimental (n=10). Esta solución de estreptozotocina se aplicó por todo el periodo de investigación hasta obtener ratones *Mus musculus* cepa Balb/c (n=20) hiperglicémicos de > 176 mg/dL, evidenciándose en el grupo control el cuadro de hiperglicemia > 199 mg/dL y en el experimental >205 mg/dL.

Tabla.3.

*Glicemia (mg/dL) post – administración de solución salina fisiológica estéril e infuso de *Pellaea Ternifolia* "cuti - cuti" en Ratones *Mus musculus* cepa Balb/c del grupo control y grupo experimental con hiperglicemia inducida con estreptozotocina durante los días 1,4 y 7.*

GRUPO	DÍA	GLICEMIA mg/dL				N° GLICEMIAS EVALUADAS
		\bar{X}	D.S	MÍN. 95%	MÁX. 95%	
Control (N= 10)	1	258	5.49	247	269	50
	4	265	5.49	254	276	50
	7	273	5.49	262	284	50
Experimental (N= 10)	1	237	5.49	226	247	50
	4	194	5.49	183	205	50
	7	156	5.49	145	167	50

\bar{X} : Glicemia Promedio en mg/dL, D.S.: Desviación Estándar, MÍN.95 %: Nivel Mínimo de confianza al 95%, MÁX. 95%: Nivel Máximo de confianza al 95%, N° G.E.: Número de glicemias evaluadas, N= Total de ratones.

Se evidencia que los ratones *Mus musculus* cepa Balb/c con hiperglicemia, en el grupo control durante los días 1, 4 y 7 después de la administración de solución salina fisiológica estéril, se mantenían con glicemias estables de: día 1: 258 mg/dL, día 4: 265 mg/dL y día 7: 273 mg/dL. Mientras al grupo experimental, administrados con

infuso de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti”, se observó que los niveles de glicemia disminuyeron paulatinamente durante el tratamiento: día 1: 237 mg/dL, día 4: 194 mg/dL y día 7: 156 mg/dL. Asimismo, ambos grupos presentaron una tendencia a variar por debajo o por encima de 5.49 mg/dL de glicemia.

Tabla.4.

Glicemia (mg/dL) post – administración de solución salina fisiológica estéril e infuso de Pellaea Ternifolia “cuti – cuti” en Ratones Mus musculus cepa Balb/c del grupo control y grupo experimental con hiperglicemia inducida con estreptozotocina durante los días 1, 4 y 7

GRUPO	DÍA	GLICEMIA mg/dL				N° GLICEMIAS EVALUADAS
		\bar{X}	D.S	MÍN. 95%	MÁX. 95%	
Control (N= 10)	0	264	7.09	250	278	30
	60	264	7.09	250	278	30
	120	265	7.09	251	279	30
	180	266	7.09	252	280	30
	240	268	7.09	254	282	30
Experimental (N= 10)	0	214	7.09	200	228	30
	60	207	7.09	193	221	30
	120	205	7.09	191	219	30
	180	185	7.09	171	199	30
	240	167	7.09	153	181	30

Los resultados de los tiempos de tratamientos a 0, 60, 120, 180 y 240 minutos con el infuso de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti” al grupo experimental, reveló que la eficacia óptima de la dosis de 200mg/Kg del producto biológico en la disminución de la concentración de glucosa se evidenció a los 180 minutos (185 mg/dL) y que ésta se prolongó

hasta los 240 minutos (167 mg/dL) en ratones *Mus musculus* cepa Balb/c con hiperglicemia inducidos con estreptozotocina. Sin embargo, de 0 – 120 minutos no existió una disminución significativa de los niveles de glucosa en los animales de experimentación reportándose a 0’: 214 mg/dL, 60’: 207 mg/dL, 120’: 205 mg/dL.

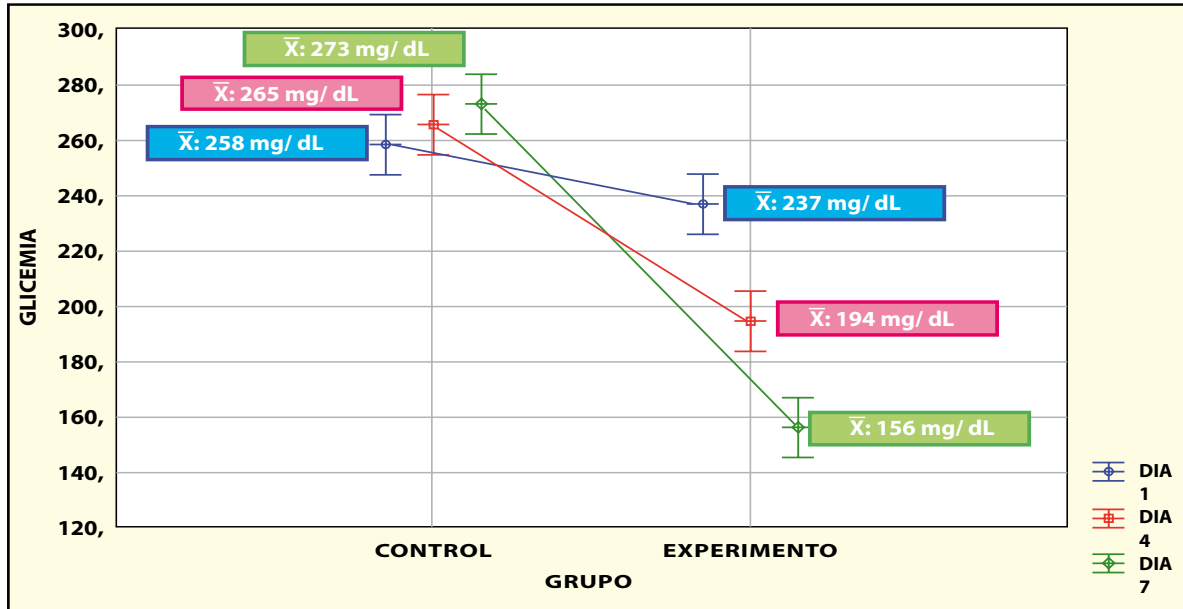


Figura 5. Glicemia en mg/dL en ratones *Mus musculus* cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina post - administración con solución salina fisiológica estéril e infuso de *Pellaea ternifolia* "cuti - cuti" según la interacción FACTOR A (grupos control y experimental) * FACTOR B (1, 4 y 7 días).

Discusión

En cuanto a la inducción con estreptozotocina a 50, 60 y 70 mg/ Kg realizada en el trabajo sobre ratones *Mus musculus* cepa Balb/c se evidenció el cuadro de hiperglicemia > 200 mg/dL después de aplicada la segunda dosis del agente diabetogénico mencionado. Asimismo, en trabajos anteriores realizados por **Rodrigo et al. (2011)** y **Navarro et al. (2004)** se establece un modelo de diabetes experimental a dosis de 40 mg/Kg en ratas albinas Holtzman con niveles de hiperglicemia > 124,2 mg/dL y a 45 mg/Kg en ratones C57BL/Ks con hiperglicemia > 155 mg/dL, respectivamente. Estos resultados afirman que el tratamiento aplicado con estreptozotocina fue efectivo para convertir a los animales hiperglicémicos, sin embargo, la presente investigación mostró una hiperglicemia más alta probablemente porque la dosis aplicada fue mayor.

En el estudio de **Rodrigo et al. (2011)**

reportaron que el 25% (n=6) de ratas machos albinas Holtzman, de 13 - 15 meses inducida con estreptozotocina, a dosis de 6g/día de harina de *Lepidium meyenii* Walp "maca amarilla" por un periodo de 46 días, causó una disminución de 37% de la glicemia al grupo III; esto difiere con lo obtenido en la presente investigación donde el 50% (n=10) de ratones machos *Mus musculus* cepa Balb/c, de 1 mes y medio inducida con estreptozotocina, a dosis de 0.2g/día del infuso *Pellaea ternifolia* "cuti - cuti" por un lapso de 7 días, evidenció una disminución del 38% de glucosa en el grupo experimental. La diferencia en la disminución del porcentaje de la glucosa posiblemente se debió a las características de los animales utilizados en la investigación presentando un alto índice de sensibilidad al producto biológico administrado. Asimismo, la presencia de flavonoides como rutina y quercetina de *Pellaea ternifolia* pudieron

contribuir a restablecer la secreción de la insulina generando así la disminución de la glucosa en menor tiempo.

En el estudio de **Castañeda et al. (2008)** observaron que la *Notholaena nivea* administrado en forma de atomizados y alcaloides en ratas albinas con diabetes aloxánica presenta un máximo efecto a

las 24 horas. En contraste, con la presente investigación que tuvo su máximo efecto a la tercera hora (180 minutos), lo que probablemente nos indica que ciertos constituyentes del helecho *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti” diferentes a los alcaloides, intervienen en el efecto hipoglucemiante al ser preparada en forma de infuso.

Tabla.5.

Administración de Estreptozotocina.

Autores	Muestra		Dosis	Valores de Glicemia
	Experimental	Inductor	Administrada	
	Ratones			
ENSAYO	<i>Mus musculus</i> cepa Balb/c		50, 60 y 70 mg/Kg	> 200 mg/dL
RODRIGO et al. (2011)	Ratas albinas Holtzman	Estreptozotocina	40 mg/Kg	>124,2 mg/dL
NAVARRO et al. (2004)	Ratones C57BL/Ks		45 mg/Kg	> 155 mg/dL

Discusión

En el presente estudio se concluye lo siguiente:

El infuso de *Pellaea ternifolia* “cuti – cuti” tiene efecto hipoglicemiante en *Mus musculus* (ratón) cepa Balb/c con hiperglicemia inducida con estreptozotocina,

siendo significativo a los 180 minutos y 240 minutos durante el cuarto y séptimo día de tratamiento; observándose el más alto efecto a las 3 horas de la administración alcanzando la glucemia valores de 185 mg/dL en el grupo experimental.

Referencias Bibliográficas

Ministerio de Salud del Perú (MINSA). (1998). Estrategias para el trabajo comunitario en salud integral. p.4-5.

García, F.; Solis, J.; Calderón, J.; Luque, E.; Neyra, L. y Col. (2007). Prevalencia de diabetes mellitus y factores de riesgo relacionados en una población urbana. Asociación Latinoamericana de Diabetes. Recuperado de <http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/spmi/v20n3/pdf/a02v20n3.pdf>.

Organización Mundial de la Salud (OMS). (1985). Informe sobre diabetes mellitus. OMS/FID – Ginebra; p. 7 - 10.

Macias, B. (2005). Evaluación del efecto hipoglucemiante de extractos de *Tecoma stans* (L.) H.B.K. y *Cecropia obtusifolia Bertol*, en ratas con diabetes mellitus inducida por estreptozotocina. (Tesis para optar título profesional]. Facultad de Ciencias, Universidad de Guadalajara.

Ramirez, P. (2007) Desarrollo de

- microalbuminuria en la diabetes experimental inducida por estreptozotocina. (Tesis para optar título profesional). Valdivia: Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile..
- Herrera, J. (2001). Diabetes Mellitus en Endocrinología. 1a ed. Madrid, España: Médica Panamericana;
- Castañeda, C.; Castro, R.; Manrique, R.; Ibañez, L.; Fujita, R.; Barnett E. Estudio fitoquímico y farmacológico de cuatro plantas con efecto hipoglicemante. Rev Horizonte Med. Recuperado de http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_I/Art1_Vol8_N1.pdf
- Rodrigo, M.; Valdivieso, R.; Suarez, S.; Oriundo, R.; Oré, R. (2011). Disminución del daño oxidativo y efecto hipoglicemante de la maca (*Lepidium meyenii Walp*) en ratas con diabetes inducida con estreptozotocina. An Fac Med Lima , 72(1): 7 – 11.
- Navarro, M.; Coussio, J.; Natiszyn, O.; Ferraro G. (2004). Efecto hipoglucemante del extracto acuoso de *Phyllanthus sellowianus* ("sarandí blanco") en ratones C57BL/Ks. Acta Farm. Bonaerense.23(4): 520 – 523.
- Benites, H.; Romero, A. (2011). Efecto del decocto de *Notholaena nivea* "cuti - cuti" sobre la glucemia en *Rattus rattus* variedad *albinus* con diabetes inducida. (Tesis para optar título profesional). Trujillo: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad César Vallejo.
- Castañeda, B.; Manrique, M.; Ibañez, V. (2004). Efecto hipoglicemante y sobre la lipidemia de *Notholaena nivea* "Cuti - cuti". Rev. Horiz. Med.; 4(1). 1 – 42.
- Hnatyszyn, O.; Miño, J.; Gorzalczany, S.; Ferraro, G.; Coussio, J.; Acevedo, C. (1998). Efecto antidiabético y toxicidad aguda del extracto acuoso del *Phyllanthus sellowianus Müller Arg.* Rev. Domingueza. 14(1): 13 – 18.
- Gonzales, M. (2006). Influencia de la diabetes experimental sobre la reactividad de las arterias basilar, carótida y renal de conejo a la endotelina-1. (Tesis doctoral). Valencia: Servicio de Publicaciones del departamento de Fisiología, Universidad de Valencia;
- Ibañez, V.; Cáceres, M.L. (2002). Estudio comparativo de *Geranium Lechleri* "Pasuchaca" y *Notholaena nivea* "cuti-cuti" en ratas diabéticas. Facultad de Medicina. Universidad San Martín de Porras. Resúmenes del IV Congreso Mundial de Medicina Tradicional Andina. Lima - Perú; p. 34.
- Llana, L.; Huamán, (2009), E. Efecto hipoglicemante y antihiperglicemante del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Abuta grandifolia* "abuta" en *Rattus rattus* con diabetes inducida. (Tesis para optar título profesional). Chimbote: Facultad de Ciencias de la salud, Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.
- Aguilar, G. (2001). Determinación de la actividad hipoglucemante de *Phoradendron tormentosum* (DC) Engelm, sobre un modelo de ratas diabéticas de experimentación. [Tesis de maestría]. Monterrey: Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de

- Nuevo León.
- Gutierrez, M.; Alva, S. (2006), Fitoconstituyentes de las hojas de *Psoralea glandulosa* y efecto del infuso sobre la glicemia en *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglicemia experimental. *Rev. Med. Vallejana*; 3(2): 85 -90.
- Tasayco, N.J. (2007). Actividad hipoglucemiante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en ratas con diabetes tipo 1 y 2. (Tesis de maestría). Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Palomino, C. (2007), Efecto del extracto etanólico de hojas *Annona muricata* L. (guanábana) sobre la hiperglicemia inducida con aloxano en ratas. (Tesis de maestría). Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Rosero, M. Efecto (2010). hipoglucemiante del extracto acuoso de canela (*Cinnamomum zeylanicum*), en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglicemia inducida. [Tesis para optar título profesional]. Riobamba: Facultad de Ciencias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Solgorré, E. (2005). Efecto del extracto hidroalcohólico de hojas y flores de *Otholobium pubescens* en la hiperglicemia experimental en *Rattus norvegicus* var. *Albinus*. (Tesis de maestría). Lima: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Perez, R.; Perez, C.; Zavala, M.; Perez, S. (1998). Actividad hipoglucemiante de *Bouvardia terniflora*, *Brickellia veronicaefolia* y *Parmentiera edulis*. *Rev. Salud Pública de México*. 40(4): 354 - 358.
- Wonghuig, A. (2008). Determinación del efecto hipoglucemiante del extracto acuoso de *Taraxacum officinalis* Weber. “Diente de León” en Unidades Biológicas. (Tesis de maestría). Huancayo: Universidad Peruana Los Andes.
- Deas, R.; Seuc, J.; Gonzales, S. (1997). Estudio del efecto hipoglicemiante del *Ocimum sanctus* L. (albahaca morada) con el uso de un ensayo biológico en ratones. *Rev. Cubana de Plant Med*; (1): 15-18.
- Perz, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Rev. Cubana Invest Biomed*. 22(1): 48-57.
- Vilcapoma, G. (2008). Plantas Medicinales. En: cátedra de Botánica Económica. Lima; UNALM.
- MArtinez, S.; Gonzales, J.; Culebras, J.; Tuñon, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp*. 17(6): 271- 278.
- Xorge, A. (1993), Métodos de Investigación fitoquímica. 1a ed. México: LIMUSA.
- Ramos, H.; Domingo, J. (1994). Diabetes mellitus experimental. *Ciencia Vet (Méx)*. 6(1): 347 – 377.
- Centro Nacional de Productos Biológicos. (2008). Guía de Manejo y Cuidado de Animales de Laboratorio: Ratón. INS -Lima; 8 - 42.
- Villar, A.; Mendocilla, M. (2001). Manual de fitoterapia. Lima: Es Salud – OPS; 2001: 65 – 74.