

Efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (Angulla) en ratas.

Hypoglycaemic effect of the ethanolic extract of the leaves of *Sida rhombifolia* L. (Angulla) in rats.

Efeito hipoglicemiante do extrato etanólico das folhas de *Sida rhombifolia* L. (Angulla) em ratos.

Cesia Vanesa Castillo Ramos¹, César Braulio Cisneros Hilario²

Resumen

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la eficacia del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) sobre el nivel de glicemia en ratas normales. La investigación fue básica, analítica y experimental, para lo cual la muestra vegetal fue recolectada de la Provincia de San Marcos, Departamento de Cajamarca, y se utilizaron 48 ratas cepa Holtzman que fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud, las ratas fueron divididas en seis grupos de 8 ratas cada grupo, el primero recibió SSF 2 mL/kg, el 2° glibenclamida 5 mg/kg, el 3° Insulina 4 UI/Kg y los grupos 4°, 5° y 6° recibieron extracto en dosis de 50, 250 y 500 mg/kg respectivamente, todos los grupos recibieron glucosa 500 mg/kg por vía oral antes de aplicar los tratamientos, utilizándose el método del test de Tolerancia a la glucosa, según Du Vigneaud y Karr, 1925; Arroyo y Cisneros, 2012, el parámetro evaluado fue concentración de glucosa en sangre a los 0, 60 y 120 minutos, la sangre se obtuvo del apice de la cola y se utilizó un glucómetro digital ONE TOUCH ULTRA. Los datos se evaluaron mediante técnicas multivariadas ($p < 0,05$). El extracto de *Sida rhombifolia* L. (angulla) mantiene la glicemia dentro de los parámetros aceptables en ratas normales; al aplicar el test de tolerancia oral a la glucosa, el extracto disminuyó la glicemia en mayor porcentaje (6.38%; $p < 0,05$) a dosis de 500 mg/kg. Se concluye que el extracto de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) disminuye los niveles de glicemia en ratas normales.

Palabras clave: hipoglucemiante, *Sida rhombifolia* L., angulla, test de tolerancia oral a la glucosa.

Abstract

The objective of the present investigation was to evaluate the efficacy of the ethanolic extract of the leaves of *Sida rhombifolia* L. (angulla) on the level of glycemia in normal rats. The research was basic, analytical and experimental, for which the plant sample was collected from the Province of San Marcos, Department of Cajamarca, and 48 Holtzman strain rats were used that were acquired from the National Institute of Health, the rats were divided into six groups of 8 rats each group, the first received SSF 2 mL / kg, the 2nd glibenclamide 05 mg / kg, the 3rd Insulin 4 IU / kg and the groups 4, 5 and 6 received extract in doses of 50 , 250 and 500 mg / kg respectively, all groups received glucose 500 mg / kg orally before applying the treatments according to the glucose tolerance test method, according to Du Vigneaud and Karr, 1925; Arroyo and Cisneros, 2012, the parameter evaluated was blood glucose concentration at 0, 60 and 120 minutes, blood was obtained from the apex of the tail and a ONE TOUCH ULTRA digital glucometer will be used. The data were evaluated by multivariate techniques ($p < 0.05$). The extract of *Sida rhombifolia* L. (angulla) maintains the glycemia within acceptable parameters in normal rats; When the oral glucose tolerance test was applied, the extract decreased the glycemia in a higher percentage (6.38%, $p < 0.05$) at a dose of 500 mg/kg. It is concluded that the extract of the leaves of *Sida rhombifolia* L. (angulla) decreases the levels of glycemia in normal rats.

Key words: hypoglycemic, *Sida rhombifolia* L., angulla, oral glucose tolerance test.

¹ Facultad de Medicina Humana. Universidad San Pedro. Chimbote – Perú. gracy_16@hotmail.com

² Instituto Peruano de Investigación en Ciencias de la Salud - IPICS, Chimbote – Perú.

Recibido el 30 de abril del 2018
Aceptado el 16 de junio del 2018

Resumo

O objetivo do presente traballo foi avaliar a eficacia do extracto etanólico das folhas de *Sida rhombifolia* L. (angula) sobre o nivel de glicemia en ratos normais. A pesquisa foi básica, analítica e experimental, para a qual a amostra da planta foi coleccionada a partir da provincia de San Marcos, do Departamento de Cajamarca, e 48 ratos da linhagem Holtzman que foram adquiridas dos Institutos Nacionais de Saúde, foram usados. Os ratos foram divididos en seis grupos de 8 ratos cada grupo, o primeiro SSF recebeu 2 ml / kg, 2 glibenclamida 5 mg / kg, 3 insulina 4 UI / kg e os grupos 4, 5 e 6 extracto recibieron en doses de 50, 250 e 500 mg / kg respectivamente, todos os grupos receberam glicose 500 mg / kg por via oral antes da aplicacão dos tratamentos, usando o método de teste de tolerância à glicose, de acordo com Du Vigneaud e Karr, 1925; Arroyo e Cisneros (2017). O sangue foi coleccionado a partir da ponta da cauda e foi utilizado un glicosímetro digital ONE TOUCH ULTRA. Os dados foram avaliados por técnicas multivariadas ($p < 0,05$). O extracto de *Sida rhombifolia* L. (angula) mantém a glicemia dentro de parâmetros aceitáveis em ratos normais; Quando o teste oral de tolerância à glicose foi aplicado, o extracto reduziu a glicemia em maior porcentagem (6,38%, $p < 0,05$) na dose de 500 mg / kg. Conclui-se que o extracto das folhas de *Sida rhombifolia* L. (angula) diminui os níveis de glicemia em ratos normais.

Palavras-chave: hipoglicemia, *Sida rhombifolia* L., angula, teste oral de tolerância à glicose.

Introducción

La diabetes mellitus describe un desorden metabólico de etiología múltiple caracterizada por la hiperglucemia crónica con alteraciones del metabolismo de carbohidratos, grasa y de proteínas, como resultado de defectos en la secreción de insulina, la acción de la insulina o ambas cosas (Unwin, 1998).

En muchos países en desarrollo, los medios de diagnóstico puede ser insuficientes, los centros de atención primaria de salud carecen de los servicios básicos de diagnóstico para detectar y clasificar a las personas que viven con diabetes o con riesgo de desarrollarla. Por esta razón, los profesionales de la salud recurren a métodos tradicionales relacionados con la presencia de signos físicos, psicológicos y sociales y los síntomas predominantes en el momento del diagnóstico (Awah, 2006).

La Diabetes Mellitus, especialmente la diabetes tipo 2 es un problema creciente de salud en África. La diabetes tiene una tasa de prevalencia ajustada por edad de entre 1-10% en las zonas rurales y urbanas (Yusuf, 2001; Dzudie, 2008). La Organización Mundial de la Salud estima que en 2000 había 7,1 millones de personas con diabetes en el África subsahariana, y que para el año 2030 la cifra habrá aumentado a 18,6 millones de dólares. La prevalencia global de la diabetes en las comunidades tradicionales africanas rurales es inferior al 1%, pero se eleva hasta alcanzar el 20% en algunos subgrupos de adultos mayores de 20 años en algunas ciudades africanas (Unwin, 1998; Tunstall, 2005). En Camerún y Tanzania, la tasa es del 5% (Aspray, 2000; Shu JA, et al., 2004).

En la actualidad, la búsqueda de alternativas terapéuticas dentro de los productos naturales para aliviar o curar sus dolencias o afecciones se ha intensificado. La obtención de nuevos fármacos a partir de la biodiversidad es uno de los ejercicios científicos más importantes, tomando en consideración la potencialidad de encontrar en la biodiversidad nuevas estructuras que puedan constituirse en cabezas de serie, y debido a la creciente tendencia de la población a consumir productos fitoterapéuticos. Este tipo de investigaciones presenta un reto de grandes proporciones, puesto que la utilización de estos productos no sólo debe estar basada en el conocimiento o la sabiduría popular, sino que se debe garantizar su uso seguro, ya que es frecuente relacionar la palabra natural con inocuo, y desconocer las posibles reacciones adversas que estos productos pueden presentar. *Sida rhombifolia* L. (escobilla, escoba negra) pertenece a la familia Malvaceae

y es utilizada por las comunidades de la Sierra Nevada de Santa Marta (Colombia) para el tratamiento del mal de orín y riñones, enfermedades de la piel, hemorragias, dolor de dientes, diarrea, gastritis y como analgésico para controlar la fiebre (Coelho de Souza, 2004; Harsha, 2003; Barros, 2000). Algunos de los metabolitos secundarios que han sido aislados de *Sida rhombifolia* L. son: pseudoefedrina, beta-feniletilamina, efedrina, vascina y vascinol. Adicionalmente, se han reportado betasitosterol y otros compuestos derivados de colina. En el tallo se ha informado la presencia de hipaforina y alcaloides indólicos (Duke, 1999; Dinan, 2001).

En el mundo hay 490,100 menores de 14 años con Diabetes tipo 1 y cada año se diagnostican 77,800 casos nuevos. La Diabetes tipo 1, una de las enfermedades crónicas más comunes en la infancia ha ido aumentando en número. Años atrás, la mayoría de los niños se diagnosticaban con Diabetes tipo 1, en tanto la Diabetes Mellitus tipo 2, prevalecía en adultos y ancianos, sin embargo en los últimos 10-20 años se ha observado un alarmante incremento en la prevalencia de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) en los centros de Diabetes pediátricos de todo el mundo (Bron, 2010).

La Diabetes Mellitus tipo 2, recientemente era considerada una enfermedad rara en la infancia y adolescencia. En las últimas décadas, es perceptible el aumento de su incidencia en esa población y en países industrializados presentándose con características similares a las del adulto. El aumento de casos nuevos de Diabetes tipo 2 en la infancia y adolescencia, es consecuencia de la obesidad y sedentarismo en crecimiento (Macedo, 2010).

La Iniciativa Centroamericana de Diabetes, en su encuesta realizada sobre Diabetes en Managua en 2010, reporta que la prevalencia total de Diabetes en jóvenes de 20 años a más es de 9%, de los cuales el 5,1% de los encuestados tenían Diabetes conocida y 3,9% fueron casos nuevos (Joaquín, 2013).

Por todas estas razones nos planteamos el problema si: ¿El extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) tendrá efecto hipoglucemiante al administrarlo por vía oral en ratas según el modelo de test de tolerancia oral a la glucosa?, siendo nuestra hipótesis que el extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) al ser administrado por vía oral posee efecto hipoglucemiante en ratas. Así mismo nos planteamos como objetivo general: Determinar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) en ratas y los específicos: Obtener el extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla), realizar el estudio fitoquímico preliminar al extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) y evaluar el efecto hipoglicemiante del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) en ratas, según el test de tolerancia oral a la glucosa.

Material y Métodos

El diseño del estudio es de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico *in vivo*. La población, estuvo conformada por ratas albinas Cepa Holtzman, adquiridos del biotério del Instituto Nacional de Salud - INS Lima-Chorrillos y la muestra por 48 Ratas albinas machos Cepa Holtzman, de peso 180 ± 20 gramos, adquiridos del biotério del Instituto Nacional de Salud - INS Lima - Chorrillos. Las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) fueron recolectadas en la Provincia de San Marcos del departamento de Cajamarca – Perú.

Para la preparación del extracto etanólico de *Sida rhombifolia* L. las hojas fueron seleccionadas y lavadas, posteriormente se les sometió a deshidratación, a 40 °C en un horno con aire circulante, luego el material seco, fue triturado en un molino eléctrico de cuchillas, hasta obtener un polvo fino, y se llevó a maceración con etanol a temperatura ambiente. Luego de 7 días se filtró y dicho

filtrado se desecó a 40°C en estufa hasta peso constante. El residuo seco, fue denominado extracto etanólico, el cuál se conservó en un frasco de color ámbar a 4°C, luego éste residuo sirvió para realizar el estudio fitoquímico y ensayo farmacológico, previa reconstitución con agua destilada, utilizando como agente tensoactivo polisorbato de sodio 80° al 3% del volumen de la solución a preparar. (CYTED, 1995).

El estudio fitoquímico del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. se realizó en los ambientes de laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le aplicaron, las reacciones de Gelatina, tricloruro férrico, Dragendorff, Molisch, NaOH 10%, Vainillin sulfúrico, Liebermann, Shinoda y Ninhidrina, Para determinar cualitativamente la presencia y cantidad de metabolitos secundarios presentes en el extracto, utilizando la siguiente codificación: Ausencia (-), Poca cantidad (+), Regular Cantidad (++) , Abundante cantidad (+++) (Lock de Ugaz, 1994).

Para la evaluación del efecto sobre el nivel de glucemia en ratas normales se utilizaron un total de 48 ratas albinas cepa Holtzman machos, que fueron adquiridas del Instituto Nacional de Salud, con un peso promedio de 180 ± 20 gramos de peso corporal; las que fueron acondicionadas en el Laboratorio de la Facultad de Medicina de la Universidad San Pedro por 48 horas, con agua y alimento a libertad; con ciclo de luz oscuridad de 12 horas. La experimentación consistió en determinar el efecto de la planta en ratas normales con carga de glucosa administrada vía oral (Test de Tolerancia a la glucosa) Según Du Vigneaud y Karr, 1925; Arroyo y Cisneros, 2012. Aleatoriamente se formaron seis grupos de ocho ratas cada grupo el primero recibió SSF 2 mL/kg, el 2° glibenclamida 5 mg/kg, el 3° Insulina 4 UI/Kg y los grupos 4°, 5° y 6° recibieron extracto en dosis de 50, 250 y 500 mg/kg respectivamente, todos los grupos recibieron glucosa 500 mg/kg por vía oral antes de aplicar los tratamientos, el parámetro evaluado fue la concentración de glucosa en sangre a los 0, 60 y 120 minutos, la sangre se obtuvo del apice de la cola y se utilizará un glucómetro digital ONE TOUCH ULTRA. (Du Vigneaud y Karr, 1925; Arroyo y Cisneros, 2012).

El análisis estadístico de los datos obtenidos se evaluó con el software estadístico SPSS. Las variables numéricas se describieron con medidas de tendencia central y de dispersión, media y desviación estándar, respectivamente. Posteriormente se efectuó un análisis de varianza (ANOVA), y múltiples comparaciones de Duncan con una significativa $p < 0,05$

Resultados

Tabla N° 1. Marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L.

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Gelatina	Taninos	+
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	+++
Dragendorff	Alcaloides	-
Mayer	Alcaloides	+
Hidróxido de sodio	Quinonas	+
Alfa naftol	Glicósidos	-
Liebermann	Esteroides y triterpenos	+
Shinoda	Flavonoides	+++
Ninhidrina	Aminoácidos libres	-

Leyenda: (+++) = *Abundante cantidad*; (++)=*Regular cantidad o positivo*, (+)= *Poca cantidad o trazas*; (-)=*Ausencia*.

Tabla N° 2. Valor medio del porcentaje de glucosa del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. en ratas

Tratamientos	Valores de glucosa mg/dL		
	0 min	60 min	120 min
Suero fisiológico 2 mL/Kg	96.38	127.63	119.38
Glibenclamida 5 mg/Kg	100.50	86.13	52.88
Insulina 4 UI/Kg	91.75	60.63	59.13
<i>Sida</i> 50 mg/Kg	89.88	99.38	95.00
<i>Sida</i> 250 mg/Kg	97.50	105.88	94.75
<i>Sida</i> 500 mg/Kg	99.88	99.13	90.88

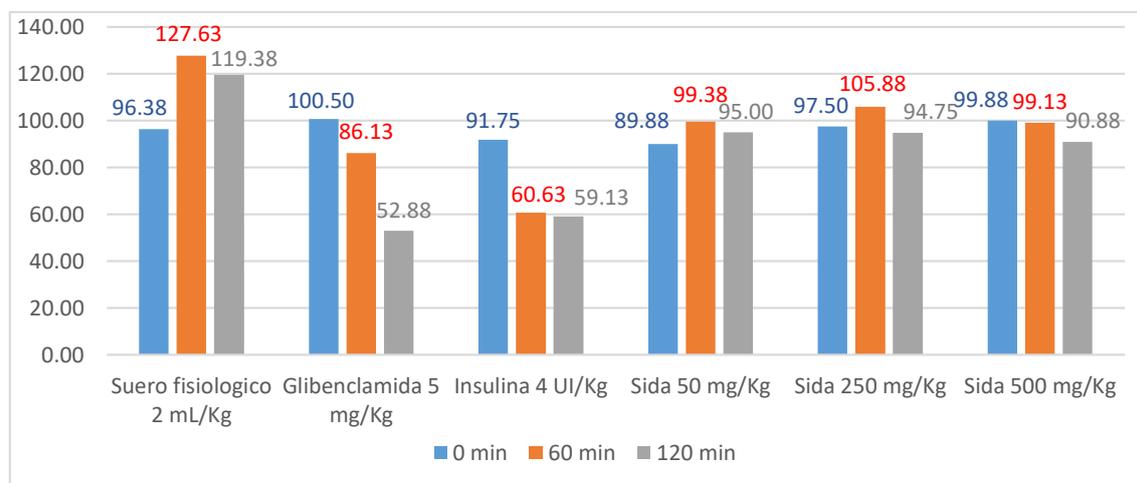


Figura N° 1. Valores medios de los niveles de glucosa al evaluar el efecto hipoglucemiante de glucosa del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. en ratas.

Tabla N° 3. Porcentaje de inhibición de los tratamientos al evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. en ratas

Tratamientos	Porcentajes de inhibición de tratamientos		
	0 min	60 min	120 min
Suero fisiológico 2 mL/Kg	0	0	0
Glibenclamida 5 mg/Kg	-4.28	32.52	55.71
Insulina 4 UI/Kg	8.71	29.61	-11.82
<i>Sida</i> 50 mg/Kg	2.04	-63.92	-60.68
<i>Sida</i> 250 mg/Kg	-8.48	-6.54	0.26
<i>Sida</i> 500 mg/Kg	-2.44	6.38	4.09

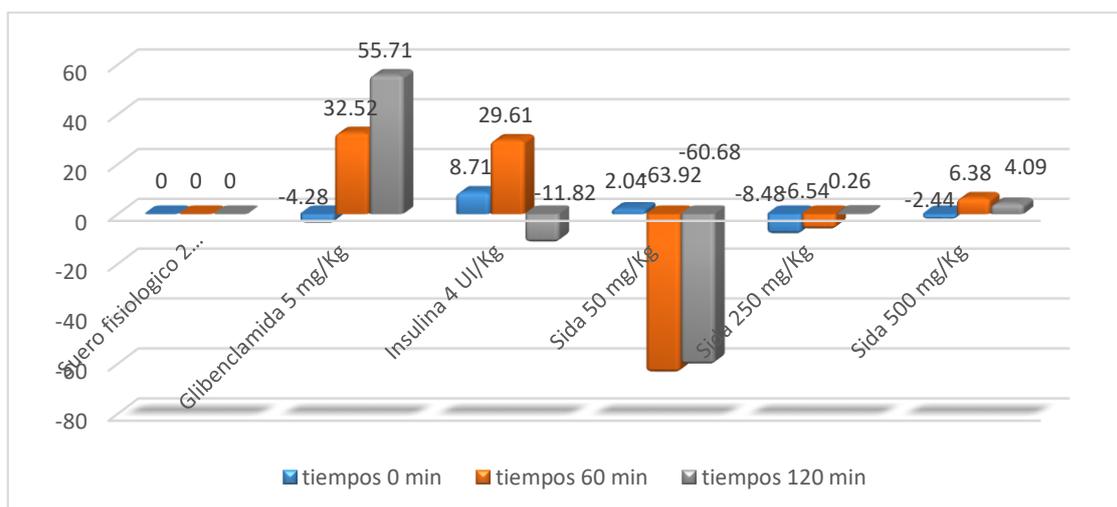


Figura 2. Porcentaje de inhibición de los tratamientos al evaluar el efecto hipoglucemiante del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. en ratas

Discusión

La diabetes mellitus es uno de los más graves problemas de salud en el Perú, por tanto, es indispensable diagnosticar y establece medidas para prevenirla. Muchos estudios han demostrado que implementando cambios de estilo de vida es posible retrasar la aparición de esta enfermedad (Marcillas, 2008).

El estudio fitoquímico del extracto de la hoja de *Sida rhombifolia* L. evidencia la presencia de los metabolitos compuestos fenólicos y flavonoides en mayor cantidad (+++), y taninos, quinónas, alcaloides y esteroides triterpénicos en poca cantidad (++) . Los efectos observados podrían estar relacionados con la presencia de compuestos fenólicos y flavonoides (rutina, isoquercitrina) (Hnatyszyn, 2002) (Tabla 1). Lo que se corrobora con el estudio de Navarro del 2004 con el extracto de *Phyllanthu. Sellowianus*.

Según la tabla N° 1 se observa que para el grupo control (SSF 2 mL/Kg), los valores promedios de los niveles al inicio fue de 96.38 mg/dL, alcanzando su valor máximo 127.63 mg/dL a los 60 minutos y disminuyendo sus valores a las 120 minutos (119.38 mg/dL); al comparar los valores alcanzados con los extractos de Sida a dosis de 50 mg/Kg se evidencia valores menores al control en los tiempos 0 minutos (89.88 mg/dL), 60 minutos (99.38 mg/dL) y 120 minutos (95 mg/dL). También es menor a dosis de 250 mg/Kg se evidencia valores menores al control en los tiempos 0 minutos (97.50 mg/dL), 60 minutos (105.88 mg/dL) y 120 minutos (94.75 mg/dL). Así mismo para dosis de 500 mg/Kg se evidencia valores menores al control en los tiempos 0 minutos (99.88 mg/dL), 60 minutos (99.13 mg/dL) y 120 minutos (90.88 mg/dL) (Tabla 2). Todos los valores encontrados con los tratamientos de extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. se encuentran dentro de los parámetros normales de concentración de glucosa en sangre, según el test de tolerancia.

Los valores promedios obtenidos con los estándares farmacológicos como glibenclamida 5 mg/Kg se evidencia valores menores al control en los tiempos 0 minutos (100.50 mg/dL), 60 minutos (86.13 mg/dL) y 120 minutos (52.88 mg/dL) y con Insulina 4 UI/Kg se evidencia valores menores al control en los tiempos 0 minutos (91.75 mg/dL), 60 minutos (60.63 mg/dL) y 120 minutos (59.13 mg/dL), se evidenció valores inferiores a

los 120 minutos, dando un efecto hipoglicémico muy por debajo de los valores normales según el test de tolerancia oral a la glucosa (Tabla N° 2).

Es posible explicar la normalización postprandial de la glucemia inducida por el extracto mediante el así llamado efecto “insulin-like” observado con ciertos flavonoides (Rizvi, 2001). La prevención de la diabetes, finalmente, puede estar relacionada con la capacidad de los flavonoides de disminuir el estrés oxidativo durante el proceso de lipoxidación por radicales libres (Yokosawa. 2002). Existen, además, estudios clínicos que implican a los flavonoides en la prevención de la diabetes aludiendo a sus propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas, antioxidantes y anticancerígenas (Knekt, 2002; Waltner, 2001). Sin embargo, queda por comprobarse si otros constituyentes, presentes en el extracto, pueden estar involucrados en los efectos observados.

El presente trabajo aporta evidencias sobre el efecto preventivo del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. a dosis de 500 mg/kg en ratas normales mantiene la glicemia dentro de los parámetros normales y con sobrecarga (test de tolerancia oral a la glucosa), se demuestra su eficacia al disminuir la glicemia en mayor porcentaje (6.38%; $p < 0.05$) a dosis de 500 mg/kg después de una hora de administración (Tabla N° 3).

Los resultados obtenidos permiten certificar y avalar el uso etnomédico de este producto natural frente al desencadenamiento de la patología diabética, además de ser una fuentes terapéuticas del reino vegetal constituye una alternativa viable, ya que es un recurso natural abundante en la sierra del Perú.

Conclusiones

Se obtuvo el extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla).

Se realizó la marcha fitoquímica del extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla).L., permitiendo identificar los principales metabolitos flavonoides y compuestos fenólicos

El extracto etanólico de las hojas de *Sida rhombifolia* L. (angulla) presenta mayor actividad antiinflamatoria en la dosis de 500 mg/kg, y con un mayor porcentaje de inhibición a los 60 minutos (6.38), actividad atribuida a su contenido de flavonoides y compuestos fenólicos.

Referencias bibliográficas

- Arroyo, J., Cisneros, B. (2012). Modelos Experimentales de Investigación Farmacológica. Primera Edición, Editorial Asdimor, Lima-Perú, 121-3.
- Aspray, T. J., Mugusi, F., Rashid, S., Whiting, D., Edwards, R., Alberti, K. G., Unwin, N. C. (2000). Essential Non-Communicable Disease Health Intervention Project: Rural and urban differences in diabetes prevalence in Tanzania: the role of obesity, physical inactivity and urban living. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 94(6), 637-44.
- Awah, P. (2006). *Treating diabetes in Cameroon: a comparative study in medical anthropology*. In School of Population and Health Sciences, Faculty of Medical Sciences. *Newcastle University: Newcastle upon Tyne, UK*, 289.

- Barros, E. (2000). *Etnobotánica de la Sierra Nevada de Santa Marta. Plantas medicinales de los Arhuacos*. 1 edición, Editorial Beca de Investigación Cultural 1999, Fomcuartes, Santa Marta, pp. 11-72.
- Coelho de Souza, G.; Haas, A. P. S., von Poser, G. L.; Schapoval, E. E. S.; Elisabetsky, E. (2004). Ethnopharmacological studies of antimicrobial remedies in the south of Brazil. *Journal of Ethnopharmacology* 90: 135-143
- Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. New York: *The New York Botanical Garden*, 555.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. *Manual de técnicas de investigación*, 220.
- Dinan, L.; Bourne, P.; Whiting, P. 2001. Phytoecdysteroid profiles in seeds of *Sida* spp. (Malvaceae). *Phytochemical Analysis* March/April, 12(2):110-119.
- Duke, J. (1999). Chemicals and their biological activities in *Sida rhombifolia* L. (Malvaceae) Broomweed, Tea plant. Agricultural Research Service (ARS), United States. Department of Agriculture. Database available from: <http://www.ars-grin.gov/duke/>
- Du Vigneaud, V., Karr, W. G. (1925). Carbohydrate utilization. Rate of disappearance of D-glucose from the blood. *J Biol Chem*, 66, 281-300.
- Dzudie, A., Kengne, A. P., Mbahe, S., Menanga, A., Kenfack, M., Kingue, S. (2008). Chronic heart failure, selected risk factors and comorbidities among adults treated for hypertension in a cardiac referral hospital in Cameroon. *Eur J Heart Fail*, 10(4), 367-72.
- Lock de Ugaz, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos de estudios de productos naturales*. 2º Edición. Lima: Fondo Editorial PUCP.
- Marcillas, g., Gómez, f., Rodrigo, J. (2008). Diagnóstico y clasificación de la diabetes mellitus conceptos actuales. *Rev. Endocrinología*, 10(2), 63-68.
- Macedo, S. F., Moura, M. F., Bandeira, N. P., Soares, A. C., Freire, R. W., Coelho, M. M. (2010). Factores de Riesgo Para Diabetes Mellitus Tipo 2 en Niños. *Revista Latinoamericana Scielo*, 18(5):1-3. Recuperado de http://www.scielo.br/pdf/rlae/v18n5/es_14.
- Rodriguez L, G. (2003). Insulinoterapia. *Rev. Med. Herd*. 2003; 14(3):140-144.
- Shu JA, et al., (2004). Applying the WHO STEPS approach in a resource-limited country: the Cameroon Burden of Diabetes Study. *Diabetologia*.
- Unwin, N., Alberti, G., Aspray, T., Edwards, R., Mbanya, J. C., Sobngwi, E., Mugusi, F., Rashi, S., Setel, P., Whiting, D. (1998). Economic globalisation and its effect on health. Some diseases could be eradicated for the cost of a couple of fighter planes. *Bmj*, 316(7142), 1401-2.
- Yusuf, S., Reddy, S., Ounpuu, S., Anand, S. (2001). Global burden of cardiovascular diseases: Part II: variations in cardiovascular disease by specific ethnic groups and geographic regions and prevention strategies. *Circulation*, 104(23), 2855-64.