

## ESTUDIO COMPARATIVO DE LA TERAPIA DE METFORMINA SOLA Y METFORMINA COMBINADA CON TERAPIA DE TINTURA DE NOTHOLAENA NIVEA EN PACIENTES CON DIABETES TIPO 2

*Comparative study of metformin therapy alone and metformin combined with notholaena nivea tincture therapy in patients with type 2 diabetes*

<https://doi.org/10.47606/ACVEN/MV0104>

Armida Concepción Rojas Dávila1\*  
<https://orcid.org/0000-00002-1819-1664>  
[army\\_rojas@hotmail.com](mailto:army_rojas@hotmail.com)

Soledad Victoria Casallo Véliz1  
<https://orcid.org/0000-0001-5327-2788>  
[gladuncp@hotmail.com](mailto:gladuncp@hotmail.com)

Carlos Alberto, Izaguirre Rojas3  
<https://orcid.org/0000-0002-6732-9404>  
[carlos.izaguirre.r@upch.pe](mailto:carlos.izaguirre.r@upch.pe)

Dominga Gladys, Zúñiga López1  
<https://orcid.org/0000-0001-5150-1356>  
[scasallo@uncp.edu.pe](mailto:scasallo@uncp.edu.pe)

Virginia Eudocia Ortega Zenteno2  
<https://orcid.org/0000-0002-8022-2011>  
[ortega.virginia51@gmail.com](mailto:ortega.virginia51@gmail.com)

Recibido: 5/10/2021

Aceptado: 26/2/2022

### RESUMEN

**Introducción:** La diabetes tipo 2 es un trastorno metabólico progresivo complejo, que representa una amenaza significativa para la salud humana y representa más del 91% de todos los casos de diabetes. **Objetivo:** evaluar el efecto de la adición de tintura de *Notholaena nivea* al tratamiento con metformina en pacientes con tolerancia alterada a la glucosa (IGT) y diabetes de tipo 2 (DMT2). **Materiales y Método:** Ensayo clínico unicentral, aleatorizado, simple ciego, controlado con placebo. Todos los participantes con diagnóstico de IGT y DMT2 que tomaban metformina fueron asignados aleatoriamente a recibir kits con tintura de *Notholaena nivea* auténtica (40 pacientes) o placebo (58 pacientes), fijando 6 gotas diarias, 30 minutos antes del desayuno y almuerzo durante 26 semanas, se hicieron 3 controles (0, 13 y 26 semanas) midiendo glucosa plasmática en ayunas (FPG), nivel de hemoglobina glucosilada (HbA1C) y perfil lipídico. **Resultados:** del grupo de tratamiento (tintura de *Notholaena nivea* más metformina) fueron significativamente eficientes a las 13 semanas de iniciado el ensayo, manteniendo la directriz de reducción de glucosa plasmática (FPG), al iniciar el estudio el grupo control y tratamiento obtuvieron niveles de FPG similares con valores de  $.57 \pm 1.7$  y  $7.84 \pm 1.9$  mmol/l respectivamente ( $p > 0.05$ ), a las 13 semanas se redujo a  $7.21 \pm 1.1$  mmol/l para el grupo control y  $6.49 \pm 2.33$  mmol/l para el grupo tratamiento ( $p < 0.01$ ), mientras que a la semana 26 el grupo control reportó  $7.09 \pm 1.41$  mmol/l en tanto el grupo tratamiento obtuvo  $5.98 \pm 0.71$  mmol/l ( $p < 0.01$ ). Hubo reducción de los niveles de HbA1C dentro de los grupos, pero no se evidenciaron diferencias por efecto del tratamiento. En el perfil lipídico el tratamiento de Metformina sola evidenció una mejor respuesta con la reducción de colesterol total y aumento de lipoproteínas de alta densidad (HDL) pero aumento la concentración de triglicéridos, mientras que el tratamiento con tintura de *Notholaena nivea* mantuvo los perfiles lipídicos al igual que en un inicio ( $p > 0.05$ ). **Conclusiones:** el tratamiento combinado de metformina más tintura de *Notholaena nivea* reduce acelerada y eficazmente las concentraciones de FPG en sangre de pacientes con IGT o DMT2, pero es ineficaz en el tratamiento del perfil lipídico.

**Palabras clave:** Diabetes tipo 2, *Notholaena nivea*, FPG, metformina lipidos

1. Universidad Nacional del Centro del Perú
  2. Seguro Social De Salud – ESSALUD- Perú
  3. Universidad Peruana Cayetano Heredia- Perú
- \* Autor de correspondencia: [army\\_rojas@hotmail.com](mailto:army_rojas@hotmail.com)

## SUMMARY

**Introduction:** Type 2 diabetes is a complex progressive metabolic disorder, which represents a significant threat to human health and accounts for more than 91% of all diabetes cases. **Objective:** to evaluate the effect of adding *Notholaena nivea* tincture to metformin treatment in patients with impaired glucose tolerance (IGT) and type 2 diabetes (DMT2). **Materials and Method:** Unicentral, randomized, single-blind, placebo-controlled clinical trial. All participants diagnosed with IGT and T2DM who were taking metformin were randomly assigned to receive authentic *Notholaena nivea* tincture kits (40 patients) or placebo (58 patients), setting 6 drops daily, 30 minutes before breakfast and lunch for 26 weeks. , 3 controls were made (0, 13 and 26 weeks) measuring fasting plasma glucose (FPG), glycosylated hemoglobin level (HbA1C) and lipid profile. **Results:** the treatment group (*Notholaena nivea* tincture plus metformin) were significantly efficient at 13 weeks from the start of the trial, maintaining the plasma glucose reduction guideline (FPG), at the start of the study the control and treatment groups obtained levels of Similar FPG with values of  $.57\pm 1.7$  and  $7.84\pm 1.9$  mmol/l respectively ( $p>0.05$ ), at 13 weeks it was reduced to  $7.21\pm 1$  mmol/l for the control group and  $6.49\pm 2.33$  mmol/l for the treatment group ( $p<0.01$ ), while at week 26 the control group reported  $7.09\pm 1.41$  mmol/l while the treatment group obtained  $5.98\pm 0.71$  mmol/l ( $p<0.01$ ). There was a reduction in HbA1C levels within the groups, but no differences due to treatment effect were observed. In the lipid profile, the treatment with Metformin alone showed a better response with the reduction of total cholesterol and an increase in high-density lipoproteins (HDL) but increased the concentration of triglycerides, while the treatment with *Notholaena nivea* tincture maintained the lipid profiles at the same as at the beginning ( $p>0.05$ ). **Conclusions:** the combined treatment of metformin plus *Notholaena nivea* tincture rapidly and effectively reduces FPG concentrations in the blood of patients with IGT or DMT2, but it is ineffective in the treatment of the lipid profile. **Keywords:** Type 2 diabetes, *Notholaena nivea*, FPG, Metformin, lipids

**Keywords:** Type 2 diabetes, *Notholaena nivea*, FPG, Metformin, lipids.

## INTRODUCCIÓN

La diabetes tipo 2 es un trastorno metabólico progresivo complejo, que representa una amenaza significativa para la salud humana y representa más del 91% de todos los casos de diabetes(1). A nivel mundial, se estima que 462 millones de personas se ven afectadas por la diabetes tipo 2, lo que corresponde al 6,28% de la población mundial. En 2017, más de 1 millón de muertes se atribuyeron a esta condición, ubicándola como la novena causa principal de mortalidad. 1 La prevalencia de diabetes tipo 2 muestra un patrón de distribución que coincide con el desarrollo socioeconómico, cerca del 80% de los 415 millones de casos de diabetes tipo 2 viven en países de ingresos medios y bajos, en los que se encuentran generalmente países de la región de América Latina. Se espera que el crecimiento epidémico continúe ya que se conserva y acrecienta la prevalencia de varias condiciones de conducta para el desarrollo de la enfermedad (es decir, obesidad e intolerancia a la glucosa). Para el caso de Perú, en donde se desarrolla el presente estudio, la prevalencia nacional estimada de diabetes fue de 7 % (IC del 95%: 5.3% a 8.7%) a nivel nacional, la prevalencia de diabetes fue mayor en las regiones costeras (8,2%) que en las tierras altas (4,5%) y selváticas (3,5%) (2).

Por ello el tratamiento de esta enfermedad se da bajo el uso de drogas que tienen como objetivo mantener las concentraciones de glucosa dentro de los estándares normales en sangre, sin altas o bajas serias, equilibrando la eficacia anti hiperglucémica, ya que los niveles constantemente altos de azúcar en sangre pueden dañar los vasos sanguíneos y los nervios. Esto puede provocar problemas médicos que afecten a los riñones, los pies y la retina (3). También puede aumentar el riesgo de accidente cerebrovascular o ataque cardíaco. Los fármacos hipoglucemiantes se utilizan con el objetivo de prevenir o retrasar estos problemas de salud tanto como sea posible.

En la actualidad, el tratamiento de la diabetes depende principalmente de intervenciones en el estilo de vida (4) (como terapia nutricional y actividad física), medicación oral (5), (como biguanidas, sulfonilureas e inhibidores de  $\alpha$ -glucósidos), fármacos inyectados como insulina, este último con perspectivas a un mercado creciente dada la confianza y lealtad a la industria de la medicina herbaria expresándose en muchos estudios para el tratamiento con medicina herbal local como en China (1), (6), (4). En África, Europa, América y medio oriente. La mayoría de estas fórmulas se utilizan en combinación con compuestos habituales como la glibenclamida o la metformina, dado que los estudios indican que las combinaciones son más eficaces para reducir la glucosa en sangre y mejorar los síntomas de la diabetes que los fármacos usados con monoterapia en pacientes con DMT2 (7).

Para esta investigación se estudió la efectividad de la adición de la tintura de *Notholaena nivea* “Cutu cuti” en el tratamiento de diabetes tipo 2 combinada con metformina, una biguanida eficaz en el control metabólico de la diabetes. La *Notholaena nivea* es de prevalencia andina que tiene efectos hipoglucemiantes dada la presencia de flavonoides, antocianinas, catequinas, taninos, compuestos fenólicos y alcaloides que han pasado los estudios pre clínicos como la medición tóxica y el dosaje controladas en ratas que la tintura es atóxica y tiene un buen efecto hipoglucemiante. El objetivo del presente estudio es evaluar el efecto de la adición de tintura de *Notholaena nivea* al tratamiento con metformina en pacientes con tolerancia alterada a la glucosa (IGT) y diabetes de tipo 2 (DMT2) (8), (9).

## MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio, se inició la fase I del ensayo clínico como estudio piloto para determinar la eficacia preliminar y la seguridad de la tintura de *Notholaena nivea* “Cutu cuti” para el tratamiento de la diabetes tipo 2, en pacientes diabéticos con tratamiento de metformina estandarizados (recomendado para la I fase de estudio clínico con diseño clínico unicentral, aleatorio y simple ciego

### Sujetos de Estudio

Los sujetos del área de medicina complementaria del Hospital Nacional Ramiro Prialé Prialé, Huancayo (Perú) que cumplieron con los siguientes criterios fueron elegibles para este estudio: 1) según el test de glucosa plasmática en ayunas (FPG) tenían que tener un nivel de concentración de glucosa en sangre mayor de 5.6 mmol/l, esto con el fin de incluir sujetos con tolerancia alterada de glucosa (IGT) cuyo rango de glucosa en sangre es de 5.6 a 7.69 mmol/L y sujetos con condición comprobada de diabetes mellitus tipo 2 (T2DM) cuyo nivel de glucosa en sangre es superior a 7 mmol/L según los criterios de la Organización Mundial de la Salud (Moehlecke Iser et al., 2021); 2) el rango de edad tenía que estar entre los 50 y 70 años; 3) solo tener como antecedente farmacológico el uso de metformina en los últimos 6 meses; 4) no haber participado en ensayos clínicos en los 6 meses anteriores al estudio; y 5) firmar el formulario de consentimiento informado.

Los pacientes fueron excluidos del estudio si cumplían una de las siguientes condiciones: 1) tenían hipercolesterolemia o hiperlipidemia; 2) tenían hipertensión arterial.; 3) no pudieron mantener la dieta establecida o el estilo de vida definido por los investigadores; 4) tenía alergia a la tintura de *Notholaena nivea*; 5) tenía otros trastornos endocrinos o enfermedades primarias graves (COVID 19). Para cumplir con los supuestos de muestras homogéneas en la línea basal se analizaron las variables de interés como la FPG, BMI SBP, DBP, colesterol total, HDL, LDL, triglyceridos y HbA1 de 150 participantes interesados en participar del estudio con análisis de conglomerados en base a similitud de distancias euclidianas, para realizar un estandarizado de la muestra en la etapa inicial lo que permitió tener un estatus clínico y diagnóstico con tendencia análoga de los sujetos de estudio (10).

98 sujetos fueron seleccionados luego del cribado inicial de 150 que estuvieron dispuestos a participar en el estudio, excluyendo a 52 sujetos por condiciones clínicas o por selección producto del análisis cluster, dado que se contaba con 40 kits de tratamiento completo con tintura de *Notholaena nivea*, estas se asignaron aleatoriamente a 40 sujetos para el tratamiento y 58 para el tratamiento placebo, después de 26 semanas de tratamiento quedaron 86 sujetos de prueba que completaron el estudio, de estos ninguno en el estudio basal tuvo tolerancia normal a la glucosa (NGT) ya que ninguno tuvo valores menores de 5.6 mmol/L de glucosa en sangre, mientras que 39 estaban prescritos con IGT y 47 con T2DM, (Fig. 2).

### Periodo de Ejecución

Fueron 98 sujetos de estudio los que pasaron el cribado inicial de los 150 que decidieron participar del estudio, estos fueron instruidos en estilos de vida saludables por un periodo de un mes antes del inicio del ensayo. Los seleccionados fueron asignados aleatoriamente para los dos tratamientos, metformina más placebo y metformina más tintura de *Notholaena nivea*, después de 13 semanas se dio el primer control con la

medición de las variables de interés (FPG, BMI, SBP, DBP, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos y HbA1), para después de 26 semanas dar el segundo y último control.

### **Orientación sobre el estilo de vida**

La concientización sobre los estilos de vida y la dieta de los pacientes que participaron en el estudio estuvieron en función a la guía de práctica clínica para el tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención (11). Las personas ingresaron a un programa estructurado desde el diagnóstico, para la concientización de su enfermedad, iniciando con las recomendaciones nutricionales de forma personalizada por parte de un nutricionista, quien desarrolló el tema del fraccionamiento de la comida para mejorar la adherencia a la dieta, con el fin de reducir los picos glucémicos postprandiales.

Para este estudio se recomendó la ingesta de calorías en base al peso, talla y actividad física de la persona con la fórmula de Lorentz (12), mientras que para la ingesta de grasas se determinó entre 20 a 35 % de energía diaria consumida, en proteínas de 15 a 20 %, carbohidratos entre 45 a 55 % del valor calórico total (TCV) y fibra de entre 15 a 25 g por 1000 kcal consumidas. Para el caso de actividad física se recomendó actividades programáticas con sesiones de 150 min semanales con actividad física aeróbica de intensidad moderada, a la par se recomendó dejar hábitos como el fumar e identificar riesgos ocupacionales como factor de riesgo para enfermedades cardio metabólicas.

### **Obtención de la tintura de *notholaena nivea***

En un recipiente de vidrio borosilicato, se transfirió la planta (droga cruda) con el grado de división apropiado debidamente pesada y humedecida con el menstruo (solución etanólica al 50 %). Se dejó reposar (para que la masa vegetal embeba el menstruo y se hinche) por 4 horas, en un percolador cuyo orificio de salida se cubrió con gasa, se transfirió la droga humectada y se cubrió la superficie con placa filtro con orificio para luego ejercer presión.

Para garantizar que no queden burbujas de aire en la masa vegetal, se vertió el menstruo con el orificio de salida del percolador abierto y cuando este comenzó a salir se cerró el mismo. Se siguió vertiendo menstruo hasta que este cubrió la masa vegetal quedando de 3 a 5 cm por encima de ella. Se recirculó la tercera parte del volumen del líquido contenido en el percolador cerrándolo, dejando macerado durante 24 h. Se dejó salir el percolado, estableciéndose un flujo de 3-5 mL/min, hasta obtener una primera fracción de 75 % del volumen final del extracto.

Se adiciono más volumen de menstruio equivalente a 3 veces el peso de la muestra, se abrió nuevamente el orificio de salida y se dejó salir el resto del percolado al mismo flujo, el volumen obtenido se concentró a una temperatura que no excediera los 60 °C (concentración por vacío) hasta que se obtuvo el 25% del volumen final del extracto (segunda fracción). La segunda fracción obtenida se mezcló con la primera fracción y se añadió el menstruio hasta completar el volumen del extracto fluido. Se dejó reposar en un recipiente bien cerrado en un periodo de 10 días de 15 a 20 °C.

Transcurrido el tiempo se filtró por papel de velocidad moderada, evitando lo más posible la evaporación, y se envaso como extracto fluido. Finalmente, para la obtención de la tintura se adicionó una parte del extracto fluido de *Notholaena nivea* y cuatro partes del menstruio en un recipiente de vidrio, se homogenizo evitando lo más posible la evaporación y se envaso como tintura al 20 %.

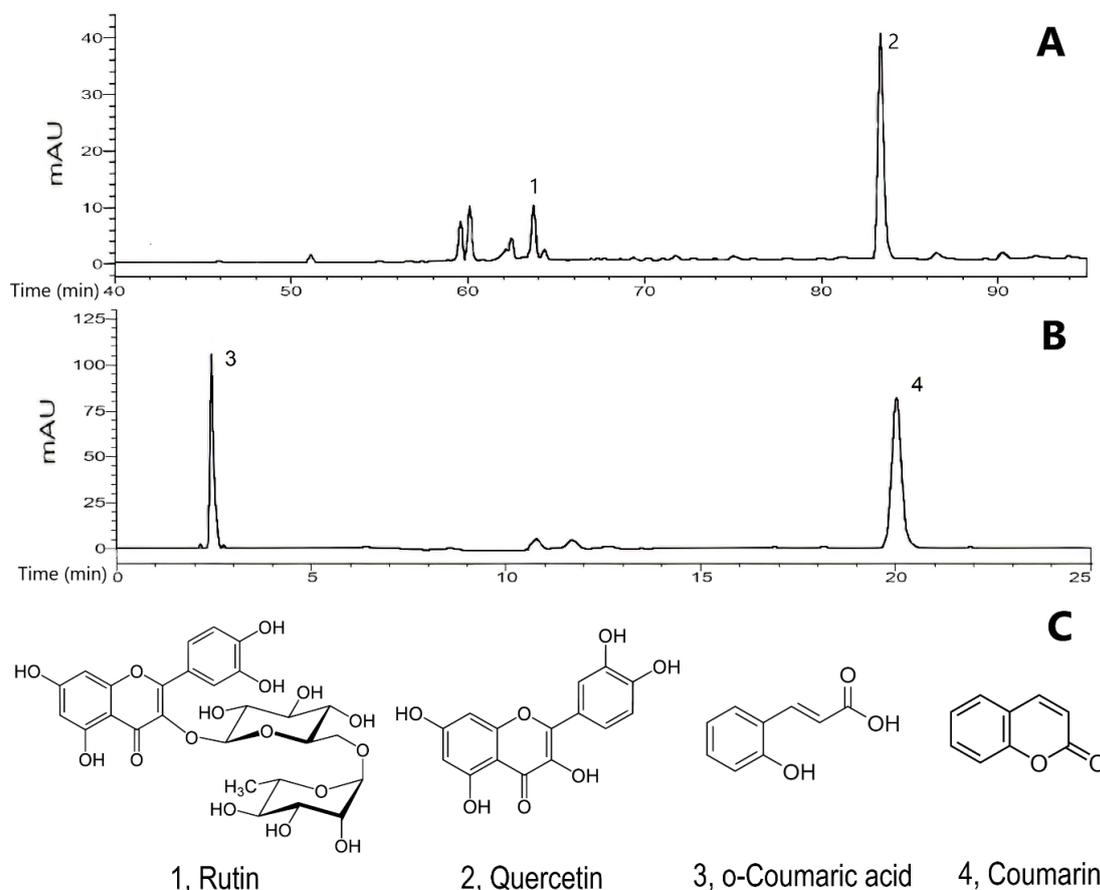
### Medicación del ensayo clínico

Se uso dosis de tintura de *Notholaena nivea*, elaborada en los laboratorios de la Universidad Nacional del Centro del Perú, la prescripción fue de 6 gotas 30 minutos antes del desayuno y 30 minutos antes del almuerzo para el tratamiento de hiperglucemia junto con el tratamiento de Metformina, mientras que para los sujetos control se usó placebo puro que consistió en almidón disuelto en suero fisiológico al 0.9 %.

### Análisis químico de la tintura de notholaena nivea

La composición química de la tintura de *Notholaena nivea* se analizó mediante un método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC), se usó el equipo marca: KNAUER modelo: SMARTLINE, compuesto por: bomba analítica cuaternaria, Detector UV-VIS de onda variable, Auto muestreador automatizado. Se utilizó el Software ChromGATE para la identificación e integración de los picos. Para las corridas de HPLC se utilizó el estándar a una concentración de 53,9 ug/mL, para la preparación del estándar se diluyó 1 mL de estándar de Bencil Isotiocianato al 98% y se enrasó a 200 mL de metanol grado HPLC, luego se diluyo 11 mL de esta solución y se enraso con metanol a 1000 mL. Las muestras previamente diluidas en 2 mL de metanol grado HPLC, se diluyo 1 mL de esta solución y se enrasó a 10mL de metanol, para poder realizar la cuantificación en el equipo HPLC. En la Figura 1 se muestran los cromatogramas representativos de los estándares y del fármaco probado, así como las estructuras químicas de los compuestos marcadores. Los contenidos de estos compuestos marcadores en la tintura de *Notholaena nivea* fueron los siguientes: rutina (0.00559 mg/ml), quercitina (0.105 mg/ml), o cumarico - cumarina (0.170 mg/l).

**Figura 1.** Análisis por espectrometría de masas HPLC de tintura de *Notholaena nivea*

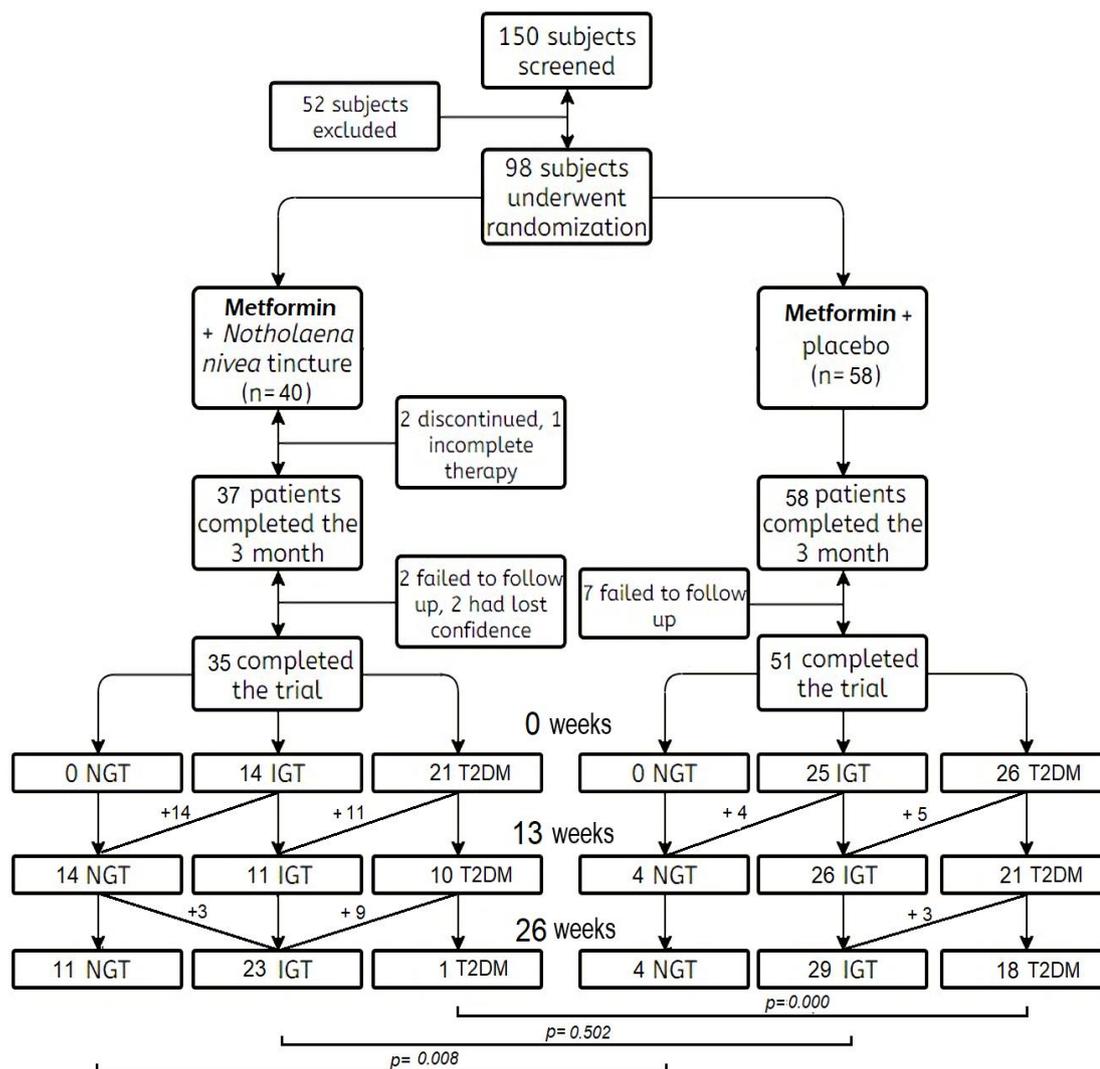


Se muestra perfil cromatográfico de compuestos fenólicos (A) y perfil cromatográfico de cumarinas (B). Los picos de los compuestos son los siguientes 1, Rutin; 2, Quercetin; 3, o-Coumaric acid y 4, Coumarin. Además se muestran las estructuras químicas en la tintura de *Notholaena nivea* (C).

### Evaluación de la intervención y la eficacia

Los sujetos de estudio fueron aleatorizados para el tratamiento, el periodo de duración del ensayo fue de 26 semanas, durante este periodo los sujetos fueron evaluados cada 13 semanas mediante un examen de sangre en ayunas, el criterio de evaluación fue la disminución de los niveles de FPG en sangre y las transferencias de un estado T2DM a IGT o de IGT a NGT, durante las 26 semanas. También se evaluaron la talla y peso para el cálculo del índice de masa corporal (BMI), así como el SBP, DBP, colesterol total, HDL, LDL, triglyceridos y HbA1. En caso de que un sujeto subiera los valores de FPG en sangre en la primera evaluación de 13 semanas se le retiro del estudio y se le receto nuevos medicamentos adecuados para controlar la hiperglucemia, mientras que si no cambio su estado inicial a la segunda evaluación se le recomendó continuar con el tratamiento.

**Figura 2.** Progression of NGT in both control and Notholaena nivea tincture groups



**Aleatorización y cegamiento**

La investigación se llevó a cabo con una asignación aleatoria estratificado por efecto del sexo del paciente, los 40 kits para el tratamiento se enumeraron de acuerdo al reglamento de codificación aleatoria, solo los investigadores conocían la codificación por ello la calificación simple ciego del estudio, toda la investigación fue realizada en un solo hospital (unicentral). Estadísticos independientes analizaron los datos.

**Declaración de ética y seguridad**

El protocolo de investigación fue aprobado por la Comisión de Ética de investigación de la Universidad Nacional del Centro del Perú en base legal del decreto legislativo N° 1496, Art. 5° y Constancia CEIUNCP N°009.



Los sujetos del estudio fueron reclutados en el Hospital Nacional Ramiro Prialé en la ciudad de Huancayo – Perú, de enero a octubre del 2019, todos los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito antes de la inscripción. El estudio se realizó siguiendo las pautas de la declaración CONSORT. Además, estudios anteriores determinaron la no toxicidad de la planta *Notholaena nivea* (13), (14), en las que fue bien tolerada y no se asoció con ningún problema de seguridad.

### **Análisis estadístico**

Se hizo el análisis descriptivo de los parámetros medidos en línea basal para el inicio del estudio, las comparaciones entre las diferencias entre ambos grupos (tratamiento y control) fue llevado a cabo por u de Mann Whitney para determinar si las medianas de ambos grupos independientes difieren, dada la naturaleza de su distribución y el incumplimiento de supuestos, esta prueba es el equivalente a la t Student en pruebas no paramétricas (15). Mientras que, la medición de los efectos del tratamiento se llevaron a cabo con análisis de la varianza por rango de Friedman de dos vías de muestras relacionadas, el cual se refiere a el estudio de sujetos experimentales (bloques) similares entre sí en algunos aspectos importantes sometidos a k tratamientos diferentes u observados en k intervalos de tiempo diferentes durante un tratamiento (16). Los datos fueron estratificados en función a la concentración de glucosa en sangre se analizó mediante la prueba de chi cuadrado para la frecuencia de cambios en los grupos del ensayo (17).

## **RESULTADOS**

### **Características de la línea basal**

Las evaluaciones iniciales de pacientes que participaron del estudio determinaron que de los 150 que quisieron participar del estudio, quedaron 98 después del cribado inicial. Los sujetos que participaron se dividieron en 40 para el tratamiento con tintura de Metformin más tintura de *Notholaena nivea* y 58 para tratamiento de Metformin más placebo, para el grupo tratamiento, después de 26 semanas 35 completaron el ensayo, de estos su clasificación basal según las concentraciones de FPG fue de 14 en estado IGT y 21 en estado T2DM, mientras que para el grupo control 25 estuvieron en estado IGT y 26 en T2DM (Figura 2), la prueba de proporciones con exacte de Fisher determinó que no hubo diferencias significativas proporcionales por el grupo asignado ( $p > 0.05$  para grupos IGT y T2DM), tampoco hubo diferencias significativas de agrupación por sexo o edad de los sujetos en estudio ( $p > 0.05$ ).

Los resultados de los parámetros en la línea basal (Tabla 1) reportaron que las concentraciones de FPG para el grupo control y tratamiento no diferían significativamente con valores de 7.57 y 7.84 mmol/l ( $p > 0.05$ ), mientras que para el BMI si presentaron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) con valores de 27.97 kg/m<sup>2</sup>

para el grupo tratamiento y  $24.94 \text{ kg/m}^2$  para el grupo control, revelando que la media de los sujetos está dentro del rango de sobre peso según la escala de la OMS con 25 a  $29.9 \text{ kg/m}^2$  (Weir and Jan, 2019), además de que en el grupo tratamiento se evidencia un mayor incidencia de sobrepeso; para los valores de presión sanguínea sistólica (SBP) y diastólica (DBP), se reportó que en línea basal ambos grupos eran similares ( $p > 0.05$  para ambos), según la National Heart Lung and Blood Institute de los US, la media de los valores reportados en este estudio para ambos grupos está dentro del rango normal de presión sanguínea con valores de  $\text{SBP} < 120$  y  $\text{DBP} < 80$  (NHLBI, 2004).

En relación a los lípidos se reportó que los valores de colesterol total y lipoproteínas de alta densidad (HDL) eran similares en ambos grupos ( $p > 0.05$ ), con medias de  $5.48 \text{ mmol/L}$  de colesterol total para el grupo control y  $5.36 \text{ mmol/L}$  para el grupo de tratamiento, mientras que en HDL se reportó medias de  $1.20 \text{ mmol/L}$  para el grupo control y  $1.17 \text{ mmol/L}$  para el grupo tratamiento, según las directrices europeas los valores reportados en ambos grupos están al límite de lo alto en colesterol total cuyo rango es de  $5.18\text{-}6.18 \text{ mmol/L}$ , en tanto las concentraciones de HDL están dentro del rango clasificado como mejor pero no bueno cuyos valores van desde 1 a  $1.5 \text{ mmol/L}$  (18).

En otro orden se encontró a las concentraciones de LDL y triglicéridos totales, que según el análisis de comparación se evidenció que los grupos de tratamiento y control diferían significativamente en estos parámetros ( $p < 0.01$ ), siendo el grupo tratamiento el que obtuvo las mayores concentraciones en ambos, para el caso de LDL se reportó que la media de concentración en el grupo control fue de  $2.86$  y para el tratamiento fue de  $3.37 \text{ mmol/L}$ , según la legislación europea están clasificados como valores cercanos al óptimo que va desde  $2.3$  a  $6.6 \text{ mmol/L}$ , en tanto que los valores de triglicéridos totales para el grupo control fue de  $1.71 \text{ mmol/L}$  y para el tratamiento fue de  $2.39 \text{ mmol/L}$ , clasificados dentro del rango de límite alto cuyos valores van de  $1.7$  a  $2.2 \text{ mmol/L}$ , aunque el grupo tratamiento evidenció que existen valores que están dentro de los valores clasificados como altos de  $2.3\text{-}5.6 \text{ mmol/L}$  (19).

Para el caso de hemoglobina glicosilada HbA1c se reportó que en la línea basal ambos grupos no diferían en los valores obtenidos ( $p = 0.244$ ), con  $6.55 \%$  de media para el grupo control y  $6.93\%$  para el grupo tratamiento, el punto de corte para adulto determina que a valores mayores de  $6.5 \%$  de HbA1 se considera que el paciente presente diabetes<sup>12</sup> (20).

**Tabla 1.** Características clínicas iniciales y resultados de laboratorio de los pacientes

Characteristics	Control group (n=51)		Treatment group (n=35)		p value
Age,y (mean±SD)	58.04	± 6.09	60.00	± 6.68	0.83
Sex, Male/Female	29	/ 22	19	/ 19	0.521a
FPG, mmol/l (mean±SD)	7.57	± 1.69	7.84	± 1.90	0.67
BMI, kg/m <sup>2</sup> (mean±SD)	24.94	± 2.28	27.97	± 3.90	0.000
SBP, mm Hg (mean±SD)	114.31	± 12.04	113.71	± 12.39	0.861
DBP, mm Hg (mean±SD)	71.77	± 6.23	71.71	± 6.65	0.844
Total cholesterol, mmol/L (mean±SD)	5.48	± 0.38	5.36	± 0.93	0.94
HDL, mmol/L (mean±SD)	1.20	± 0.19	1.17	± 0.26	0.436
LDL,mmol/L (mean±SD)	2.86	± 0.36	3.37	± 0.86	0.000
Triglycerides, mmol/L (mean±SD)	1.71	± 0.12	2.39	± 0.96	0.001
HbA1c,% (mean±SD)	6.55	± 1.02	6.93	± 1.43	0.244

a. Chi square test (p>0.05)

### Control glucémico

Los cambios en la FPG y la HbA1c con el tiempo se ilustran en la Figura 3A, 3B y la Tabla 2, después de 26 semanas de tratamiento, los niveles de FPG en el grupo de tratamiento disminuyeron significativamente en ambos grupos (p<0.01), para el grupo control evidencio un cambio promedio de 7.57 a 7.09 mmol/l, denotando que la metformina disminuye las concentraciones de FPG, mientras que en el grupo tratamiento también se observa un cambio promedio significativo de 7.84 a 5.98 mmol/l.

Sin embargo, la progresión en la eficacia de los tratamientos es evidente, ya que la comparación de valores entre los puntos temporales evidencia que en la semana 13 el tratamiento de metformina más la tintura de *Notholaena nivea* con una media de 6.49 mmol/L fue más eficaz frente al tratamiento de solo metformina que obtuvo una media de 7.21 mmol/L, al final del ensayo se mantiene la correspondencia en el decremento de los valores de FPG y la diferencia significativa (p<0.01), encontrando que en el grupo control la media de concentración fue de 7.09 mmol/L, mientras que el tratamiento con tintura de *Notholaena nivea* tuvo una media de 5.98 mmol/L.

Las comparaciones en el punto temporal de la semana 26 evidencio que el tratamiento con metformina más tintura de *Notholaena nivea* es más eficaz que el tratamiento solo con metformina ya que mejora las concentraciones de FPG disminuyéndolas, esto también se evidencia en la proporcionalidad de los sujetos que mejoran su condición en base a las concentraciones de FPG, la Figura 2 muestras las comparaciones proporcionales de ambos grupos en función a los estados glucémicos, se evidencia que el tratamiento de metformina más la tintura de *Notholaena nivea* tiene una mayor proporción significativa de sujetos que cambio de un estado IGT a un estado NGT en comparación con el tratamiento de metformina sola (p<0.05), y aunque hay regresiones de 3 sujetos que pasaron de un estado NGT a IGT de la semana 13 a la 26, la eficacia es significativa, se evidencia también que el cambio de estado de una condición de T2DM se reduce significativamente a la semana 26 en el tratamiento con la tintura de 21 sujetos con T2DM a 1 con la misma condición en comparación con lo evidenciado en el



tratamiento con metformina sola que de 26 sujetos con T2DM, 18 mantuvieron su condición al terminar el ensayo, estas diferencias proporcionales también son significativas ( $p < 0.05$ ).

Los valores de HbA1c disminuyeron significativamente dentro de ambos grupos ( $p < 0.01$ ), para el grupo control se inició con un valor medio de 6.55 % de HbA1c, a la semana 26 el valor medio fue de 6.26 %, mientras que en el grupo tratamiento se inició con una media de 6.94 % y a la semana 26 este valor se redujo a 6.13 %. Las comparaciones en el mismo punto temporal determinan que no hubo un efecto por parte del tratamiento con tintura de *Notholaena nivea*, aunque en la semana 13 se evidencie un cambio significativo a favor del tratamiento con metformina sola, esta se ajusta a su contraparte del tratamiento en el punto temporal de la semana 26.

### **Cambios en los parámetros metabólicos y otros valores fisiológicos**

Los valores de BMI al inicio del estudio fueron significativamente diferentes en ambos grupos, mientras que para el grupo control la media del punto basal fue de 24.94 kg/m<sup>2</sup>, su contraparte del grupo tratamiento en el mismo punto temporal tenía una media de 27.9 kg/m<sup>2</sup>, el ANOVA dentro de grupos determinó que hubo un aumento significativo en el BMI del grupo control a la semana 26 con un aumento promedio significativo a 25.04 kg/m<sup>2</sup> ( $p < 0.05$ ), mientras que en el análisis dentro del grupo del tratamiento se observa una tendencia a aumentar a un valor promedio de 28.13 kg/m<sup>2</sup>, pero la prueba indica que este cambio no es significativo ( $p > 0.05$ ). Esto evidencia que el tratamiento de Metformina más tintura de *Notholaena nivea* tiende a mantener los índices de BMI mejor que el tratamiento de Metformina sola, entendiéndose que es necesario un complemento para la reducción de este parámetro, ya que aparentemente no se reduce de peso.

### **Tensión Arterial**

Para los valores de presión arterial sistólica y diastólica la prueba ANOVA dentro de los grupos y las comparaciones con el mismo punto temporal frente al otro grupo denota que no hay cambios en ninguna fase del ensayo ni existe un efecto del tratamiento para estos indicadores. Por otra parte, en los valores de colesterol total, se evidencia un mejor efecto del tratamiento de Metformina sola, ya que existe una disminución significativa de 5.48 mmol/L a 5.35 mmol/L ( $p < 0.05$ ), frente a tratamiento con tintura de *Notholaena nivea* que aparentemente tiende a aumentar de valores medios de 5.36 mmol/L a 5.46 mmol/L aunque este cambio no es significativo ( $p > 0.05$ ), es evidente que no hay un efecto con el tratamiento de tintura para este parámetro, mientras que si se usa solo la metformina el efecto es positivo.

### Perfil Lipídico

Por otra parte, en relaciona los lípidos, el análisis basal determino que los parámetros de LDL y triglicéridos totales fueron significativamente diferentes al inicio del ensayo, es por eso que su efectividad se determinó en función al análisis dentro del grupo, para tal efecto los parámetros HDL, LDL y triglicéridos totales evidenciaron en efecto neutro con el tratamiento de la tintura, ya que no hubo efectos significativos en los valores dentro de los grupos, mientras que el tratamiento control evidencio que mejoro los valores de HDL aumentado significativamente ( $p < 0.05$ ) los niveles de 1.2 a 1.23 mmol/L de media.

Aunque no hubo cambios en los niveles de LDL y hubo un declinación en la eficacia para con los triglicéridos totales de manera significativa ( $p < 0.05$ ) ya que los valores aumentaron de 1.71 a 1.73 mmol/L de media, distinguiendo que hay un efecto antagónico producto de la combinación del tratamiento con la tintura de *Notholaena nivea* que repercute en las dianas para ciertos parámetros como el colesterol total y el HDL ya que solo con el tratamiento de metformina se tiene efectos positivos reduciendo los niveles para el primero y aumentando para el segundo, mientras que en el tratamiento con la combinación de metformina y tintura de *Notholaena nivea* no hay efecto para estos parámetros, por otra parte en relaciona los triglicéridos el tratamiento con metformina sola no disminuye los valores y tiende a aumentarlos, suceso que no se observa en el tratamiento con la tintura ya que hay un efecto neutro para este parámetro.

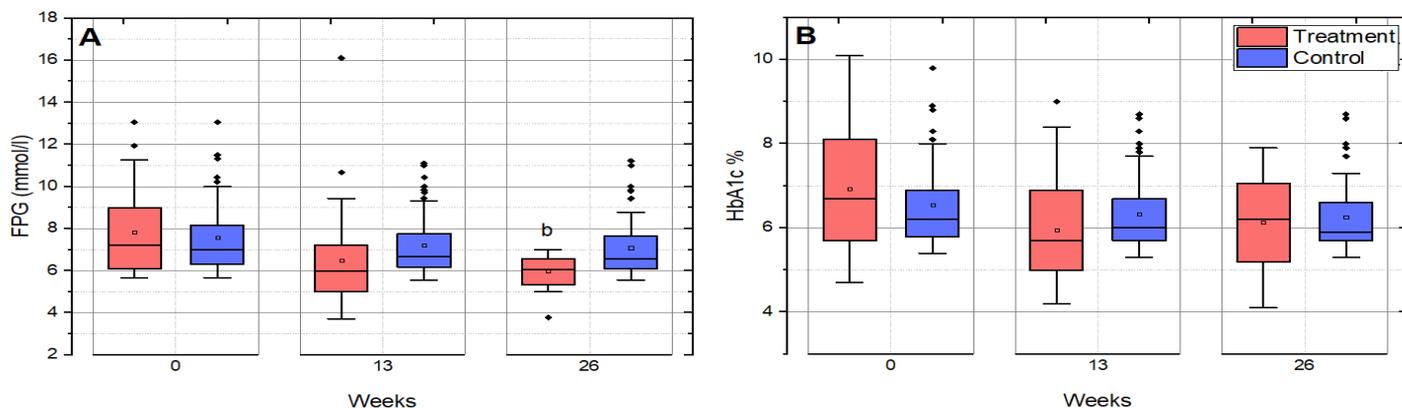
**Tabla 2.** Comparación del nivel de glucemia y cambios en el perfil lipídico en los dos grupos del estudio durante 26 semanas. Variables

Control group Metformin + placebo (n=51)			Related ANOVA by ranks (p value)	Treatment group Metformin + Notholaena nivea tincture (n=35)			Related ANOVA by ranks (p value)
Baseline	13 weeks	26 weeks		Baseline	13 weeks	26 weeks	
5.75±1.7	7.21±1.5 ##	7.09±1.41 ##	0.001**	7.84±1.9	6.49±2.33 ##	5.98±0.71 ##	0.001**
4.94±2.29 ##	25.06±2.23 ##	25.04±2.22 ##	0.04*	27.9±3.89 ##	27.94±3.74 ##	28.13±3.77 ##	0.66
14.31±12.04	113.71±10.19	110.59±11.39	0.115	113.71±12.39	113.43±10.27	108.57±9.44	0.102
1.77±6.23	71.37±8	70±11.3	0.828	71.71±6.64	70.29±8.22	71.71±7.85	0.4
4.48±0.38	5.4±0.3	5.35±0.26	0.001**	5.36±0.94	5.37±0.84	5.46±1.1	0.699
1.20±0.19	1.22±0.18	1.23±0.19 ##	0.019*	1.17±0.26	1.14±0.23	1.05±0.14 ##	0.071
3.86±0.36 ##	2.86±0.33 ##	2.85±0.31 ##	0.931	3.37±0.86 ##	3.25±0.77 ##	3.3±0.93 ##	0.479
1.71±0.12 ##	1.72±0.11 ##	1.73±0.1 ##	0.006**	2.38±0.96 ##	2.29±0.7 ##	2.21±0.66 ##	0.384
1.55±1.02	6.34±0.9 ##	6.26±0.85	0.001**	6.94±1.43	5.94±1.19 ##	6.13±1.03	0.001**

Cotejo con el valor medio del tratamiento # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$ ; en comparación con el valor control en el mismo punto temporal, Cotejo \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; IC para el cambio entre el punto de partida y la semana 26 dentro del grupo.



**Figura 3.** Evolución temporal de los niveles de glucosa plasmática en ayunas (FPG) y hemoglobina glicosilada (HbA1c) desde el inicio hasta las 26 semanas.



### DISCUSIÓN

Los fármacos más utilizados en la población diabética son la metformina, la pioglitazona, las estatinas, la glimepirida, la voglibosa, el amlodipino y el telmisartán. Sin embargo, la población tiende a tener la percepción de que el uso de productos naturales puede mejorar su situación, es por eso que la búsqueda de alternativas naturales tiene mayor aceptación (21).

Este estudio demostró que el efecto del tratamiento de la tintura de *Notholaena nivea* más metformina fue más eficaz que el tratamiento solo de metformina, pero solo para la reducción de FPG y HbA1c, donde se evidenció que para las concentraciones de FPG el tratamiento combinado de metformina más tintura de *Notholaena nivea* es significativo a nivel proporcional y paramétrico, logrando mejorar los estados de los pacientes con cuadros de IGT o T2DM a NGT en mayor proporción. Según estudios los flavonoides encontrados en el análisis cromatológico en la tintura de *Notholonea nivea* son componentes funcionales que tienen propiedades antidiabéticas porque mejoran los metabolismos alterados de la glucosa y la oxidación de los estados diabéticos (22).

En este estudio se identificó a dos flavonoides en la tintura de *Notholaena nivea*, la rutina y la quercitina, para estos se ha demostrado una fuerte relación entre los flavonoides y el metabolismo de la glucosa, lo que explicaría su efecto significativo sobre las concentraciones de FPG. Para el caso de la rutina esta disminución de la concentración de glucosa se explica en parte por un efecto metabólico y en parte por la acción directa sobre las membranas celulares (23). Además, otros estudios muestran que la rutina tiene mayor actividad hipoglucémica que la quercitina (24). La presencia de ambos flavonoides en la tintura reforzaría el efecto hipoglucemiante del tratamiento, esto puede deberse a que la rutina puede mejorar la resistencia a la insulina inducida mediante la mejora de la actividad de la glutatión peroxidasa, la glutatión reductasa, la catalasa, la superóxido dismutasa, las especies reactivas del oxígeno y las vías de Akt,

lo que resulta en un aumento de la captación de glucosa, haciendo que este flavonoide pueda servir como un agente potencial para el control de la glucemia a través de la mejora de la actividad de la Insulin Receptor Kinase (IRK) y la mejora en la captación de glucosa (25).

Sin embargo, a pesar de que existe evidencia de que la rutina y la quercitina tienen un efecto beneficioso sobre los lípidos, lipoproteínas y metabolizadoras de lípidos a nivel experimental en ratas (26). Sin embargo, esto no se observa en el presente estudio, ya que los sujetos expuestos a la tintura no evidenciaron cambios en colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos totales probablemente debido a la falta de control de otros aspectos como la actividad física y la alimentación debido a que este es el primer ensayo clínico que se lleva a cabo evaluando el efecto antidiabético de la tintura de *Notholaena nivea* combinado con metformina de forma aleatorizada, simple ciego y controlado con placebo en pacientes con DMT2 durante 26 semanas de administración diaria. También puede explicarse porque la administración de otros tratamientos aparte del preparado comercial genera trastornos del metabolismo lipídico indicando la eliminación defectuosa o la sobreproducción de una o más lipoproteínas (8), y es posible que un componente de la tintura antagonice la actividad de la metformina, que es más eficiente actuando sola para los parámetros lipídicos según los resultados.

## CONCLUSIÓN

A modo de conclusión, se puede decir que los aspectos fisiológicos como el SBP y DBP no se evidenciaron cambios significativos en los tratamientos, evidenciando la bioseguridad clínica de la tintura de *Notholaena nivea* en el sentido de que no se observó efectos adversos en el ensayo. Por lo tanto, estos resultados demostraron que el tratamiento de metformina combinado con tintura de *Notholaena nivea* es significativamente superior a una monoterapia con metformina, ya que reduce significativamente las concentraciones de FPG y HbA1, teniendo su punto fuerte en el tiempo de eficacia, ya que en la semana 13 se obtiene resultados prometedores, sin embargo al tratarse de un estudio piloto, la eficacia de este tratamiento combinado debe probarse en una población mucho mayor y caracterizarse en función de las patologías anexas a la diabetes, buscando la posibilidad de investigar combinaciones que refuercen el efecto hipolipemiante de nuevas plantas.

## REFERENCIAS

- 1) Lian, F.-M., Pang, B., Zhang, Y., Liu, J., He, L.-S., Bai, Y.-J., & Tong, X.-L. (2016). Prevention of type 2 diabetes with the Chinese herbal medicine Tianqi capsule: a systematic review and meta-analysis. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 4, S23. [https://doi.org/10.1016/s2213-8587\(16\)30378-3](https://doi.org/10.1016/s2213-8587(16)30378-3)

- 2) Seclen, S. N., Rosas, M. E., Arias, A. J., Huayta, E., & Medina, C. A. (2015). Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in Peru: report from PERUDIAB, a national urban population-based longitudinal study. *BMJ Open Diabetes Research & Care*, 3(1), e000110. <https://doi.org/10.1136/bmjdr-2015-000110>
- 3) Palmer, S. C., Mavridis, D., Nicolucci, A., Johnson, D. W., Tonelli, M., Craig, J. C., Maggo, J., Gray, V., De Berardis, G., Ruospo, M., Natale, P., Saglimbene, V., Badve, S. V., Cho, Y., Nadeau-Fredette, A. C., Burke, M., Faruque, L., Lloyd, A., Ahmad, N., ... Strippoli, G. F. M. (2016). Comparison of clinical outcomes and adverse events associated with glucose-lowering drugs in patients with type 2 diabetes a meta-analysis. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 316(3), 313–324. <https://doi.org/10.1001/jama.2016.9400>
- 4) Pang, G. M., Li, F. X., Yan, Y., Zhang, Y., Kong, L. L., Zhu, P., Wang, K. F., Zhang, F., Liu, B., & Lu, C. (2019). Herbal medicine in the treatment of patients with type 2 diabetes mellitus. *Chinese Medical Journal*, 132(1), 78–85. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000000006>
- 5) Tran, L., Zielinski, A., Roach, A. H., Jende, J. A., Householder, A. M., Cole, E. E., Atway, S. A., Amornyard, M., Accursi, M. L., Shieh, S. W., & Thompson, E. E. (2015b). Pharmacologic Treatment of Type 2 Diabetes: Oral Medications. *Annals of Pharmacotherapy*, 49(5), 540–556. <https://doi.org/10.1177/1060028014558289>
- 6) Lian, F., Li, G., Chen, X., Wang, X., Piao, C., Wang, J., Hong, Y., Ba, Z., Wu, S., Zhou, X., Lang, J., Liu, Y., Zhang, R., Hao, J., Zhu, Z., Li, H., Liu, H. F., Cao, A., Yan, Z., ... Tong, X. (2014). Chinese herbal medicine tianqi reduces progression from impaired glucose tolerance to diabetes: A double-blind, randomized, placebo-controlled, multicenter trial. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 99(2), 648–655. <https://doi.org/10.1210/jc.2013-3276>
- 7) Hu, Y., Zhou, X., Liu, P., Wang, B., Duan, D. M., & Guo, D. H. (2016). A comparison study of metformin only therapy and metformin combined with Chinese medicine jianyutang therapy in patients with type 2 diabetes: A randomized placebo-controlled double-blind study. *Complementary Therapies in Medicine*, 24, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2015.11.005>
- 8) Akula, A., Kota, M. K., Gopisetty, S. G., Chitrapu, R. V., Kalagara, M., Kalagara, S., Veeravalli, K. K., & Gomedhikam, J. P. (2003). Biochemical, histological and echocardiographic changes during experimental cardiomyopathy in STZ-induced diabetic rats. *Pharmacological Research*, 48(5), 429–435. [https://doi.org/10.1016/S1043-6618\(03\)00191-9](https://doi.org/10.1016/S1043-6618(03)00191-9)
- 9) Banjari, I., Misir, A., Pavlić, M., Herath, P. N., & Waisundara, V. Y. (2019). Traditional herbal medicines for diabetes used in europe and asia: Remedies from Croatia and Sri Lanka. *Alternative Therapies in Health and Medicine*, 25(3), 40–52.

- 10) Sohail, Mashaal, et al. "La adaptación poligénica en la altura se sobreestima debido a la estratificación no corregida en los estudios de asociación de todo el genoma". *Elife* 8 (2019).
- 11) MINSA. (2015). Guía de práctica clínica para el diagnóstico, tratamiento y control de la diabetes mellitus tipo 2 en el primer nivel de atención. R.M. N° 71 (pp. 21–31). <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/3466.pdf>
- 12) Coetzee, E. J., & Jackson, W. P. U. (1985). The management of non-insulin-dependent diabetes during pregnancy. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 1(5), 281–287. [https://doi.org/10.1016/S0168-8227\(86\)80036-5](https://doi.org/10.1016/S0168-8227(86)80036-5)
- 13) Castañeda, B., Castro, R., Manrique, R., & Ibáñez, L. (2006). Evaluación de la acción citotóxica del extracto metanólico de *Notholaena nivea* "cuti-cuti." In *Cultura* (Vol. 20, pp. 189–202).
- 14) Minchán-Herrera, Patricia, et al. "Argyrochosma nivea (Poir.) Windham (Pteridaceae EDM Kirchn.), "Cuti Cuti": Una revisión etnobotánica." *Ethnobotany Research & Applications* 19.30 (2020).
- 15) Gibbons, J. D., & Chakraborti, S. (1991). Comparisons of the mann-whitney, student's t, and alternate t tests for means of normal distributions. *Journal of Experimental Education*, 59(3), 258–267. <https://doi.org/10.1080/00220973.1991.10806565>
- 16) Theodorsson-Norheim, Elvar. "Friedman and Quade tests: BASIC computer program to perform nonparametric two-way analysis of variance and multiple comparisons on ranks of several related samples." *Computers in biology and medicine* 17.2 (1987): 85-99.
- 17) Von Meyenfeldt, M. F., Meijerink, W. J. H. J., Rouflart, M. M. J., Builmaassen, M. T. H. J., & Soeters, P. B. (1992). Perioperative nutritional support: a randomised clinical trial. *Clinical Nutrition*, 11(4), 180–186. [https://doi.org/10.1016/0261-5614\(92\)90026-M](https://doi.org/10.1016/0261-5614(92)90026-M)
- 18) Chowdhury, Muhammad EH, et al. "¿Puede la IA ayudar en la detección de neumonía viral y COVID-19?". *Acceso IEEE* 8 (2020): 132665-132676.
- 19) Franz, Sandra, et al. "Immune responses to implants—a review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials." *Biomaterials* 32.28 (2011): 6692-6709.
- 20) Lee, Meei-Shyuan, et al. "La diabetes tipo 2 aumenta y la metformina reduce la incidencia total de cáncer colorrectal, hepático y pancreático en taiwaneses: un estudio de cohorte prospectivo de población representativa de 800 000 personas". *BMC cáncer* 11.1 (2011): 1-10.

- 21) Hu, Y., Zhou, X., Liu, P., Wang, B., Duan, D. M., & Guo, D. H. (2016). A comparison study of metformin only therapy and metformin combined with Chinese medicine jianyutangang therapy in patients with type 2 diabetes: A randomized placebo-controlled double-blind study. *Complementary Therapies in Medicine*, 24, 13–18. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2015.11.005>
- 22) Pinent, M., et al. "Las procianidinas derivadas de semillas de uva tienen un efecto antihiper glucémico en ratas diabéticas inducidas por estreptozotocina y actividad insulinomimética en líneas celulares sensibles a la insulina". *Endocrinología* 145.11 (2004): 4985-4990.
- 23) Fernández, E. B. (2010). Papel de la glucoquinasa como sensor cerebral de glucosa y su contribución en el control de la ingesta de alimentos. *Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia*.
- 24) Jadhav, Ramulu, and Goverdhan Puchchakayala. "Hypoglycemic and antidiabetic activity of flavonoids: boswellic acid, ellagic acid, quercetin, rutin on streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetic rats." *Group 1* (2012): 100g.
- 25) Hsu, Sheng-Da, et al. "Actualización de miRTarBase 2014: un recurso de información para interacciones miRNA-objetivo validadas experimentalmente". *Investigación de ácidos nucleicos* 42.D1 (2014): D78-D85.
- 26) Sattanathan, K., Dhanapal, CK, Umarani, R. y Manavalan, R. (2011). Efectos beneficiosos para la salud de la suplementación con rutina en pacientes con diabetes mellitus. *Revista de Ciencias Farmacéuticas Aplicadas*, (edición), 227-231.

**más**  
**VITA**  
REVISTA DE CIENCIAS DE LA SALUD

