

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA



**EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA Y SUBAGUDA
EN RATONES DE LOS EXTRACTOS
HIDROALCOHÓLICOS DE LAS ESPECIES VEGETALES:
URTICA URENS L. (Ortiga) Y *PIPER ELONGATUM* POIR.
(Matico), UTILIZADAS TRADICIONALMENTE EN
BOLIVIA PARA AFECCIONES INFLAMATORIAS,
REUMÁTICAS E INFECCIOSAS**

(Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica)

Por: YESHIKA GERALDINE LÓPEZ GAVINCHA

LA PAZ-BOLIVIA
Noviembre, 2012

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA



**EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA Y SUBAGUDA
EN RATONES DE LOS EXTRACTOS
HIDROALCOHÓLICOS DE LAS ESPECIES VEGETALES:
URTICA URENS L. (Ortiga) Y *PIPER ELONGATUM* POIR.
(Matico), UTILIZADAS TRADICIONALMENTE EN
BOLIVIA PARA AFECCIONES INFLAMATORIAS,
REUMÁTICAS E INFECCIOSAS**

(Tesis para optar el grado de Licenciatura en Bioquímica)

Por: YESHIKA GERALDINE LÓPEZ GAVINCHA

TUTOR: Dr. JUAN LUIS ARIAS MIRANDA

LA PAZ-BOLIVIA
Noviembre, 2012

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS
Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUIMICA

Tesis de grado:

EVALUACION DE LA TOXICIDAD AGUDA Y SUBAGUDA EN RATONES DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE LAS ESPECIES VEGETALES: *URTICA URENS* L. (Ortiga) Y *PIPER ELONGATUM* POIR. (Matico), UTILIZADAS TRADICIONALMENTE EN BOLIVIA PARA AFECCIONES INFLAMATORIAS, REUMÁTICAS E INFECCIOSAS

Presentada por: Yeshika Geraldine López Gavincha

Nota numeral:.....

Nota literal:.....

Concepto:.....

Director de la Carrera de Bioquímica: Dr. Bernardo Torrico

Firma:

Tutor: Dr. Juan Luis Arias Miranda Firma:.....

Tribunal: Dra. Ma. Teresa Alvarez, Ph.D Firma:.....

Tribunal: Dr. Alberto Jiménez, Ph.D Firma:.....

Tribunal: Firma:.....

*A Dios por haber permitido que
mis padres me den la vida,
a mi hijo por toda la paciencia y
comprensión, a todas las personas
aportadoras con un grano de arena
en mi formación personal y profesional .*

GRACIAS!!!!

AGRADECIMIENTOS

A la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas por permitir que desarrolle mis estudios superiores en sus predios y a todos aquellos que fueron mis docentes quienes aportaron con sus conocimientos a mi formación académica.

Al Instituto de Investigaciones Fármaco Bioquímicas - Área de Toxicología del Departamento de Farmacología, por haber permitido llevar a cabo mi trabajo de investigación en sus instalaciones.

A mi tutor Dr. Juan Luis Arias Miranda por todo el conocimiento impartido, la dedicación y paciencia demostrada para la realización del presente trabajo.

A la Dra. Giovanna Dorigo y al Dr. Walter Montaña por los reactivos y equipos proporcionados en un momento que fueron de suma urgencia.

Al Dr. Jorge Bravo y Dra. Mary Arcaya, por la prestación de sus instalaciones y colaboración desinteresada.

Al Dr. Carlos Molina por la colaboración y el tiempo proporcionado en la parte estadística.

Al Dr. Roger Carvajal por la orientación proporcionada en mi formación profesional.

A los tribunales Dra. María Teresa Alvarez y Dr. Alberto Gimenez, por el conocimiento aportado y tiempo proporcionado en la revisión de mi tesis.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	4
III. OBJETIVOS	5
A. OBJETIVO GENERAL	5
B. OBJETIVOS ESPECIFICOS	5
IV. ANTECEDENTES	6
A. MARCO TEORICO	6
1. INTRODUCCIÓN	6
2. PRINCIPIOS DE LA EXPERIMENTACIÓN TOXICOLÓGICA	8
a. El Sustrato Biológico / Especie Animal	9
b. Selección de la Dosis y Grupos	10
c. Elección de la Vía de Exposición	10
3. TIPOS DE INVESTIGACIONES TOXICOLÓGICAS EXPERIMENTALES	11
4. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS	12
a. Modelos de Toxicidad <i>in vivo</i>	12
1) Toxicidad Aguda Oral	12
a) La Dosis Letal Media (DL50)	13
b) Definición del Método	13
c) Descripción del Método	13
d) Observaciones generales	14
e) Peso Corporal	14
f) Necropsia Macroscópica	14
g) Pruebas Hematológicas	14
(1) Recuento Total de Glóbulos Rojos (GR)	15
(2) Hemoglobina (Hb)	15
(3) Hematocrito (Ht)	16

(4) Velocidad de Sedimentación Globular (VSG)	16
(5) Índices Eritrocitarios	16
(a) Volumen Corpuscular Medio (VCM)	17
(b) Hemoglobina Corpuscular Media (HCM)	17
(c) Concentración Media de la Hemoglobina Corpuscular (CMHC)	17
(6) Recuento Total de Glóbulos Blancos (GB)	17
(7) Recuento Diferencial	18
(a) Neutrófilos	18
(b) Eosinófilos	18
(c) Basófilos	18
(d) Linfocitos	19
(e) Monocitos	19
h) Pruebas Bioquímicas	19
(1) Glucosa	20
(2) Creatinina	20
(3) Acido Úrico	21
(4) Urea	22
(5) Colesterol	23
(6) Triglicéridos	23
(7) Alanina Aminotransferasa	24
(8) Fosfatasa Alcalina	25
2) Toxicidad a Corto Plazo	26
a) Toxicidad Sub-aguda	26
b) Toxicidad Sub-crónica	26
3) Toxicidad a Largo Plazo	26
a) Toxicidad Crónica	26
5. USO DE PLANTAS EN MEDICINA	27
6. PLANTAS MEDICINALES EN LA TERAPEUTICA	30
7. PLANTAS MEDICINALES EN BOLIVIA	35
8. SEGURIDAD DE USO DE PLANTAS MEDICINALES	39

a. Calidad, Seguridad y Eficacia de las Plantas Medicinales	40
1) Calidad	41
2) Seguridad	42
3) Eficacia	42
9. <i>URTICA URENS</i> L	44
a. Clasificación Taxonómica	44
b. Sinónimos	45
c. Nombres Comunes	45
d. Distribución Geográfica	45
e. Características Botánicas	45
1) Raíz	45
2) Tallo	45
3) Hojas	46
4) Flores	46
5) Frutos	46
6) Semillas	46
f. Metabolitos Secundarios	46
g. Usos Tradicionales	47
h. Investigaciones de las Actividades Biológicas	48
10. <i>PIPER ELONGATUM</i> Poir	53
a. Clasificación taxonómica	53
b. Sinónimos	54
c. Nombres Comunes	54
d. Distribución Geográfica	54
e. Características Botánicas	54
1) Raíz	54
2) Tallo	54
3) Hojas	55
4) Flores	55
5) Fruto	55

6) Semilla	55
f. Metabolitos Secundarios	55
g. Usos Tradicionales	56
h. Investigaciones de las Actividades Biológicas	58
i. Actuales Usos Prácticos	60
V. JUSTIFICACIÓN	62
VI. MATERIALES Y MÉTODOS	63
A. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN	63
B. MATERIALES: REACTIVOS, MATERIAL FUNGIBLE y EQUIPOS	63
1. REACTIVOS	63
2. MATERIAL FUNGIBLE Y OTROS	63
3. EQUIPOS	64
C. ESPECIES VEGETALES	65
D. EXTRACTO DE PLANTAS	65
E. ENSAYOS EXPERIMENTALES	66
1. ENSAYOS DE TOXICIDAD AGUDA Y SUB-AGUDA	68
2. EFECTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL DE RATONES	68
3. EVALUACIÓN DE LA TEMPERATURA CORPORAL	69
4. EVALUACIÓN DEL PESO CORPORAL	69
a. Evaluación del Consumo de Agua y Comida	69
5. EVALUACION DEL PESO DE ÓRGANOS	69
6. PRUEBAS HEMATOLÓGICAS	70
a. Recuento Total de Glóbulos Rojos	70
b. Hemoglobina	70
c. Hematocrito	70
d. Velocidad de Sedimentación Globular	71
e. Índices Eritrocitarios	71
f. Recuento Total de Glóbulos Blancos	71
g. Recuento Diferencial	71

7. PRUEBAS BIOQUIMICAS	72
F. ASUNTOS ÉTICOS	73
G. CUESTIONES ESTADÍSTICAS	73
VII. RESULTADOS	74
A. TOXICIDAD AGUDA	74
1. <i>URTICA URENS L</i>	74
a. DL50	74
b. Comportamiento General	74
c. Temperatura Rectal de Ratones	75
d. Peso Corporal	86
e. Peso de Órganos	88
f. Pruebas Hematológicas	89
g. Pruebas Bioquímicas	91
2. <i>PIPER ELONGATUM Poir</i>	93
a. DL50	93
b. Comportamiento General	93
c. Temperatura Rectal de Ratones	95
d. Peso Corporal	106
e. Peso de Órganos	111
f. Pruebas Hematológicas	113
g. Pruebas Bioquímicas	115
B. TOXICIDAD SUB-AGUDA	117
1. <i>URTICA URENS L.</i> y <i>PIPER ELONGATUM Poir</i>	117
a. Comportamiento General	117
b. Temperatura Rectal de Ratones	119
c. Peso Corporal	120
d. Peso de Órganos	123
e. Pruebas Hematológicas	124
f. Pruebas Bioquímicas	126
VII. DISCUSIÓN	128

VIII. CONCLUSIÓN	137
IX. RECOMENDACIONES	139
X. BIBLIOGRAFÍA	140
ANEXOS	149

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°1: ESPECIES ANIMALES MÁS EMPLEADAS EN ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS.....	10
Cuadro N°2: TIPOS DE INVESTIGACIONES TOXICOLÓGICAS EXPERIMENTALES.....	11
Cuadro N°3: PLANTAS AMERICANAS CITADAS EN LAS FARMACOPEAS DE LOS PAISES INDUSTRIALIZADOS (Cáceres, 1993; Fransworth y Akerele, 1989; Balandrin y Klocke, 1988).....	32
Cuadro N°4: ALGUNAS PLANTAS AMERICANAS DE LA MEDICINA TRADICIONAL CON PROPIEDADES FARMACOLOGICAS PROMISORIAS (Cáceres, 1992).....	34
Cuadro N°5: PLANTAS MEDICINALES CON MAYOR POTENCIALIDAD	36
Cuadro N°6: PRODUCTOS EN EL MERCADO EN ALGUNOS ESTADOS MIEMBROS.....	51
Cuadro N°7: PRODUCTOS EN EL MERCADO ALEMÁN.....	52
Cuadro N°8: USOS ETNOMEDICINALES DEL MATICO A NIVEL MUNDIAL.....	57
Cuadro N°9: USOS ACTUALES DEL MATICO.....	61

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 1. EFECTOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg HASTA LOS 120 min. y 4 hrs. DE EVALUACIÓN.....	75
Tabla. N° 2. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	76
Tabla. N° 3. INFLUENCIA DEL EHA-UU A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	85
Tabla N° 4. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	87
Tabla N° 5. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS DE 5000 mg/Kg SOBRE EL CONSUMO DE COMIDA Y AGUA DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	87
Tabla. N°6. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO DE ÓRGANOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	89
Tabla. N° 7. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE LOS RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	90
Tabla. N° 8. INFLUENCIA DEL EHA-Uu A DOSIS DE 5000 mg/Kg SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	92
Tabla N° 9. EFECTOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 mg/Kg HASTA LOS 60 min. DE EVALUACIÓN.....	94

Tabla N° 10. EFECTOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg HASTA LOS 60 min., 4 y 8 hrs. DE EVALUACIÓN.....	94
Tabla. N° 11. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	96
Tabla. N° 12. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	110
Tabla N° 13. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	107
Tabla N° 14. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS DE 3000 Y 5000 mg/Kg SOBRE EL CONSUMO DE COMIDA Y AGUA DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	108
Tabla. N°15. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg DE PESO CORPORAL SOBRE EL PESO DE ÓRGANOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	112
Tabla. N°16. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg DE PESO CORPORAL SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	114
Tabla. N° 17. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	116
Tabla N° 18. EFECTOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EHA-Uu A DOSIS DE 1000mg/Kg HASTA LAS 4 hrs. y 4º DÍA DE EVALUACIÓN.....	118

Tabla N° 19. EFECTOS SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL EN RATONES HEMBRAS Y MACHOS DESPUÉS DE LA ADMINISTRACIÓN ORAL DEL EHA-Pe A DOSIS DE 1000mg/Kg HASTA LAS 24 hrs., 4º DÍA y 12º - 13º DÍA DE EVALUACIÓN.....	118
Tabla. N° 20. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	119
Tabla N° 21. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE LOS RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	121
Tabla N° 22. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE EL CONSUMO DE COMIDA Y AGUA DE LOS RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	121
Tabla. N° 23. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE EL PESO DE ÓRGANOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	124
Tabla. N° 24. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE LOS PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	125
Tabla. N° 25. INFLUENCIA DE LOS EHA-Uu y EHA-Pe A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE LOS PARÁMETROS BIOQUÍMICOS DE RATONES HEMBRAS Y MACHOS.....	127

INDICE DE FIGURAS

Figura N° 1. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LOS 15 min. DE EVALUACIÓN.....	77
Figura N° 2. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LOS 30 min. DE EVALUACIÓN.....	77
Figura N° 3. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LOS 60 min. DE EVALUACIÓN.....	78
Figura N° 4. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LOS 120 min. DE EVALUACIÓN.....	78
Figura N° 5. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LAS 4 HORAS DE EVALUACIÓN.....	79
Figura N° 6. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LAS 8 HORAS DE EVALUACIÓN.....	79
Figura N° 7. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS HASTA LAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	80
Figura N° 8. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LOS 15 min. DE EVALUACIÓN.....	80
Figura N° 9. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LOS 30 min. DE EVALUACIÓN.....	81

Figura N° 10. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LOS 60 min. DE EVALUACIÓN.....	81
Figura N° 11. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LOS 120 min. DE EVALUACIÓN.....	82
Figura N° 12. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LAS 4 HORAS DE EVALUACIÓN.....	82
Figura N° 13. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LAS 8 HORAS DE EVALUACIÓN.....	83
Figura N° 14. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Uu A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS HASTA LAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	83
Figura N° 15. INFLUENCIA DEL EHA-UU A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS.....	84
Figura N° 16. INFLUENCIA DEL EHA-UU A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS.....	84
Figura N° 17. INFLUENCIA DEL EHA-UU A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	85
Figura N° 18. INFLUENCIA DEL EHA-UU A DOSIS ÚNICA DE 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	86

Figura N° 19. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LOS 15 min. DE EVALUACIÓN.....	97
Figura N° 20. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LOS 30 min. DE EVALUACIÓN.....	97
Figura N° 21. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LOS 60 min. DE EVALUACIÓN.....	98
Figura N° 22. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LOS 120 min. DE EVALUACIÓN.....	98
Figura N° 23. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LAS 4 HORAS DE EVALUACIÓN.....	99
Figura N° 24. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LAS 8 HORAS. DE EVALUACIÓN.....	99
Figura N° 25. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS A LAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	100
Figura N° 26. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LOS 15 min. DE EVALUACIÓN.....	100
Figura N° 27. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LOS 30 min. DE EVALUACIÓN.....	101
Figura N° 28. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LOS 60 min. DE EVALUACIÓN.....	101

Figura N° 29. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LOS 120 min. DE EVALUACIÓN.....	102
Figura N° 30. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LAS 4 HORAS DE EVALUACIÓN.....	102
Figura N° 31. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LAS 8 HORAS DE EVALUACIÓN.....	103
Figura N° 32. INFLUENCIA DE LA ADMINISTRACIÓN DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS A LAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	103
Figura N° 33. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES HEMBRAS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	104
Figura N° 34. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES MACHOS DURANTE LAS PRIMERAS 24 HORAS DE EVALUACIÓN.....	104
Figura N° 35. INFLUENCIA DEL EHA-PE A DOSIS ÚNICA DE 3000 Y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE LOS RATONES HEMBRAS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	105
Figura N° 36. INFLUENCIA DEL EHA-PE A DOSIS ÚNICA DE 3000 Y 5000 mg/Kg SOBRE LA TEMPERATURA RECTAL DE LOS RATONES MACHOS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN.....	106
Figura N° 37. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES MACHOS EN EL 1° DÍA DE EVALUACIÓN.....	108
Figura N° 38. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES MACHOS EN EL 7° DÍA DE EVALUACIÓN.....	109

Figura N° 39. INFLUENCIA DEL EHA-Pe A DOSIS ÚNICA DE 3000 y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES MACHOS EN EL 14º DÍA DE EVALUACIÓN..... 109

Figura N° 40. INFLUENCIA DEL EHA-PE A DOSIS ÚNICA DE 3000 Y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES MACHOS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN..... 110

Figura N° 41. INFLUENCIA DEL EHA-PE A DOSIS ÚNICA DE 3000 Y 5000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRAS DURANTE LOS 14 DÍAS DE EVALUACIÓN..... 110

Figura N° 42. INFLUENCIA DE LOS EHA-UU Y EHA-PE A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES HEMBRAS DURANTE LOS 14 Y 28 DÍAS DE EVALUACIÓN RESPECTIVAMENTE..... 122

Figura N° 43. INFLUENCIA DE LOS EHA-UU Y EHA-PE A DOSIS CONTINUA DE 1000 mg/Kg SOBRE EL PESO CORPORAL DE RATONES MACHOS DURANTE LOS 14 Y 28 DÍAS DE EVALUACIÓN RESPECTIVAMENTE..... 122

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°1. Lugar de recolección de la planta medicinal <i>Urtica urens</i> L. - Jesús de Machaca, Provincia Ingavi del Departamento de La Paz.....	149
Anexo N°2. Recolección de la planta medicinal <i>Urtica urens</i> L.....	149
Anexo N°3. Lugar de recolección de la planta medicinal <i>Piper elongatum</i> Poir. - Localidad de Chulumani, Provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz.....	150
Anexo N°4. Recolección de la planta medicinal <i>Piper elongatum</i> Poir.....	150
Anexo N°5. Clasificación e identificación de las plantas medicinales <i>Urtica urens</i> L. y <i>Piper elongatum</i> Poir. por el Herbario Nacional de Bolivia, La Paz – Bolivia.....	151
Anexo N°6. Maceración y obtención del extracto hidro-alcohólico líquido de las plantas estudiadas.....	151
Anexo N°7. Equipos utilizados en la obtención del extracto hidro-alcohólico seco de las plantas estudiadas.....	152
Anexo N°8. Obtención del extracto hidro-alcohólico seco de las plantas estudiadas.....	152
Anexo N°9. Ambientación y distribución en grupos de estudio de los animales en experimentación.....	153
Anexo N°10. Evaluación del comportamiento general de los animales en experimentación.....	153
Anexo N°11. Evaluación del peso corporal de los animales en experimentación.....	154
Anexo N°12. Evaluación del peso de comida y volumen de agua de los animales en experimentación.....	154
Anexo N°13. Evaluación de la temperatura corporal de los animales en experimentación.....	155

Anexo N°14. Disección de los animales en experimentación para obtención de órganos.....	155
Anexo N°15. Obtención de órganos de los animales en experimentación.....	156
Anexo N°16. Peso de cada uno de los órganos de los animales en experimentación.....	156
Anexo N°17. Obtención de muestra sanguínea de los animales en experimentación para las pruebas hematológicas y bioquímicas.....	157
Anexo N°18. Preparación de las muestras sanguíneas para análisis de las pruebas hematológicas de los animales de experimentación.....	157
Anexo N°19. Preparación de las muestras sanguíneas para análisis de las pruebas bioquímicas de los animales de experimentación.....	158
Anexo N°20. Tabla de evaluación de comportamiento general 24 horas.....	159
Anexo N°21. Tabla de evaluación de comportamiento general 14 días.....	160
Anexo N°22. Tabla de registro de peso de comida y volumen de agua.....	161
Anexo N°23. Tabla de registro de peso de órganos.....	161
Anexo N°24. Tabla de registro de parámetros hematológicos.....	162
Anexo N°25. Tabla de registro de parámetros bioquímicos.....	162

ABREVIATURAS

EHA-Uu = Extracto hidro-alcoholico *Urtica urens*
EHA-Pe = Extracto hidro-alcoholico *Piper elongatum*
DL50 = Dosis Letal Media
GR = Glóbulos rojos
Hb = Hemoglobina
Ht = Hematocrito
GB = Glóbulos blancos
Linf. = Linfocitos
Segm. = Segmentados
Mono. = Monocitos
VSG = Velocidad de sedimentación globular
VCM = Volumen Corpuscular Medio
Gluc = Glucosa
Crea = Creatinina
U = Urea
AU = Acido úrico
Chol-T = Colesterol total
TG = Trigliceridos
FA = Fosfatasa alcalina
ALAT/GPT = Alanino aminotransferasa

RESUMEN

En el presente estudio se determinó el perfil de toxicidad aguda y sub-aguda de los extractos hidro-alcohólicos de las especies *Urtica urens* L. (EHA-Uu)y *Piper elongatum* Poir (EHA-Pe), plantas medicinales utilizadas tradicionalmente en Bolivia para afecciones inflamatorias, reumáticas e infecciosas. Se adoptó un diseño experimental y los ensayos experimentales comprenden: determinación de la DL50, influencia de los extractos sobre la temperatura rectal, peso corporal, peso de órganos, parámetros hematológicos y bioquímicos.

Los resultados obtenidos muestran que ambos extractos presentan efectos sobre el comportamiento general en grado variable en ratones machos, en los cuales se observaron modificaciones de la habilidad prensil, la piloerección y conducta pasiva. Por otra parte, con dosis de 5000 mg/Kg y 1000 mg/Kg para ambos extractos se observó que los ratones hembras presentaron un aumento significativo del peso del hígado, acompañado del aumento de fosfatasa alcalina sérica. Con dosis de 5000 mg/Kg del EHA-Pe y con dosis de 1000 mg/Kg de ambos extractos se observó también un aumento significativo en el peso de los riñones acompañado del aumento de los niveles de creatinina y urea. Estos resultados sugieren un posible efecto tóxico que, sin embargo, podrían ser atribuibles a las elevadas dosis de los extractos utilizados en el ensayo experimental.

Sobre la base de los resultados obtenidos, los EHA-Uu y EHA-Pe presentan un perfil toxicológico cuyos efectos observados a nivel de: peso de órganos (hepático y renal) y perfiles hematológico y bioquímico serían atribuibles a las altas dosis utilizadas en este estudio.

Palabras claves: *Urtica urens* L., *Piper elongatum* Poir, toxicidad aguda, toxicidad sub-aguda, extracto hidro-alcohólico.

ABSTRACT

In this study, we determined the acute and sub-acute toxicity profile of the hydro-alcoholic extracts of *Urtica urens* L. and *Piper elongatum* Poir, medicinal plants used traditionally in Bolivia for inflammatory, rheumatic and infectious diseases. The experimental design comprise the following experimental tests: determination of the LD50, effects of extracts on: rectal temperature, body weight, organ weights, hematological and biochemical parameters.

Results shown that both extracts have significant effects on the general behavior in male mice; in these, modifications in the prehensile ability, piloerection and passive behavior were observed at different intensity. Furthermore, using doses of 5000mg/kg and 1000mg/kg, for both extracts, female mice showed a significant increase of the liver weight, and serum alkaline phosphatase levels. With a dose of 5000mg/kg of the hydro-alcoholic extract of *P.elongatum* and a dose of 1000mg/kg of both extracts it was observed a significant increase in the weight of the kidney accompanied by increased levels of serum creatinine and urea. These results suggest a possible toxic effect due to the high dose of the used extracts in the experimental test.

Based on the results obtained, the studied extracts presents a toxicological profile characterized by an increased level of organ weights (liver and kidney), and different changes on the hematological and biochemical profiles, attributable to the high doses used in this study.

Keywords: *Urtica urens* L., *Piper elongatum* Poir, acute toxicity, sub-acute toxicity, hydro-alcoholic extract.

INTRODUCCIÓN.-

El conocimiento empírico acerca de las plantas medicinales probablemente haya comenzado con la observación de los hombres en las costumbres que presentaban los animales, adquiriendo cierta experiencia en manipularlas y entender sus efectos curativos, conocimientos que acumularon durante milenios y posteriormente pasó a ser parte integral de sistemas y tradiciones curativas de diversas culturas a nivel mundial.¹

Se sabe que el primer texto escrito sobre el uso de plantas medicinales tiene unos 4000 años de antigüedad y aparece en una tablilla de arcilla en la cultura de los sumerios, un antiguo pueblo que vivía al sur de los ríos Éufrates y Tigris, lo que equivaldría al actual Iraq. Asimismo, podemos mencionar a culturas como Egipto, Grecia que hacían uso de las plantas para curar las enfermedades y mantener un buen estado de salud.

Sin embargo, no es hasta el descubrimiento del nuevo mundo cuando los colonizadores europeos llegaron a América, que se quedaron fascinados por los conocimientos que poseían los nativos del uso medicinal de las plantas. Estos conocimientos estaban en manos de los chamanes, que eran los que tenían el poder de utilizar “la magia” y las plantas medicinales para curar las enfermedades. Fueron muchas las expediciones posteriores de botánicos y herbalistas que buscaban un mayor conocimiento de las propiedades curativas de las plantas. Ya en 1552 se escribía el primer libro de Medicina de México y América, por Martín de la Cruz, un médico azteca que asistía al Colegio de Tlatelolco, escribió un libro de herbolaria en idioma azteca y Juan Bernardino, otro alumno azteca, lo tradujo al latín: "Libellus de Medicinalibus, Indorum Herbis".²

El conocimiento de las plantas medicinales se extiende a cualquier parte del mundo, donde el hombre tradicionalmente la ha necesitado para curar sus enfermedades, es por eso que Bolivia no podía quedar indiferente al aporte de

estos conocimientos donde la información pasada de generación en generación ha permitido que hasta el día de hoy se siga manteniendo en la mayoría de las comunidades indígenas. Asimismo, estos conocimientos han llevado al surgimiento de numerosos estudios de investigación que se llevan a cabo en la actualidad.

Así como las plantas presentan grandes beneficios curativos también se ha podido demostrar en estudios de toxicidad que algunas plantas de uso tradicional, en diferentes partes del mundo, muestran efectos indeseables o tóxicos, lo que pone una limitante al uso indiscriminado o no racional de las mismas. Tales estudios, no se extendieron aún lo suficiente con respecto a las plantas medicinales bolivianas, existiendo en su defecto poca información.

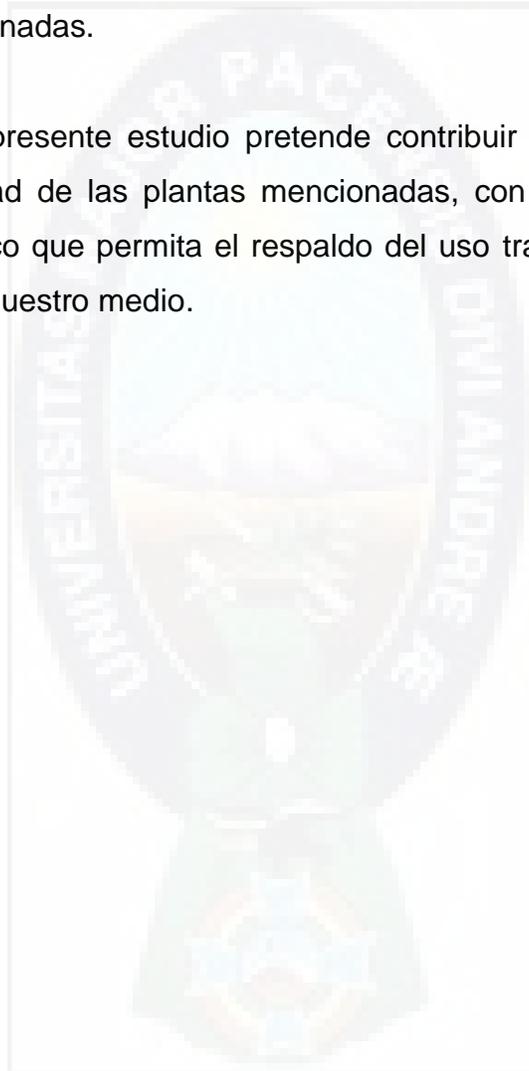
La toxicidad de los fitoquímicos, los extractos de origen vegetal, los suplementos dietéticos y plantas medicinales en general, es de importancia médica y debe ser considerado en fitoterapia y otros usos de las plantas, debido a la gran utilización que se da gracias al alto potencial de ingesta que estos presentan.³

En Bolivia el uso de plantas medicinales tiene una raíz ancestral y muchas poblaciones originarias hacen uso de ella para cubrir sus principales necesidades de salud. Los usos más comunes reportados por la medicina tradicional boliviana se orientan al dolor, fiebre, inflamación, antimicrobianos (bactericidas, antiparasitarios y antivirales), enfermedades del sistema nervioso central, problemas gastrointestinales, afecciones del tracto respiratorio y de la piel.

Dos especies frecuentemente utilizadas en nuestro país, para afecciones inflamatorias y por sus propiedades antiartríticas, son las especies: *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir. De estas dos plantas se ha reportado sus actividades biológicas a través de estudios de investigación en animales de

experimentación sobre todo en universidades y centros de investigación a nivel mundial. Particularmente, se ha venido desarrollando estos trabajos en el Departamento de Farmacología del Instituto de Investigaciones Fármaco – Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés, donde se ha demostrado que estas especies muestran actividad: antiinflamatoria, antiartrítica, etc.. Sin embargo, no se dispone de información sobre el perfil toxicológico de las especies mencionadas.

Es así, que el presente estudio pretende contribuir con información sobre el perfil de toxicidad de las plantas mencionadas, con el fin de aportar con un sustento científico que permita el respaldo del uso tradicional de estas plantas medicinales en nuestro medio.



II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.-

La gran problemática de los países en vías de desarrollo, es que aún existe una limitación en el acceso a atención médica, por lo que la sociedad decide recurrir en muchos casos a la utilización de remedios “caseros o populares” como las plantas medicinales, ya sea para paliar sus enfermedades o contrarrestar aquellas enfermedades en donde el acceso a un medicamento no es posible o representan un elevado costo acceder a ellas.

En ocasiones el uso prolongado o masivo puede ser no racional con posible riesgo de manifestaciones adversas o tóxicas. Sin embargo, está claramente establecido que el uso de medicamentos convencionales en su generalidad presenta reacciones adversas desde manifestaciones sutiles hasta graves y más aún si se genera toxicidad por sobre dosificación, con efectos graves para el paciente.

Si bien se sabe que las plantas medicinales son benéficas para muchas enfermedades, usos que han sido transmitidos de generación en generación, es importante aportar con información científica que avale las propiedades atribuidas a ellas referido sobre todo a eficacia y seguridad. No precisamente por ser productos naturales son inocuos, y se ha reportado muchas manifestaciones adversas sobre plantas utilizadas frecuentemente con fines medicinales. Asimismo, de las especies *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir, si bien se ha demostrado experimentalmente sus propiedades, aun no se dispone de información respecto del perfil de toxicidad; que es lo que se ha determinado en este estudio.

III. OBJETIVOS.-

A. OBJETIVO GENERAL.-

- Determinar la toxicidad aguda y sub-aguda en ratones de los extractos hidro-alcohólicos de las especies *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir. plantas medicinales utilizadas tradicionalmente en Bolivia para afecciones inflamatorias, reumáticas e infecciosas.

B. OBJETIVOS ESPECIFICOS.-

- Determinar la toxicidad aguda oral en ratones (Dosis Letal Media) a dosis única de los extractos hidro-alcohólicos de las especies *Urtica urens* L. (EHA-Uu) y *Piper elongatum* Poir. (EHA-Pe).
- Determinar la toxicidad sub-aguda por administración oral a dosis repetidas de EHA-Uu y EHA-Pe, durante 14 y 28 días.
- Determinar la influencia de EHA-Uu y EHA-Pe sobre el comportamiento general de ratones.
- Determinar la influencia de la administración oral de EHA-Uu y EHA-Pe sobre la temperatura rectal de ratones.
- Determinar la influencia de la administración oral de EHA-Uu y EHA-Pe sobre el peso corporal de ratones.
- Determinar la influencia de la administración oral de EHA-Uu y EHA-Pe sobre el peso de órganos de ratones.
- Determinar la influencia de los EHA-Uu y EHA-Pe sobre los parámetros hematológicos de ratones.
- Determinar la influencia de los EHA-Uu y EHA-Pe sobre los parámetros bioquímicos de ratones.

IV. ANTECEDENTES.-

A. MARCO TEORICO.-

1. INTRODUCCIÓN.-

La toxicología, es la ciencia que estudia las sustancias tóxicas y las alteraciones que éstas producen en el hombre y las especies útiles, con el fin de prevenir, diagnosticar y tratar sus efectos nocivos.⁴

En 1854, el toxicólogo ruso E.V. Pelikan empezó a estudiar la relación existente entre la estructura química de una sustancia y su actividad biológica, es decir, la relación estructura-actividad. La estructura química determina directamente las propiedades fisicoquímicas, algunas de las cuales son responsables de la actividad biológica. La toxicología mecanicista estudia cómo interactúan los agentes químicos o físicos con los organismos vivos para producir la toxicidad.⁵

La evaluación y clasificación de una sustancia se puede considerar como un proceso técnico-administrativo de carácter dinámico y permanente, mediante el cual se establecen las condiciones de seguridad para su uso y manejo.

El objetivo de este proceso es establecer, hasta donde sea posible, el riesgo para la salud, que ofrece una sustancia y la forma de controlarlo, teniendo en cuenta no sólo la toxicidad de la sustancia, sino las diferentes variables que van a tener las poblaciones ocupacional y ambientalmente expuestas por el manejo y uso de estas sustancias.

Aunque la evaluación y clasificación inicial de una sustancia no permite establecer y controlar todos los riesgos, sí contribuye en gran medida al conocimiento de la naturaleza de éstos y a su control, teniendo en cuenta las características de algunos efectos, los cuales son susceptibles de evitar, ha generado en las instituciones y organismos relacionados con el control de sustancias químicas, una intensificación en todo tipo de investigación y experimentación en esta área, dado el alto grado de prevención que se puede

lograr para el cuidado de la salud, considerándose que anualmente ingresan al consumo aproximadamente entre 500 y 1000 sustancias químicas nuevas.⁶

Las intoxicaciones por vegetales son relativamente infrecuentes en nuestro medio. En determinadas circunstancias, períodos de hambruna, guerra, etc., la incidencia de cuadros de intoxicación por algunos vegetales aumenta significativamente. El primer autor que publicó una relación extensa de plantas medicinales y tóxicas fue Dioscórides. Ciertas plantas poseen en sus órganos diversos tóxicos que al ser ingeridos pueden causar serios trastornos e incluso la muerte. Según la Organización Mundial de la Salud, medio millón de personas, especialmente niños mueren todos los años por ingesta de plantas venenosas.

De siempre, el agricultor ha evitado las plantas irritantes o bien urticantes por experiencias pasadas o por un conocimiento puramente empírico. Dentro del ambiente urbano los casos de intoxicación en excursiones, jardines privados e incluso en el seno del hogar por el grupo ornamental, son mucho más elevados fundamentalmente por desconocimiento de sus efectos. Las distintas costumbres sociales y religiosas llevan al uso y abuso de muchas sustancias que pueden ocasionar intoxicaciones agudas o crónicas. Sería suficiente mencionar el alcohol, el tabaco, la marihuana, el yagé, etc.^{4, 6}

Es necesario mencionar que los nuevos sistemas de la llamada medicina naturista, donde se acude a formas terapéuticas a base de hierbas como supuestamente medicinales, reportan periódicamente casos de intoxicación con fatales consecuencias, derivadas de la dificultad que entraña el cálculo de la dosis de cada principio activo, presumiendo que este varía según: edad de la planta, zonas geográficas, variaciones climatológicas, estado del suelo.⁶

Las nuevas sustancias químicas que van a ser empleadas como medicamentos, alimentos o agroquímicos deben evaluarse previamente, para

determinar los riesgos de dañar la salud antes que su uso se generalice. Para ello se han desarrollado caros y complejos sistemas de pruebas de corto plazo; estas pruebas se han dividido en *in vitro* e *in vivo*, en el entendido a que se refiere al empleo de células aisladas o modelos animales. En los últimos tiempos se ha puesto mucho énfasis en los sistemas *in vitro* dado el ahorro de tiempo, recursos materiales y factores relacionados con las campañas de protección de animales. Sin embargo, estas baterías de pruebas por sí solas son insuficientes para evaluaciones globales de toxicidad, y los estudios *in vivo* de dosis repetidas, son imprescindibles y mantienen toda su vigencia.⁷

Para el proceso de evaluación cuando la revisión se hace con base únicamente en estudios de experimentación animal, conviene hacer la consideración de que la extrapolación de datos obtenidos en animales, al hombre, presenta en la mayoría de los casos gran dificultad, lo cual requiere el aporte bien informado de varias disciplinas científicas. Con base a los resultados de las pruebas toxicológicas no se puede obtener datos de absoluta seguridad de las sustancias para el hombre. Sin embargo, sí orientan en cuanto a la toxicidad relativa de un compuesto y contribuyen a identificar probables indicadores y mecanismos de acción en el hombre. Del análisis de las propiedades físicas, químicas, características de la formulación, dosis y forma de aplicación, se puede deducir el riesgo probable al que se va exponer la población frente a un determinado producto y del análisis de los estudios de toxicidad se puede deducir el grado de riesgo potencial para la salud de la población expuesta.⁶

2. PRINCIPIOS DE LA EXPERIMENTACIÓN TOXICOLÓGICA.-

La experimentación toxicológica se fundamenta en una serie de principios básicos:

1º Es posible reproducir experimentalmente en animales la mayoría de los procesos tóxicos: algunos autores como Litchfield en 1962, comparando 89 efectos de 6 tóxicos sobre rata, perro y hombre, llegaron a la conclusión de que

cuando un efecto no aparece en ninguna de las dos primeras especies, tampoco lo hará en el hombre, pero si el tóxico afecta a una sola de aquellas, también afectará al hombre.

2º La aplicación a animales de dosis altas de tóxicos, es un procedimiento útil para descubrir posibles peligros para el hombre: el número de individuos sobre los que se realiza la experimentación está limitado en la práctica en comparación con las amplias poblaciones que estarán expuestas. Por ello, para obtener resultados estadísticamente válidos, es preciso emplear dosis suficientemente altas para que los efectos ocurran con la suficiente frecuencia para ser detectados.

3º Es posible extrapolar cuantitativamente a humanos muchos de los efectos tóxicos observados en animales.⁸

a. El Sustrato Biológico / Especie Animal.-

Es el material, generalmente orgánico, vivo o no, sobre el que se aplica el xenobiótico. Puede tratarse de un cultivo celular, una enzima, un animal, etc. Por ello, como se mencionó con anterioridad, es que se distingue entre experimentación *in vitro* e *in vivo*, donde se sobreentiende que un estudio *in vivo* es efectuado sobre un organismo completo, y que un estudio *in vitro* es el que se verifica sobre una parte del mismo, generalmente en un recipiente, que clásicamente era de vidrio.

El empleo de animales de experimentación por los primitivos farmacólogos y toxicólogos fue sistematizado por Trevan en 1927 para la determinación de la dosis letal por vía oral, evolucionando en gran medida desde entonces. La selección de la especie animal se realiza atendiendo a criterios de disponibilidad, sensibilidad y similitud.

En relación con la disponibilidad o conveniencia, en general se utilizan animales pequeños por razones económicas que condicionan la infraestructura, consumo de alimentos, gasto de producto y eliminación de residuos. La comodidad de manejo, reproducción y suministro, hacen que los más empleados sean rata, ratón, conejo, cobayo, hámster y perro como se ve en el cuadro N°1.

Cuadro N°1: ESPECIES ANIMALES MÁS EMPLEADAS EN ESTUDIOS TOXICOLÓGICOS⁸

Tipo de Estudio	Especie de Elección	Especie alternativa
Toxicidad aguda	Rata, ratón	
Toxicidad por dosis repetidas	Rata	Ratón, mono, perro
Carcinogenicidad	Rata, ratón	
Mutagenicidad	Ratón	
Desarrollo y reproducción	Rata, conejo	Ratón, hámster, mono
Neurotoxicidad	Rata	Ratón, gallina
Inmunotoxicidad	Ratón, cobayo	Rata

b. Selección de la Dosis y Grupos.-

La selección de la dosis aplicada a cada grupo experimental dependerá del tipo de estudio que se desee realizar, siendo enormemente útil la realización previa de ensayos piloto.

En los ensayos de toxicidad aguda se utilizan al menos tres grupos, para permitir una demostración clara de la relación dosis-respuesta.

En los ensayos por dosis repetidas, lo ideal es que la dosis menor no produzca toxicidad, pero que sea superior a la exposición esperada en humanos; que la intermedia sea ligeramente tóxica; y que la mayor sea claramente tóxica pero sin llegar a provocar la muerte a más del 10% de los individuos del grupo.

c. Elección de la Vía de Exposición.-

En los ensayos experimentales con animales, la exposición se realiza de acuerdo con el tipo de producto y la posible vía por la que el hombre lo pueda

absorber. Así, un medicamento oral, cutáneo o parenteral requerirá tales vías de experimentación; un contaminante atmosférico deberá ser estudiado por las vías inhalatoria y cutánea.⁸

3. TIPOS DE INVESTIGACIONES TOXICOLÓGICAS EXPERIMENTALES.-

Según su finalidad, podemos establecer tres tipos de investigaciones: a) la regulada, b) la no regulada y c) las actividades de enseñanza y formación. Estos tipos de investigación se muestran en el cuadro N°2.

Cuadro N°2: TIPOS DE INVESTIGACIONES TOXICOLÓGICAS EXPERIMENTALES⁸

A. Investigación regulada o evaluación toxicológica:	Registro de nuevas sustancias o productos, como medicamentos, fitosanitarios, productos industriales, etc., con fines clasificatorios y de evaluación del riesgo o la seguridad mediante:	La evaluación del peligro
		La cinética y metabolismo en el organismo, y su degradación ambiental
	Control y monitorización de la contaminación	
B. Investigación no regulada:	Investigación básica: mecanismos de acción, interacciones, etc.	
	Investigación aplicada:	La selección o tamizado de nuevas sustancias
		El diagnóstico o la monitorización de la presencia de sustancia
C. Experimentación docente y formativa		

4. ENSAYOS TOXICOLÓGICOS.-

a. Modelos de Toxicidad *in vivo*.-

Los ensayos de toxicidad, son los bio-ensayos empleados para reconocer y evaluar los efectos de los contaminantes sobre la biota. En los bioensayos se usa un tejido vivo, organismo, o grupo de organismos, como reactivo para evaluar los efectos de cualquier sustancia fisiológicamente activa.

Estos ensayos, básicamente, consisten en la exposición de grupos de organismos, a determinadas concentraciones del tóxico por un tiempo determinado. Los organismos deben estar en buenas condiciones de salud, previamente aclimatados a las condiciones del ensayo, y se mantienen en condiciones ambientales constantes. Además se dispone de grupos de control (que no se exponen al tóxico). Luego se miden y registran los efectos biológicos observados en cada uno de los grupos control y tratados y, posteriormente, se efectúa un análisis estadístico de los datos obtenidos. Estos ensayos pueden ser:

- ✓ Aguda
- ✓ A corto plazo
- ✓ A largo plazo
- ✓ Estudios especiales ^{6, 8}

1) Toxicidad Aguda Oral.-

Este método proporciona información destinada tanto a la evaluación de los riesgos como a su clasificación.

El método emplea una o tres dosis fijas, separadas de forma conveniente para permitir la clasificación del compuesto a partir de los resultados del estudio, y con él no se puede calcular una DL50 precisa, sino determinar una gama de efectos por exposición en la que puede esperarse la aparición de letalidad, ya que la muerte de una parte de los animales sigue siendo su parámetro principal.^{9, 10, 11}

a) La Dosis Letal Media (DL50).-

La DL50, es la dosis única de una sustancia de la que cabe esperar que, administrada por vía oral, estadísticamente cause la muerte de la mitad de de los animales de experimentación a los que se les ha administrado la sustancia. El valor de la DL50 se expresa en términos de masa de la sustancia suministrada por peso de animal sometido al ensayo (mg/kg). Los valores de DL50 dependen de varios factores: el sistema biológico o animal, la raza, sexo, edad, dieta, etc.^{9, 10, 12, 13}

Clasificación de las sustancias según la DL50 vía oral ⁸

Muy tóxica	≤ 25 mg/Kg
Tóxica	≤ 250 mg/Kg
Nociva	≤ 2000 mg/Kg
Sin toxicidad aguda	≥ 5000 mg/Kg

b) Definición del Método.-

La determinación de la toxicidad aguda incluye los efectos nocivos que se manifiestan durante un período dado (habitualmente 14 días), después de la administración de una dosis única de una sustancia.¹¹

c) Descripción del Método.-

Se selecciona al azar animales jóvenes sanos, se marca para permitir su identificación individual y se mantienen en sus jaulas durante al menos 5 días antes del inicio del estudio, a fin de que se aclimaten a las condiciones de laboratorio.

La sustancia estudiada se administra en una sola dosis a los animales directamente con sonda gástrica o canulación adecuada. Es necesario que la sustancia estudiada sea disuelta o suspendida en un vehículo apropiado. El volumen máximo de líquido que puede administrarse de una vez, depende del tamaño del animal utilizado. En el caso de los roedores, el volumen no debe superar en principio 1 mL/ 100 g de peso corporal; no obstante en soluciones

acuosas puede considerarse la posibilidad de administrar 2 mL/ 100 g de peso corporal.

Los animales se mantienen en ayunas antes de la administración (desde el día anterior en el caso de la rata o durante tres, cuatro o seis horas en el caso del ratón). No se debe privar de agua a los animales.¹¹

d) Observaciones generales.-

Se debe realizar observaciones clínicas cuidadosas al menos dos veces en el día de la administración, o con mayor frecuencia si así lo indica la respuesta de los animales al tratamiento, y posteriormente al menos una vez al día. Todas las observaciones basadas en el test de Irwin (test Hipocrático), se deben registrar sistemáticamente en fichas individuales para cada animal.^{10, 8}

e) Peso Corporal.-

Todos los animales deben ser pesados antes de la administración de la sustancia y después al menos una vez por semana. Se debe calcular y registrar los cambios de peso. Al final de la prueba, los animales supervivientes se pesan antes de ser sacrificados convenientemente.

f) Necropsia Macroscópica.-

Todos los animales sometidos al ensayo, incluidos los que mueren durante su realización, se someten a necropsia macroscópica. Se registran los cambios patológicos macroscópicos de cada animal. Puede considerarse también la realización del examen microscópico de los órganos que presenten huellas de patología macroscópica, en los animales que sobrevivan un mínimo de 24 horas, ya que este examen puede proporcionar información útil.^{10, 8}

g) Pruebas Hematológicas.-

El término citometría hemática (CH) es el más adecuado para referirse a la medición de las células de la sangre a través de las conocidas pruebas

hematológicas, las cuales pueden dividirse en tres grupos: Serie roja, serie blanca y serie trombocítica, los cuales nos permiten establecer sospechas diagnósticas definidas sobre alteraciones producto de enfermedades u otros.¹⁴ Los marcadores correspondientes a estos grupos se desarrollan según las referencias bibliográficas 14 y 15.

(1) Recuento Total de Glóbulos Rojos (GR).-

Cuando la eritropoyesis ocurre normalmente, el resultado final es la producción de un eritrocito perfectamente diferenciado y apto para su función principal que es la de transportar oxígeno y CO₂. La ausencia de núcleo le confiere la virtud de transportar el oxígeno sin consumir prácticamente nada de él; su forma bicóncava es la que mejor se presta para afrontar la hemólisis; su membrana no admite la salida de hemoglobina.

El incremento de la cifra de eritrocitos en sangre se llama eritrocitosis que puede estar asociada a diversas patologías. El descenso del número de eritrocitos puede concluir a anemia, y puede deberse a una pérdida de sangre por hemorragia, hemólisis o la alteración en la formación de eritrocitos en la médula ósea. El número de eritrocitos se mide en millones por microlitro (10⁶/μL), los valores “normales” o “de referencia” dependen de: edad, género, altura del sitio de residencia, etc.

(2) Hemoglobina (Hb).-

Es una proteína que contiene hierro, se encuentra en los glóbulos rojos y es la encargada del transporte de oxígeno por la sangre desde los pulmones a los tejidos, también transporta el dióxido de carbono hasta los pulmones desde donde es exhalado al aire.

Este parámetro debe ser el único que se emplee para definir si hay o no anemia, es decir, si los valores son inferiores a los valores normales se puede asegurar que existe anemia. Los valores de hemoglobina dependen de la edad, género, altura del sitio de residencia, etc.

(3) Hematocrito (Ht).-

Es la relación porcentual v/v existente entre el volumen ocupado por el paquete globular y el volumen de sangre total, mediante la aplicación de una fuerza de centrifugación de velocidad constante (3500 rpm) durante un periodo de tiempo también constante (5 min).

El hematocrito al igual que el número de hematíes y la concentración de hemoglobina varía con la edad, género, altura del sitio de residencia, etc.

Un valor disminuido de hematocrito suele ser signo de anemia, sin embargo hay falsos descensos producidos por ejemplo en la hipovolemia fisiológica del embarazo donde existe una hemodilución. Un valor elevado suele ser signo de padecimiento de poliglobulia, sin embargo también puede dar falsos ascensos producido por hemoconcentración que se da por ejemplo en una deshidratación. Se mide en porcentaje (%).

(4) Velocidad de Sedimentación Globular (VSG).-

La determinación de la velocidad de sedimentación globular se fundamenta en el comportamiento de los eritrocitos frente a la fuerza de gravedad en un tiempo determinado dentro de una columna disminuyendo su carga electrostática donde se observan 3 fases: hemoaglutinación (los eritrocitos forman agregados en forma de pilas de monedas), sedimentación (se desplazan los eritrocitos hacia el fondo de la columna a velocidad constante) y compactación o depósito (acúmulo de los eritrocitos). La VSG se altera siempre que hay un desequilibrio humoral o condiciones patológicas sobre todo de tipo infeccioso o inflamatorio aunque también por otro tipo de causas. Se mide en milímetros (mm).

(5) Índices Eritrocitarios.-

Sirven para clasificar a los eritrocitos de acuerdo a su tamaño y contenido de hemoglobina. Se utiliza el hematocrito y la cuenta de eritrocitos para calcular los índices:

(a) Volumen Corpuscular Medio (VCM).-

Se mide en femtolitros (fL), este índice eritrocítico es de gran valor en el esclarecimiento de la causa de una anemia. Los valores de VCM permiten saber si una anemia es macrocítica (VCM mayor a los valores normales) o microcítica (VCM menor a los valores normales).

(b) Hemoglobina Corpuscular Media (HCM).-

Se expresa en picogramos (pg) y representa la cantidad promedio de hemoglobina en cada eritrocito. Este índice debe ser el único que se emplee para referirse a la cantidad de hemoglobina contenida en cada eritrocito: se habla de hipocromía o normocromía cuando el valor de la HCM sea subnormal o normal respectivamente.

(c) Concentración Media de la Hemoglobina Corpuscular (CMHC).-

Se mide como porcentaje (%), es un dato de referencia menos útil e inexacto.

(6) Recuento Total de Glóbulos Blancos (GB).-

Los leucocitos o glóbulos blancos constituyen un conjunto de células con funciones diversas. La leucopoyesis es un proceso que se lleva a cabo con gran actividad, ya que los leucocitos ayudan a la defensa del organismo frente a diferentes sustancias o agentes patógenos (fagocitosis e inmunidad). Cuando los valores se encuentran elevados se habla de leucocitosis cuyas causas pueden ser: infecciones agudas, intoxicaciones, hemorragia aguda, hemólisis aguda, padecimientos mielo o linfoproliferativos, necrosis tisular y condiciones fisiológicas; cuando se encuentran disminuidos los leucocitos se habla de leucopenia cuyas causas pueden ser: infecciones bacterianas, virales y otras, también por acción de algunos medicamentos . Se mide en miles de millones por litro ($10^9/L$). El número de leucocitos depende de muchos factores como: edad, peso, hábito de tabaquismo, etc.

(7) Recuento Diferencial.-

La cuenta leucocitaria diferencial es el conteo del número de los distintos tipos de leucocitos. Estas células tienen la característica de poseer núcleo y organelos citoplasmáticos, lo que permite su fácil diferenciación morfológica de los eritrocitos y plaquetas.

En este recuento total circulante se reconoce 5 tipos de leucocitos que son:

(a) Neutrófilos.-

Su citoplasma es incoloro y tiene múltiples granos color gris; o puede ser multilobulado. Si la cifra de neutrófilos está disminuida se habla de neutropenia y si están elevados se habla de neutrofilia.

Las causas de neutrofilia pueden ser infecciones agudas, intoxicaciones, condiciones fisiológicas (estrés, ejercicio, menstruación), inflamaciones, etc. y las causas de neutropenia pueden deberse a la idiosincrasia o la absorción de sustancias de elevada toxicidad, una inadecuada producción de la médula ósea o bien por una elevada destrucción de glóbulos blancos en la circulación. La anemia aplásica.

(b) Eosinófilos.-

Son redondos u ovalados, el núcleo posee no más de tres lóbulos y en el citoplasma se observa gránulos color naranja. Cuando existe un aumento de eosinófilos se habla de una eosinofilia cuyas causas pueden ser: enfermedades alérgicas, infestaciones por parásitos, enfermedades infecciosas, gastrointestinales, etc.

(c) Basófilos.-

Se caracterizan por sus grandes granulaciones azul oscuro. Estos gránulos son hidrosolubles. Niveles aumentados de los normales de basófilos se conoce como basofilia donde las causas pueden ser: leucemia mieloide crónica,

metaplasia mieloide, enfermedad de Hodgkin, etc. Dado que normalmente no puede haber basófilos en sangre periférica, es imposible definir la basopenia que, no obstante, se ha descrito en tirotoxicosis, síndrome de Cushing, etc.

(d) Linfocitos.-

Su citoplasma es azul pálido y la cromatina nuclear color púrpura azulado oscuro; el núcleo abarca casi todo el citoplasma. El aumento de linfocitos, conocido como linfocitosis, puede deberse a infecciones (virus, bacterias), leucemia linfática crónica y la disminución de linfocitos, conocido como linfocitopenia, puede darse durante un breve período a causa de un estrés agudo y debido a tratamientos que incluyan corticosteroides, como la prednisona, quimioterapia para el cáncer y radioterapia.

(e) Monocitos.-

Su núcleo suele ser arriñonado. Contiene una red de cromatina. El citoplasma se tiñe de un color azul grisáceo y contiene finas granulaciones color rosa. Cuando el recuento de monocitos excede se llama monocitosis, cuyas causas son: leucemias, tuberculosis, metaplasia mieloide agnógena, enfermedad de Hodgkin, etc.

h) Pruebas Bioquímicas.-

Los exámenes de sangre son usados para determinar estados fisiológicos y bioquímicos tales como una enfermedad, contenido mineral, eficacia de drogas, y función de los órganos.

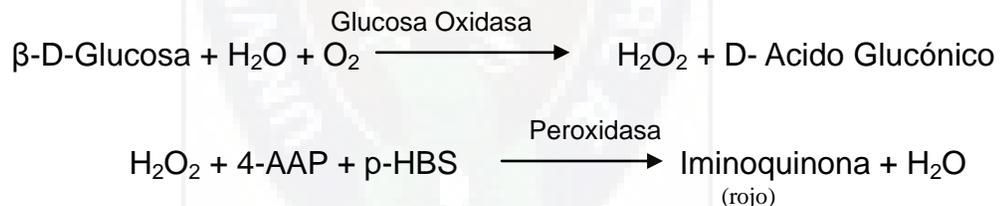
La venopunción es útil porque es una manera relativamente no invasiva para obtener células, y fluido extracelular (plasma) del cuerpo para el análisis. Puesto que la sangre fluye a través del cuerpo actuando como un medio para proporcionar oxígeno y nutrientes, y retirando residuos y llevándolos a los sistemas excretorios para su eliminación, el estado de la circulación sanguínea afecta, o es afectado, por muchas condiciones médicas. Por estas razones, los

exámenes de sangre son los exámenes médicos más comúnmente realizados. Los fundamentos desarrollados a continuación fueron tomados de los respectivos Kits de reactivos, utilizados en las diferentes pruebas.

(1) Glucosa.-

La glucosa es el principal carbohidrato presente en la sangre periférica. La oxidación de la glucosa es la principal fuente de energía celular en el cuerpo. Las determinaciones de glucosa se realizan primordialmente como ayuda en el diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus. Niveles elevados de glucosa pueden estar asociados con pancreatitis, disfunción pituitaria o tiroidea, falla renal y enfermedad del hígado, mientras que niveles bajos de glucosa pueden estar asociados con hipopituitarismo, insulinoinducida, neoplasias o hipoglicemia. El ensayo de glucosa ha sido modificado sobre la base del método de Trinder.

La secuencia de la reacción enzimática utilizada en el ensayo de glucosa es la siguiente:

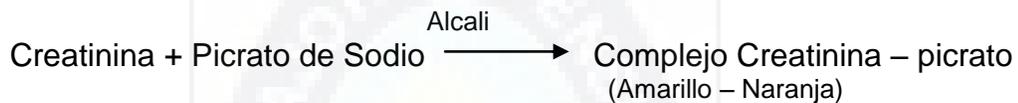


La β -D-Glucosa es oxidada por la glucosa oxidasa para producir ácido D-glucónico y Peróxido de hidrógeno. El Peróxido de hidrógeno es luego acoplado oxidativamente con la 4-aminoantipirina (**AAP**) y el sustituto del fenol, p-Hidroxibencensulfonato (**p-HBS**), en presencia de la Peroxidasa para producir un marcador rojo de tipo quinoneimina, el cual se absorbe a 510 nm. La cantidad del complejo coloreado formado es proporcional a la concentración de glucosa.

(2) Creatinina.-

La creatinina, un anhídrido de creatina, es un producto de desecho formado por el constante metabolismo que sufre la creatina fosfato, presente en los

músculos, que después de ser generada es lanzada hacia la corriente sanguínea, siendo eliminada del cuerpo por medio de los riñones. Independientemente de la dieta, la concentración de creatinina en suero depende casi por completo del grado de excreción por los riñones. Por esta razón, su elevación es altamente específica para enfermedades renales. El ensayo de determinación de la creatinina se basa en la reacción de creatinina con picrato alcalino como fue descrito por Jaffe.

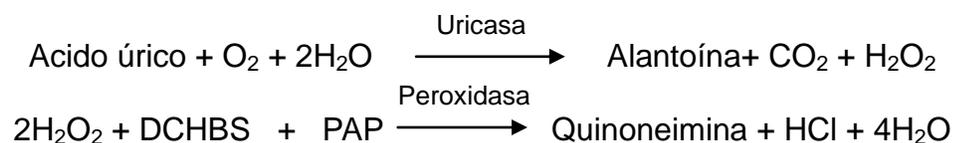


La creatinina reacciona con el ácido pícrico en condiciones alcalinas para formar un complejo de color amarillo-naranja, el cual se absorbe a 510 nm. El grado de formación de color es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

(3) Acido Úrico.-

El ácido úrico es el producto final del metabolismo de las purinas. Casi la mitad del ácido úrico es eliminado y reemplazado cada día por la vía de la excreción urinaria y a través de la degradación microbiana en el tracto intestinal. Niveles elevados de ácido úrico están comúnmente asociados con la retención de urea y nitrógeno, así como de creatinina y otros constituyentes no proteínicos. La cuantificación de ácido úrico es de ayuda en el diagnóstico de gota, disminución de la función renal, desordenes mieloproliferativos y en otras condiciones en las cuales, la causa de hiperuricemia no es conocida.

La secuencia de la reacción enzimática utilizada en el ensayo de determinación de ácido úrico es la siguiente:



El ácido úrico es convertido por la uricasa a Alantoina y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno formado reacciona por la acción catalítica de la peroxidasa con ácido 3,5- dicloro- 2- hidroxibenzenesulfónico (**DHBS**) y 4- aminofenazona (**PAP**) para producir un complejo rojo-violeta de quinoneimina como indicador, el cual es medido a 520 nm, y es proporcional a la cantidad de peróxido de hidrógeno generado desde ácido úrico.

(4) Urea.-

La Urea es el principal producto final del metabolismo del nitrógeno proteico. Es sintetizado en el hígado a partir del amoníaco. La determinación de urea sérica, es un indicador importante de la función renal. Un daño en la función renal o un incremento en la descomposición del tejido proteínico están asociados con el incremento de los niveles de urea, mientras que, la disminución de los niveles, está relacionada con daño del hígado o con embarazo. Sin embargo, no debe dejarse de lado el hecho de que los valores séricos de urea se encuentran íntimamente relacionados con la dieta y el metabolismo proteico, por lo que cualquier alteración en estas variables se traducirá en un cambio de la concentración de urea en suero.

La reacción de Berthelot ha sido usada por mucho tiempo para medir urea y amoníaco. El presente método es una modificación del método de Berthelot:

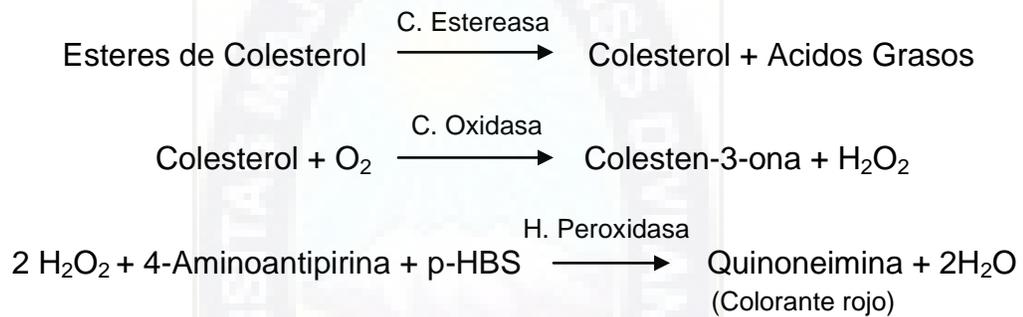


La urea se hidroliza por acción de la ureasa en presencia de agua para producir amoníaco y dióxido de carbono. Posteriormente, los iones de amonio reaccionan con hipoclorito y salicilato, para producir un complejo verde. El aumento de la absorbancia a 578 nm es proporcional a la concentración de urea en la muestra.

(5) Colesterol.-

El colesterol es una sustancia grasa que se encuentra en la sangre, bilis y tejido cerebral. Sirve como un precursor de ácidos biliares, esteroides y vitamina D. La determinación de colesterol en suero es la principal ayuda en el diagnóstico y clasificación de lipemias. Otras condiciones como enfermedades hepáticas tiroideas influyen en los niveles de colesterol.

La secuencia de la reacción enzimática utilizada en el ensayo de colesterol es la siguiente:

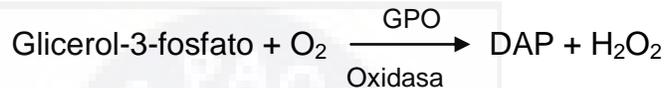


Los esteres de colesterol son hidrolizados para producir colesterol. El peróxido es entonces producido a partir de la oxidación de colesterol por la enzima colesterol oxidasa. En una reacción acoplada, catalizada por la peroxidasa, el marcador rojo coloreado de quinoneimina es formado a partir de 4-aminoantipirina, p-hidroxibencensulfonato (**p-HBS**) y peróxido de hidrógeno. La absorción a 520 nm de la solución de este colorante es proporcional a la concentración de colesterol en la muestra.

(6) Triglicéridos.-

Los triglicéridos son esteres de ácidos grasos y son hidrolizados a glicerol y ácidos grasos libres. Las determinaciones de triglicéridos cuando son realizadas en forma conjunta con otros ensayos de lípidos, son útiles para el diagnóstico de hiper-lipoproteinemias primaria y secundaria. También estas son de interés para evaluar el curso de diabetes mellitus, nefrosis, obstrucción biliar y varias anomalías metabólicas ligadas a alteraciones endocrinas.

La secuencia de la reacción enzimática empleada en el ensayo de triglicéridos es la siguiente:

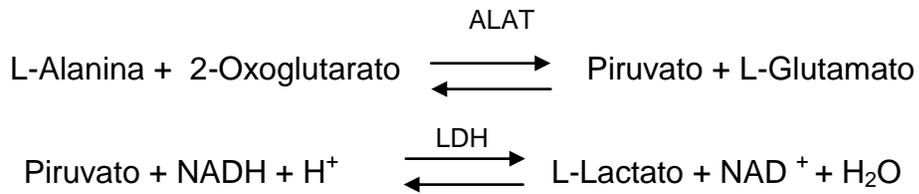


Los triglicéridos incubados con lipoproteinlipasa (**LPL**) liberan glicerol y ácidos grasos libres. El glicerol es fosforilado por glicerolfosfato deshidrogenasa (**GPO**) y ATP en presencia de glicerol quinasa para producir glicerol-3-fosfato y adenosina-5-difosfato (**ADP**). El G3P es entonces convertido a dihidroxiacetona fosfato (**DAP**) y peróxido de hidrogeno (H₂O₂) por GPO. Al final, el H₂O₂, reacciona con AAP y DHBS, reacción catalizada por la peroxidasa dando la formación de un marcador de quinoneimina (una coloración roja). La cantidad del marcador formado, determinada por su absorción a 520 nm, es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos en las muestras.

(7) Alanina Aminotransferasa.-

La enzima alanina aminotransferasa (ALAT) está ampliamente reportada en una variedad de fuentes de tejidos. La mayor fuente de ALAT es de origen hepático y ha sido orientada para la aplicación de determinaciones de ALAT en el estudio de enfermedades hepáticas. Niveles elevados en suero son encontrados en hepatitis, cirrosis e ictericia obstructiva.

La secuencia de la reacción enzimática utilizada en el ensayo de determinación de ALAT es la siguiente:



El piruvato formado en la primera reacción es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (**LDH**) y nicotinamida adenina dinucleótida (**NADH**). El piruvato endógeno de la muestra es convertido a lactato por LDH durante la fase de pre-incubación anterior a la medida. La actividad de ALAT es determinada midiendo la tasa de oxidación de NADH a 340 nm.

(8) Fosfatasa Alcalina.-

Está distribuido en casi todo el tejido del cuerpo, los niveles de fosfatasa alcalina sérica (ALP) son de interés en el diagnóstico de desórdenes hepato-biliares y enfermedad ósea. La mayoría de ALP en suero normal de un adulto proviene del hígado o del tracto biliar. Niveles normales de fosfatasa alcalina dependen de la edad y los niveles son elevados durante el periodo de crecimiento activo de los huesos. Elevaciones moderadas de fosfatasa alcalina (que no involucran el hígado o los huesos) podrían ser atribuidos a la enfermedad de Hodgkin, falla congestiva de corazón e infecciones bacterianas abdominales. Niveles elevados también pueden ocurrir en el tercer trimestre de gestación.

La secuencia de la reacción enzimática utilizada en el ensayo de determinación de Fosfatasa alcalina es la siguiente:



El p-Nitrofenilfosfato es incoloro pero el p-Nitrofenol tiene una mayor absorbancia a 405 nm. La proporción del incremento de la absorbancia a 405 nm es proporcional a la actividad enzimática.

2) Toxicidad a Corto Plazo.-

a) Toxicidad Sub-aguda.-

Este estudio es particularmente valioso para determinar los efectos tóxicos más sutiles de una sustancia química, los órganos más afectados y si los efectos son reversibles al cesar la exposición. Las manifestaciones se registran en el periodo que va desde el primer día hasta los 14 días de exposición o hasta las 4 semanas según sea el periodo más conveniente para el estudio. La administración del fármaco se lleva a cabo diariamente cualquiera sea el periodo de exposición que se esté siguiendo. También se controlan diariamente un buen número de parámetros y al final son sacrificados y antes de la autopsia, se toman muestras de sangre y orina para ser analizadas. La autopsia consiste en el examen macroscópico de las vísceras y tejidos y en la toma de especímenes para su examen anatómico-patológico.^{6, 4, 10}

b) Toxicidad Sub-crónica.-

Este estudio tiene características similares a los anteriores en cuanto al número de animales, número de dosis, observaciones, etc. Los estudios de toxicidad sub-crónica suelen durar 3 meses. Esta toxicidad es la que se manifiesta en el periodo que va desde los 15 días hasta los tres meses de exposición.^{10, 16, 4}

3) Toxicidad a Largo Plazo.-

a) Toxicidad Crónica.-

Este estudio tiene características similares a los anteriores en cuanto al número de animales, número de dosis, observaciones, etc. Los estudios de toxicidad crónica suelen durar 6 meses o un año, según el uso terapéutico que vaya a tener la sustancia. Esta toxicidad es la que se manifiesta en el periodo que va desde los tres a los seis meses de exposición. Los efectos que más suelen buscarse en este tipo de estudios son las enfermedades degenerativas, principalmente cáncer, y su capacidad para alterar la reproducción.

Los valores encontrados en los estudios de toxicidad sub-aguda o crónica que no producen efectos tóxicos se denominan: “Nivel sin efecto tóxico observado” (NOEL), los cuales se aplican para el cálculo de los niveles permisibles en alimentos o en diferentes elementos del medio ambiente, o el “nivel mínimo de efecto adverso observable” (LOAEL) y después se divide ese valor por factores de incertidumbre o seguridad (por lo general múltiplos de 10) para tener en cuenta aspectos como la falta de datos, la sensibilidad potencialmente mayor de los humanos y la variabilidad de la respuesta humana debido a la edad u otros factores. La cifra resultante se denomina dosis de referencia (RfD) o concentración de referencia (RfC). Para determinar el LOAEL o el NOAEL suele utilizarse el efecto que se produce al nivel de dosis más bajo en la especie animal más sensible. La transformación de dosis empleadas en animales a dosis empleadas en humanos se realiza mediante métodos normalizados de dosimetría trans-especies, teniendo en cuenta las diferencias en materia de duración de vida y de exposición del fármaco.^{6, 4, 5}

Sin embargo por acuerdo internacional, siguiendo la metodología de la Organización de Cooperación y Desarrollo Económicos (OCDE), para evitar confusiones, se sustituyó la expresión “toxicidad sub-aguda” por la de toxicidad sub-crónica y finalmente por la de toxicidad por dosis repetidas (OCDE, 1995), para aludir a ensayos con administraciones diarias, durante un periodo de tiempo inferior de 10 % de la vida media del animal empleado.⁸

Los efectos por exposiciones prolongadas y de órgano diana se estudian básicamente en ensayos por dosis repetidas durante 14, 28 días por vía oral (OCDE GT 407), dérmica (GT 410) e inhalatoria (GT 412) y posteriormente en estudios de 90 días (OCDE GT 408).⁸

5. USO DE PLANTAS EN MEDICINA.-

Desde tiempos remotos el hombre hizo uso de las plantas con fines alimenticios y medicinales, aprendiendo primero del comportamiento de los animales y luego

a través de su propio instinto, generado en base al método del acierto y el error (conocimiento empírico). De esta manera supo distinguir entre especies beneficiosas y dañinas, constituyendo el primer escalón en la extensa historia de la fitoterapia.

La historia de las plantas medicinales supo cosechar épocas de esplendor (medicina griega, árabe) y también épocas de oscurantismo (edad media), transitando firme e incólume hasta los días actuales. Existen en sus vertientes dos fuertes corrientes: una enraizada en el conocimiento ancestral y popular (fitoterapia clásica), y otra apoyada por la metodología de investigación científica (fitomedicina). En una gran cantidad de casos la ciencia moderna, a través de la *farmacognosia*, la *fitoquímica* y la *biología molecular* ha certificado y corroborado lo que el saber popular sostuvo y avaló durante siglos.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha determinado que alrededor del 80% de la población mundial utiliza la medicina tradicional para atender las necesidades primarias de salud. Tanto en los países desarrollados como los que se encuentran en vías de desarrollo se ha incrementado la utilización de las plantas medicinales o productos derivados de éstas, lo que ha traído consigo un aumento en el interés científico y en la comprobación científica de las propiedades atribuidas a las plantas medicinales. La OMS acordó promocionar la medicina tradicional y establecer pautas para la identificación de medicamentos herbarios que sean inocuos y eficaces.¹⁷

En 1994, esta organización publicó una Guía para Formulación de Políticas Nacionales para Hierbas Medicinales. En la misma se destaca el importante papel que tienen las plantas medicinales en diferentes trastornos o patologías.

Este organismo ha elaborado y publicado también, muchos documentos de referencia como: Métodos de Control de Calidad para Materiales Elaborados con Plantas Medicinales; Guías Generales para Metodologías sobre el Estudio y Valoración de la medicina Tradicional; Monografías sobre Plantas Medicinales

Seleccionadas; Guías Generales para Metodologías sobre la Investigación entre otras.

Las Monografías de Plantas Medicinales de la OMS proporcionan información científica sobre seguridad, eficacia y control de calidad de plantas medicinales ampliamente utilizadas. Estos contienen sumarios concisos de características botánicas, principales constituyentes químicos, y control de calidad de cada especie así como un sumario de aplicaciones clínicas, posología, probables contraindicaciones y precauciones y potenciales interacciones y efectos adversos.¹⁸

La débil situación económica de los países de América Latina, el oligopolio de las empresas internacionales y las leyes de protección de patentes impuestas a los países de la región, hacen prever que el acceso de la población a los medicamentos será más deficitario en el futuro.¹⁹

Actualmente el uso de medicamentos convencionales se encuentra muy establecido, pero no podemos dejar de lado las reacciones adversas, tóxicas y los efectos secundarios generados por las drogas de síntesis, lo cual lejos de desdeñarlas, nos advierten que su empleo no está exento de riesgos, debiendo con ellas actuar en el momento oportuno y con el paciente adecuado. En el preciso caso de las enfermedades crónicas es donde muchas de estas drogas de síntesis no cumplen con los objetivos preestablecidos, y por contraposición, los fito-medicamentos se erigen en una alternativa altamente positiva y probablemente con menores efectos secundarios o adversos.

En ese sentido, no es ajeno a ello que en la actualidad las principales firmas farmacéuticas del mundo estudien, investiguen y desarrollen nuevos medicamentos provenientes del reino vegetal, ya sea a través del empleo de la planta entera, al aislamiento de sus principios activos o a través de la hemisíntesis química tomando como punto de partida una molécula vegetal. De esta manera comprenderemos porqué el mercado de fito-medicamentos crece

día a día, ocupando por ejemplo en Europa o Estados Unidos casi el 40% de los productos que comprenden el circuito comercial farmacéutico. Basta mencionar algunas de las hierbas *top* que forman parte de este mercado: *Ginkgo biloba*, *Hypericum perforatum*, *Cimicifuga racemosa*, *Hydrastis canadensis*, *Piper methysticum*, *Echinacea spp.*, *Aloe vera*, *Serenoa repens*, *Allium sativum*, *Vitis vinifera* o el conocido *Panax ginseng*.

Existen en el mundo unas 250 mil especies vegetales de las cuales sólo se han investigado científicamente el 10%, considerándose como medicinales alrededor de 12 mil especies en total. Esto no significa que el resto no sea medicinal, sino que aún carecen de evidencia científica que las avale como tales. Teniendo en cuenta el escaso conocimiento de las especies que pueblan el planeta y la alta demanda poblacional de las mismas, comprenderemos que es muy largo el camino que aún queda por recorrer y muchos los medicamentos que restan por descubrir para lograr que el hombre tenga la calidad de vida que merece.

Para cumplir con este objetivo, el estudio sistemático de las plantas medicinales debe encararse desde un punto de vista multidisciplinario, invitando a participar a todas aquellas ciencias integradas al estudio de la vida y el hombre: *agronomía*, *antropología*, *biología*, *botánica*, *ecología*, *etnomedicina*, *farmacognosia*, *farmacología*, *toxicología*, etc.²⁰

6. PLANTAS MEDICINALES EN LA TERAPEUTICA.-

Fansworth y Akerele (1989; 1991) refirieron la existencia de por lo menos 125 distintas sustancias químicas de origen vegetal que pueden ser catalogadas como fármacos importantes y que se encuentran en uso en uno o más países. Estos medicamentos tienen una amplia gama de usos terapéuticos y se obtienen principalmente de unas 95 especies de plantas, las cuales podrían adaptarse para su cultivo y utilización prácticamente en todos los países. "No obstante es preciso investigar si las plantas son capaces de producir el principio

activo que interesa, cuando se cultivan en biótomo distinto del originario. Hay que estudiar asimismo los aspectos económicos del cultivo de dichas plantas y de la extracción de sus principios activos". De este grupo de drogas, 49 (37%) se comercializan corrientemente en los Estados Unidos; las otras 76 (63%) se usan en otros países y todavía necesitan investigaciones para determinar totalmente su seguridad y eficacia en relación con las regulaciones de la Administración de Drogas y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) antes de poder ser vendidas en el mercado de los Estados Unidos. De las 95 especies vegetales involucradas en la producción de esas 125 drogas, 39 son plantas originadas en o alrededor de las zonas tropicales húmedas del mundo.

En este grupo de 125 sustancias químicas de origen vegetal, destaca en forma importante la contribución de la flora del Nuevo Mundo, en el Cuadro N° 3 se presentan las plantas americanas citadas en las farmacopeas de los países industrializados. En esta lista hay muchas plantas amazónicas, a pesar de que éstas han sido escasamente investigadas, lo que significa que hay una oferta extraordinaria de fármacos para el futuro.

Como se conoce, en los últimos años hay un creciente interés en el estudio de los recursos naturales para la medicina y la salud, por lo que se han multiplicado las investigaciones sobre la validación fitoquímica, farmacológica y clínica de numerosos principios activos derivados de los vegetales. La investigación desde luego está sujeta a varias contingencias que son el resultado de las limitaciones de los recursos humanos y materiales; esta situación es especialmente grave cuando estos trabajos son realizados en los países de América Latina. En el Cuadro N° 4 se presenta un grupo de plantas promisorias originarias de América con gran potencial para el desarrollo de nuevas drogas.

Las plantas medicinales contribuyen al fortalecimiento de los programas de salud, y también a la economía del país. Son diferentes las formas en que se

aprovechan las plantas: como materia prima: como extractos alcohólicos o acuosos, en forma semi-purificada o también como sustancias puras o semi-sintéticas. La población usa y seguirá usando las plantas; más aún, éstas ocuparán un espacio cada vez mayor conforme siga creciendo la población mundial, la mayor parte de la cual no tendrá acceso a los medicamentos de la industria farmacéutica. Para el año 2.020 la población mundial habrá alcanzado la cifra de 7.5 mil millones de habitantes, de los cuales el 75% vivirá en países en vías de desarrollo que hoy consumen menos del 15% del mercado farmacéutico, lo que hace suponer que esta masa poblacional buscará cada vez más el recurso de las plantas medicinales para satisfacer sus necesidades de salud.²¹

Cuadro N°3: PLANTAS AMERICANAS CITADAS EN LAS FARMACOPEAS DE LOS PAISES INDUSTRIALIZADOS ²¹

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	COMPOSICION	USO
<i>Agave sisalana</i>	Sisal	Sapogeninas esferoidales	Contraceptico
<i>Ananas comosus</i>	Piña	Bromelaína	Proteolítico, Antiflamatorio
<i>Capsicum annum</i>	Aji, uchu, chile	Capsicina	Calmante, Psoriasis
<i>Carica papaya</i>	Papaya	Papaína	Mucolítico, Proteolítico
<i>Cephaelis ipecacuana</i>	Ipecacuana	Emetina	Emético, Amebicida
<i>Chondodendron tomentosum</i>	Curare	D´tubocurarina	Relajante muscular
<i>Cinchona sp</i>	Quina	Quinina	Antimalárico
<i>Datura sp</i>	Floripondio	Escopolamina	Sedativo
<i>Dioscorea floribunda</i>	Ñame, inhame	Diosgenina	Contraceptivo
<i>Erytroxylum coca</i>	Coca	Cocaína	Anestésico local, Estimulante
<i>Hydrastys canadensis</i>	Goldenseal	Hydrastina	Hemostático, Astringente
<i>Larrea divaricata</i>	Gobernadora	Acido Norbiihidroguaiarético	Antioxidante

<i>Lobelia inflata</i>	Tabaco silvestre	& Lobelina	Expectorante, Estimulante respiratorio
<i>Lonchocarpus nicou</i>	Barbasco	Rotenona	Ictiotóxico
<i>Liquidambar styraciflua</i>	Sweet gum	Storax	Diurético, pectoral
<i>Myroxilon balsamum</i>	Bálsamo de tolú	Bálsamo	Pectoral
<i>Nicotiana tabacum</i>	Tabaco	Nicotina	Insecticida
<i>Ocotea glaziovii</i>	Aguacatillo	Glaziovina	Antidepresivo
<i>Peumus boldus</i>	Boldo	Boldina	Colerético, Hepatoprotector
<i>Pilocarpus jaborandi</i>	Jaborandi	Pilocarpina	Glaucoma, Anticolinérgico
<i>Podophyllum peltatum</i>	Mandrake americano	Podofilotoxina	Condiloma acuminado
<i>Rauwolfia tetraphylla</i>	Serpentina americana	Alcaloides	Tranquilizante, Hipotensivo
<i>Rhamnus purshiana</i>	Cáscara sagrada	Cascarosides	Laxante, Antihemoroidal
<i>Sanguinaria canadensis</i>	Sanguinaria	Sanguinaria	Inhibidor placa dental
<i>Sassafras albidum</i>	Sassafras	Safrol	Diurético, Diaforético
<i>Simarouba glauca</i>	Aceituno	Glaucarubina	Amebicida, Antimalárico
<i>Smilax spp</i>	Zarzaparrilla	Sapogeninas	Antireumático, Psoriasis
<i>Theobroma cacao</i>	Cacao	Teobromina	Diurético, Estimulante
<i>Turnera diffusa</i>	Damiana	Damianina	Antidepresivo, Purgante
<i>Veratrum viride</i>	American hellebore	Alcaloides	Hipertensión

En negrita las plantas originarias o que también se producen en la Región Amazónica

Cuadro N°4: ALGUNAS PLANTAS AMERICANAS DE LA MEDICINA TRADICIONAL CON PROPIEDADES FARMACOLOGICAS PROMISORIAS ²¹

NOMBRE CIENTIFICO	NOMBRE COMUN	COMPOSICION	USO
<i>Acourtia cuernavacana</i>	Pipizáhuac	Perezona	Laxante
<i>Anarcadium occidentale</i>	Marañon	Taninos	Antiinflamatorio
<i>Baccharis trímera</i> (hojas)		Desconocida	Antiinflamatorio, antihepatotóxico
<i>Casearia silvestre</i> (hojas)		Desconocida	Antiulcerogénica
<i>Casimiroa edulis</i> (semillas)	Matasano	Casimiroina/fagarina	Hipertensión
<i>Cissampelos pareira</i> (raiz)	alcotan	Cissampelina	Relajante muscular
<i>Copaiba reticulata</i> (corteza)	Copaiba	Oleoresina	Antiinflamatorio
<i>Croton lechleri</i> (savia)	Sangre drago	Taspina	Cicatrizante, antiviral
<i>Eryngium heterophyllum</i> (hojas)	Yerba de sapo	Desconocida	Hipotensiva, anticolerstoromiente
<i>Genipa americana</i> (hojas)	Caruto, huito	Iridoides	Antitumoral
<i>Guatteria guameri</i> (corteza)	Elemuy		Litolítico
<i>Gossypium sp.</i> (raiz)	Algodón	Gossypol	Contraceptivo, masculino
<i>Heteroteca inuloides</i> (hojas)	Arnica	Desconocida	Antiinflamatorio
<i>Montanoa tomentosa</i> (hojas)	Zoapatle	Desconocida	Contraceptivo masculino
<i>Neurolaena lobata</i> (hojas)	Gavilana	Germacranolides	Hipoglicemiante

<i>Opuntia estrepocanta</i> (hojas)	Tuna	Desconocida	Hipoglicemiante
<i>Petiveria alliacea</i> (raiz)	Apacín	Bencil polisulfides	Desórdenes hepáticos
<i>Stevia rebaudiana</i> (hojas)	Stevia	Stevioside	Edulcorante
<i>Talauma mexicana</i> (flores)	Yolloxóchitl	Glucósidos	Cardiotónico
<i>Taxus brevifolia</i> (corteza)	Yew	Taxol	Citotóxico, anticáncer
<i>Tecota stans</i> (hojas/corteza)	Timboco	Tecomine/sacharan C	Hipoglicemiante, diurético

En negrita las que se encuentran en la Amazonia.

7. PLANTAS MEDICINALES EN BOLIVIA.-

Algunos autores como Girault recoge la información sobre uso de 850 especies por los Callahuayas (Curanderos) incluyendo el componente taxonómico; sin embargo, otros estudios de diferentes etnias como Guaraníes, Tacanas, etc., realizados por Universidades y Consultorías respaldan que en Bolivia en las regiones andina, amazónica y Chaco, existen alrededor de 2500 especies vegetales con uso demostrado a través de la praxis y validados por su uso a lo largo de períodos históricos.

Los usos más comunes reportados por la medicina tradicional boliviana se orientan al dolor, fiebre e inflamación, enfermedades del sistema nervioso central, problemas gastrointestinales, afecciones del tracto respiratorio y de la piel, antimicrobianos (bactericidas, antiparasitarios, antivirales). Sin embargo, el conjunto de plantas que conforman el ecosistema en el que participan los humanos, no provee solo nutrientes, en términos estrictos (requerimientos esenciales y no esenciales), sino también de elementos que contribuyen a la salud humana (y de los seres vivos que los consumen); entre estos se encuentran los elementos que promueven, favorecen, modulan o regulan

ciertos mecanismos homeostáticos tales como antioxidantes, reguladores del peristaltismo intestinal, reguladores de la libido, moduladores de la respuesta inmunitaria, etc., etc. Estos llamados *nutracéuticos* han sido recientemente valorados por la medicina oficial, no obstante su antiguo y extenso uso practicado por las corrientes naturistas del cuidado de la salud.^{22, 23}

Para establecer las especies más representativas se ha realizado una clasificación tomando en cuenta criterios etno-botánicos, de sostenibilidad, de uso e intercambio (valor), de posibilidad de incorporar valor agregado, de mercado y factibilidad de producción agrícola. Se han seleccionado las plantas en 3 categorías:

- A: Con mercado y estudios suficientes
- B. Efectos reportados como interesantes para el mercado pero con estudios insuficientes.
- C. Sin mercado, ni estudios, pero con efectos reportados por la etno-medicina como de gran interés para el mercado.

En el siguiente cuadro se muestra las plantas de mayor uso y potencial para el mercado, clasificados según las categorías mencionadas.

Cuadro N°5: PLANTAS MEDICINALES CON MAYOR POTENCIALIDAD ²⁴

Nombre genérico	Nombre Común	Uso
Categoría A		
<i>Achyrocline aequalifolia</i> <i>Culcitium canescens</i>	wira wira	Expectorante
<i>Artemisia absinthium L.</i>	Ajenjo	Estimulante del apetito, Parasitosis
<i>Baccharis trinervis</i> <i>Bacharis sp</i>	Carqueja Tres espigas	Diurético , Antiinflamatorio, Colerético , colagogo
<i>Camelia sinensis</i>	Te verde	Estimulante del SNC, Antioxidante, anti-inflamatorio, antiartrítico
<i>Cinchona calisaya</i>	Quina, cascarilla	Fiebre, antipalúdico , Antiséptico, anemia

<i>Cynara scolymus</i>	Alcachofa Alcachofera	Colerético, Colagogo
<i>Croton lechleri</i>	Sangre de Drago Llusa Mora	Cicatrizante, Anti-inflamatorio Antioxidante
<i>Curcuma longa</i>	Curcumina	Antitumoral, anti-inflamatorio, antioxidante
<i>Lippia citriodora</i>	Cedrón	Antiflatulento, Sedante
<i>Chenopodium ambrosioides L.</i>	Paico Quenopodio	Antiespasmódico, Antihelmíntico
<i>Echinacea purpurea</i>	Echinacea	Antiviral, Inmunomodulador
<i>Erythroxylum coca</i>	Coca	Analgésico y otros en estudio
<i>Eucalyptus globulus</i>	Eucalipto	Antiséptico, Expectorante, Rubefaciente
<i>Foeniculum vulgares Foeniculum officinale</i>	Hinojo Anís dulce	Galactogogo, Antiflatulento Antiespasmódico, Carminativo
<i>Juglans sinerea Juglans regia</i>	Nogal blanco	Antidiarreico Cicatrizante tópico
<i>Lepidium meyenii</i>	Maca	Inmunomodulador, Suplemento dietético
<i>Marrubium vulgare L.</i>	Marrubio	Expectorante, Diurético
<i>Matricaria chamomilia L.</i>	Manzanilla	Antiespasmódico, antiinflamatorio
<i>Melissa officinalis</i>	Toronjil-Melisa	Sedante ,Colerético, Antiespasmódico
<i>Mentha piperita L.</i>	Menta	Antiespasmódico, Antiflatulento, Colerético. Halitosis
<i>Ocimum vulgare Ocimum basilicum</i>	Albahaca	Antiséptico, Antiinflamatorio, Antiespasmódico, Antiflatulento, Galactogogo
<i>Plantago major</i>	Llantén	Dolor de garganta, diarrea, problemas hepáticos
<i>Passiflora edulis flavicarpa</i>	Maracuja	Sedante, antiespasmódico
<i>Peumus boldus molina Boldus fragans</i>	Boldo	Laxante Colerético, Colagogo
<i>Porophyllum ruderale</i>	Quilquiña	Agente saborizante
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Romero	Antiespasmódico, Carminativo
<i>Rubus bolivianus</i>	Zarzamora silvestre	Astringente, antidiarreico, dolor de cabeza, venas varicosas, hemorroides, problemas de piel
<i>Stevia Rebaudiana Bertoni</i>	Estevia	Acción Hipoglucémica, contra la

		obesidad, cariotónico, diurético, antirreumático, anticaries, ansiolítico, antimicrobiano
<i>Malva yilvestris</i>	Malva	Expectorante, Antiinflamatorio, Laxante
<i>Tagetes terniflora Kunth</i>	Huacataya, suico-suico	Regulación sistema nervioso, dolor de estómago, digestivo, flatulencia, pérdida de apetito.
<i>Taraxacum officinale</i>	Amargen, diente de león	Diurético Coleretico, Laxante suave
<i>Uncaria tomentosa</i>	Uña de gato	Antiinflamatorio, Antioxidante, Inmunomodulador
<i>Valeriana officinalis L</i>	Valeriana	Sedante Relajante Antiespasmódico

Nombre genérico	Nombre Común	Uso
Categoría B		
<i>Aphyllocladus spartiodes Weddell</i>	Akhana, Kita Retama	Antimicrobiano.
<i>Bixa Orellana</i>	Achiote	Antiinflamatorio
<i>Cephaelis ipecacuanha</i>	Ipecacuana, Ipeca	Infecciones intestinales, disentería amebiana, catarros, asma
<i>Copaidera Langsdroffii</i> <i>Copaifera officinales</i>	Copaiba	Antibacteriano, Antiinflamatorio, Cicatrizante Llagas de piel, Psoriasis
<i>Cortón cajucara</i>	Casca Sacaca	Antidiarreico, reduce el colesterol
<i>Ephedra americana</i>	Pinco pinco, sanu sanu	Tos, asma. Fiebre, bronquitis, artritis, edema
<i>Japotrial Curcas</i>	Piñón	Emético, antiparasitario, purgante gástrico, rubefaciente, Antiinflamatorio
<i>Myrciaria dubia</i>	Camu-Camu	Astringente, antioxidante, antiinflamatorio, emoliente, suplemento nutritivo, hipertensión
<i>Polipodium spp</i>	Kalawala	Purgante suave, remedio para la tos, estimula el apetito
<i>Pera benensis Rusby</i>	Apainichij apainiki	Leishmanicida
<i>Spondias Bombin</i>	Cedrillo	Astringente, antiespasmódico, antiinflamatorio
<i>Oppuntia soeherensis</i>	Airampu	Inmunomodulador, Antiviral
<i>Piper elongatum</i>	Matico	Antimicrobiano, Hemostático,

		Plaguicida
<i>Cymbopogon citratos</i>	Limoncillo	Digestivo Aromatizante Plaguicida antimicrobiano

Nombre genérico	Nombre Común	Uso
Categoría C		
<i>Baccharis trimera</i>	Carqueja	Reumatismo, Antidiabético, Anticanceroso Anti-viral
<i>Galipea longiflora Krause</i>	Evanta hembra	Leishmanicida, antiparasitario
<i>Musa paradisiaca</i>	Savia de platano	Inmunomodulador, Anti- tuberculoso, Astringente
	PuliPuli*	Cicatrizante
<i>Persea americana</i>		Antifecundante
<i>Pipper aduncum</i> <i>Pipper angustifolium</i>	Matico	Afecciones fúngicas, leishmanicida, Astringente para hemorragias, úlceras Antidiarreico, antiséptico vaginal
<i>Satureja boliviana</i>	Muña, Khoa	Antiparasitario Insecticida Preservante de comida
<i>Solanum lorentzii</i>	Guirakillo	Antimicótico, fiebre
	Surucuina*	Inhibidor PLA2, Anti-artrítico, Anti- pancreático
	Flor de nieve*	Antiprostático

* Nombre científico en estudio

8. SEGURIDAD DE USO DE PLANTAS MEDICINALES ²⁵.-

La desilusión generalizada por la medicina convencional junto con el deseo por llevar un estilo de vida más “natural” ha provocado un aumento en el uso de la Medicina Complementaria y Alternativa (MCA) en todos los países desarrollados.

Un estudio de las tendencias a largo plazo sobre la aplicación de las terapias de MCA en Estados Unidos reveló que estas terapias han aumentado de forma continuada desde la década de 1950. La aplicación de las MCA ha aumentado independientemente del género, etnia y nivel de educación, pero es más frecuente entre la gente joven. La utilización de la fitoterapia aumentó especialmente en la década de 1970 y posteriormente en la década de 1990. El

informe llegó a la conclusión de que la continua demanda de MCA afectará al sistema de atención sanitaria en un futuro inmediato. Otros estudios han comprobado el uso creciente de la MCA en el Reino Unido, siendo la acupuntura, la fitoterapia y las terapias manipuladas como la quiropraxia y la osteopatía, las terapias complementarias más habituales.

El uso en la medicina tradicional China (MTC) de especies tóxicas de *Aristolochia* ha provocado casos de toxicidad renal grave y cáncer renal en Europa, China y América. La aparición de interacciones entre el hipérico (*Hipericum perforatum*) y determinados medicamentos de prescripción facultativa ha obligado a establecer una legislación a este respecto en todo el mundo y ha destacado la necesidad de que los profesionales de la salud dispongan de información científica actualizada sobre la calidad, seguridad y eficacia de estos productos.

Los farmacéuticos deben ser capaces de aconsejar al consumidor sobre el uso racional y seguridad de todos los medicamentos. Para poder desarrollar este papel con respecto a los productos a base de plantas medicinales, un farmacéutico debe disponer de información fiable sobre su calidad, seguridad y eficacia. Asimismo, existen muchos otros profesionales de la salud que son cada vez más conscientes del uso que sus pacientes hacen de las plantas medicinales y deben estar informados sobre la idoneidad de usar productos como medicamentos.

En 1997, bajo la iniciativa del Parlamento Europeo, la comisión Europea y la Agencia Europea para la Evaluación del Medicamento (EMA) se estableció un grupo de Trabajo *ad hoc* «específico» sobre Productos a base de Plantas Medicinales (HMPWG) en la EMA. El cometido principal del (HMPWG) es la protección de la salud pública mediante la preparación de directrices para facilitar el reconocimiento mutuo de las autorizaciones para la comercialización

en el campo de las Plantas Medicinales y minimizar la parcialidad del Comité de Productos Medicinales Patentados (CPMP).

a. Calidad, Seguridad y Eficacia de las Plantas Medicinales.-

Para poder garantizar la salud pública, los productos medicinales deben ser seguros, eficaces y de una calidad adecuada a su uso. Para obtener la autorización de comercialización (licencia del producto) en la UE (Unidad Europea), es necesario que los fabricantes de productos a base de plantas medicinales demuestren que sus productos cumplen los estándares aceptables de calidad, seguridad y eficacia.

1) Calidad.-

Existen amplias revisiones sobre la importancia de la calidad a la hora de asegurar la seguridad y eficacia de los productos a base de las plantas medicinales. La gran mayoría de los problemas relacionados con la calidad están asociados a los productos medicinales no regulados. Existen pruebas evidentes de que muchos remedios étnicos, en especial los utilizados en la medicina tradicional China y en las medicinas tradicionales asiáticas (ayurvédica y unani), no están sometidos a controles de calidad eficaces y pueden suponer un serio peligro para la salud pública.

La MCA ha establecido un foro sobre remedios étnicos para alentar y ayudar a este sector de medicamentos del Reino Unido (RU) a mejorar el estándar de seguridad y calidad de los remedios étnicos sin autorización en previsión de la aparición de mejoras legislativas que podrían derivarse de las actuales iniciativas políticas en el seno de la Unión Europea (UE) respecto a la directiva sobre el uso tradicional.

La calidad de los productos a base de plantas puede asegurarse mediante el control de los ingredientes medicinales y el cumplimiento de los estándares de las buenas prácticas de fabricación. La estabilidad y la vida útil de los productos

medicinales deben establecer los fabricantes. No deben existir diferencias en los criterios establecidos para la calidad de las formas farmacéuticas de los productos a base de plantas, como comprimidos o cápsulas, en comparación con los de otros preparados farmacéuticos.

2) Seguridad.-

Al igual que sucede con todas las formas de automedicación, el uso de productos a base de plantas medicinales constituye un riesgo potencial para la salud pública. Existe la preocupación de que los pacientes resulten expuestos a sustancias potencialmente tóxicas bien sea en forma de los propios ingredientes medicinales o como consecuencia de la exposición a los contaminantes existentes en el producto medicinal.

Cada vez existen más pruebas que indican que los productos a base de plantas medicinales pueden comprometer en algunos casos la eficacia de los medicamentos convencionales. Por ejemplo debido a interacciones entre el fármaco y la planta. La seguridad de los productos a base de plantas medicinales tiene una especial importancia dado que la mayoría de estos productos se adquieren sin prescripción y se utilizan para tratar procesos leves y a menudo crónicos.

La premisa de que el uso tradicional de una planta durante quizás cientos de años establece su seguridad, no es necesariamente cierta. Es muy posible que generaciones anteriores hayan pasado por alto formas de toxicidad más sutiles y crónicas como carcinogenicidad, mutagenicidad y hepatotoxicidad, y en este tipo de toxicidad la que más preocupa a la hora de evaluar la seguridad de los remedios medicinales.

3) Eficacia.-

A pesar de la popularidad cada vez mayor de las plantas medicinales en todo el mundo, faltan pruebas científicas sobre su eficacia. De hecho, muchas de las

plantas utilizadas con fines medicinales en Europa tienen usos reconocidos tradicionalmente, pero existe poca documentación científica sobre sus principios activos, sus acciones farmacológicas o su eficacia clínica.

Uno de los problemas fundamentales característicos de los productos a base de plantas medicinales es que cada ingrediente medicinal en particular contiene una amplia variedad de constituyentes químicos. Además, los medicamentos a base de plantas medicinales tradicionalmente son mezclas de diferentes ingredientes, aunque en los países desarrollados son cada vez más populares los productos a base de un único ingrediente medicinal. Existen más pruebas de que los diferentes constituyentes de un preparado medicinal pueden contribuir al efecto terapéutico global del producto, y que los efectos sinérgicos y aditivos juegan un papel importante en algunos casos.

A pesar de la escasez de datos clínicos comprobados sobre los efectos de la mayoría de los ingredientes medicinales, no existe razón alguna por la que los productos a base de plantas medicinales no puedan estar disponibles para su uso en procesos leves, siempre que esos usos sean consecuentes con los usos tradicionales y que la calidad y seguridad de los ingredientes medicinales sean las adecuadas. Parece más apropiado utilizar aquellos ingredientes medicinales sobre los que existen datos fitoquímicos y farmacológicos documentados que apoyen su uso tradicional. Los productos a base de plantas medicinales destinados a ser utilizados en procesos más graves requieren pruebas de su eficacia que avalen su utilización.

9. *URTICA URENS* L. .-

La Ortiga ya era conocida en los tiempos antiguos. Los antiguos griegos estaban familiarizados con sus efectos. Dioscórides escribió sobre él en su trabajo. Él lo consideraba como tónico, diurético, digestivo, depurativo de la sangre, estíptico antitusivo, ayuda en la cicatrización de las heridas de carbunco. Scrobinius Largo afirmó que la hierba de ortiga cura el envenenamiento y la epilepsia. Plinius, Lusitanus y Sartorius describe la hierba de ortiga como un astringente muy bueno. En el siglo XVI, el libro de Dioscórides fue la principal fuente de información sobre las características de la cicatrización de la hierba de ortiga. Lehnhardt utiliza *Urtica dioica* y *Urtica urens* para la hidropesía. Quarin, Deider y Rosner, usan la ortiga para la tos, erupción cutánea y como astringente. En la medicina popular checa la ortiga se usa como sustancia contra las enfermedades de pulmón (tuberculosis), insomnio, y en forma de compresas para la hinchazón. En Francia la hierba de ortiga fue considerada como un potenciador metabólico prometedor, especialmente en las enfermedades renales y del hígado. Como agente purificador de la sangre, potenciador metabólico de la función cardíaca, artritis, goutiness (condición que se manifiesta como ataques recurrentes de artritis aguda), podagra (ataque agudo de gota), reumatismo de las articulaciones y los músculos, la lactancia, condiciones congestivas, acumulación de líquidos, como astringente (tos con sangre, hematuria, período profuso).²⁶

a. Clasificación Taxonómica.-

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Rosales
Familia:	Urticaceae
Género:	<i>Urtica</i>
Especie:	<i>Urtica urens</i>

b. Sinónimos.-

Urtica urens L. (*U. urens* L.) es muchas veces utilizada como sustituto de *U. dioica*

c. Nombres Comunes.-

“Ortiga”, “ortiga crespá”, “ortiga chica”, “ortiga negra”, “caá poropé” y “rupá chico”.²⁷

d. Distribución Geográfica.-

Esta planta es muy cosmopolita, se encuentra ampliamente distribuida en las regiones tropicales, templadas y de tierras altas (Europa, Asia, África, Australia y América del Norte). También está distribuida en América del Sur (Bolivia, Brasil, Chile, Uruguay y Argentina).²⁸

Esta especie nace por doquier, en especial sobre suelos nitrogenados, baldíos, a lo largo de los caminos, próxima a las casas. Se recolecta desde la primavera hasta el otoño.^{17, 29}

e. Características Botánicas.-

Es una planta herbácea nitrófila anual, 10-50 cm de altura (Burkart, 1987) que se pueden encontrar en diferentes tipos de terreno (desierto, bordes de caminos, márgenes de ríos, etc). Urtica el nombre del género deriva del verbo latino "urere", que significa quemar, debido a sus pelos urticantes.²⁸

1) Raíz.- Es primaria de color marrón grisáceo, de forma irregular retorcida, de unos 5mm de espesor, distintos surcos longitudinales; hueco en la sección transversal, fibrosa y dura de fracturar.³⁰

2) Tallo.- Es erecto, cuadrangular, acanalado, a menudo ramificado desde la base, dejando más bien una pequeña base redondeada u ovalada, está cubierto de pelos urticantes.^{31, 32}

3) Hojas.- Son opuestas, ovales, suaves y no exceden de 4-5 cm de largo. Las hojas son carnosas, pecioladas, aserradas, más o menos en forma de corazón. La superficie presenta pequeñas verrugas con pelos urticantes, nervaduras profundas, aspecto abollonado, de color verde oscuro.^{31, 32}

4) Flores.- Son unisexuales (monoicas) de color lila, las flores masculinas y femeninas están separadas en los mismos penachos o racimos. Las flores femeninas son más numerosas y las masculinas son verdosas dispuestas en pequeños penachos cortos.^{32, 30}

5) Frutos.- Son aquenios ovoides comprimidos, con una única semilla, mide menos de 1mm, rodeado por dos tépalos acrescentes.³²

f. Metabolitos Secundarios ²⁶.-

Los principales componentes de la sustancia vegetal son:

Minerales.-

En 100 g de hierba fresca existe: 85 g de agua, 3,55 g de sustancias minerales: 1050 mg de calcio, 613 mg de potasio, 340 mg de silicio, fósforo 50-265 mg, 200-200 mg de hierro, 180 mg de cloruro, 175 mg de magnesio, 58 mg de sodio, 8 mg de manganeso, boro, 4 mg, 2,7 mg de titanio, 1,3 mg cobre, 0,03 mg de níquel.

En la hierba seca: El contenido de las sustancias minerales puede ser del 20%. El contenido de oligoelementos: 0,4 mg% Cu, ~ 6 mg% Mn, ~ 1.6 mg % Al y cantidades no determinadas de cobalto y zinc. Las cenizas consisten de: 24-33% de CaO, 14-20% de K₂O, 3-10% MgO, 3-6% Fe₂O₃, 1-2%Na₂O, 4-9% P₂O₅, 6-10% de SiO₂ y 4 - 6% de cloruro.

Flavonoides.- Principalmente kanferol, isorhamnetina, quercetina y sus heterósidos: 3- rutinosidos y 3 glucósidos en la hierba y similares glucósidos de flavonoles en las flores.

Aminas.- Pequeñas cantidades de histamina, colina, acetilcolina y la serotonina (5-hidroxitriptamina), sobre todo en los pelos urticantes.

Ácidos.- Ácido carbónico, ácido fórmico, ácido silícico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido glicérico, ácido málico, ácido oxálico, ácido fosfórico, ácido quínico, ácido succínico, ácido treonoico y treono-1,4-lactona (Barnes *et al.* 2002). Ésteres del ácido cafeico, principalmente ácido cafeoilmálico en *Urtica dioica* (hasta el 1,6%), pero ninguno de *Urtica urens*; ácido clorogénico (hasta el 0,5%), pequeñas cantidades de ácido neoclorogénico y ácido cafeico en ambas especies. Aminoácidos libres (30 mg / kg).

Las clorofilas a y b.- Productos de la degradación de la clorofila y carotenoídes (incluyendo β -caroteno y xantofilas).

Vitaminas.- (Entre ellos C, grupo B, K1).

Vitamina K.- El contenido es de 0.16-0.64 mg/100 g.

Triterpenos y Esteroles.- Incluyendo β -sitosterol.

Cumarinas.- Escopoletina ca. 1-10 mg / kg de sustancia a base de hierbas.

Leucotrienos en el pelo.

g. Usos Tradicionales.-

La *U. urens L.* tiene muchos usos, pues es una de las plantas con más aplicaciones medicinales.

Los naturistas tradicionales recomiendan su uso para afecciones como ser: reumatismo, alopecia en forma de infusión, cálculos de vesícula y urinarios en forma de jugo obtenido de las hojas, y como diurético.³³

En agricultura ecológica una decocción de ortiga se puede emplear como abono nitrogenado y como insecticida. Siendo su uso más popular el purín de ortiga (líquido obtenido como el resultado de la mezcla voluntaria de los extractos de ortiga) que aplicado a las plantas refuerzan las defensas de éstas e incluso se emplean como repelentes de insectos. También se puede aplicar como abono foliar o nitrogenado, dependiendo del tiempo de maceración.³⁴

h. Investigaciones de las Actividades Biológicas.-

En Noroeste de Turquía se llevó a cabo un estudio transversal para definir la prevalencia, y predicción del uso de la CAM en pacientes con cáncer de mama, entre enero de 2005 y enero de 2006, llegando a la conclusión de que casi un tercio de los pacientes con cáncer de mama utilizan al menos un tipo de la CAM, además de la terapia convencional. La mayoría optó por las hierbas medicinales que piensan que apoyan a su estado de salud. La Ortiga (*Urtica dioica* / *U. urens*) con más del 77% fueron las hierbas medicinales más comúnmente utilizadas por los pacientes.³⁵

En Turquía, se realizó un estudio sobre los efectos *in vivo* de la *U. urens* L. en la expresión de la enzima CYP1A (involucrada en la fase I del metabolismo de xenobióticos y drogas), llegando a la conclusión de que la planta promueve reducción sustancial de la expresión de los niveles de CYP1A1 y CYP1A2 y que las actividades relacionadas con la ortiga están posiblemente asociadas con una capacidad potencial de actividad quimioprotectora que presenta esta planta, debido a la disminución en la activación de los productos químicos carcinógenos ambientales a través de la modulación de las enzimas CYP1A.³⁶

En Europa, las raíces de *U. urens* L. al igual que de la *U. dioica* L. en diferentes tipos de extractos son utilizadas para el tratamiento de Hiperplasia Prostática Benigna (HBP). Recientemente, se describió que esta especie tendría propiedades quimioprotectoras contra diversos carcinógenos.^{27, 30, 31}

Un estudio en ratas sobre los efectos del extracto de semilla de la ortiga, referente a la peroxidación lipídica, antioxidantes y enzimas metabolizadoras de xenobióticos tanto el grupo control y el grupo tratado con tetracloruro de carbono (CCl₄) mostraron un aumento significativo de las enzimas hepáticas antioxidantes, llegando a la conclusión de que este extracto contiene componentes que protegen el hígado contra los efectos hepatotóxicos del CCl₄.³⁷

La Comisión E de Alemania (comité experto en remedios herbolarios para evaluar la seguridad y eficacia de los fito-medicamentos) aprueba el uso de la hoja de ortiga como terapia de apoyo en pacientes con infecciones del tracto urinario bajo (combinando la terapia antimicrobiana con la inmune) y para prevenir y tratar las formas graves urinarias.³¹

En Alemania, se realizó un estudio sobre el extracto de las hojas de la *Urtica urens L.* y se demostró que un compuesto que se encuentra en la ortiga, conocido como Hox alfa, inhibe la acción de las enzimas implicadas en la artritis reumatoide como ser: el factor de necrosis tumoral-alfa (TNF- α) y la Inteleucina-1beta (IL-1 β), que serían las responsables del incremento en la expresión de las metaloproteinasas de matriz (MMP) que degradan la matriz extracelular en las articulaciones.³⁸ En España, también se hace uso de la *Urtica urens L.* para el tratamiento de enfermedades reumáticas.²⁹

La aplicación tópica de hojas de ortiga fresca tiene una larga historia como un revulsivo para los pacientes con diversos síndromes de dolor. Weiss menciona el uso tópico de ortiga para la lumbalgia, ciática, tendinitis crónica, esguinces, y osteoartritis. Este método es seguro si los individuos no son alérgicos a la ortiga. Dos estudios de caso sugieren que la aplicación tópica reduce el dolor de la osteoartritis. La administración oral de preparados de la hoja de ortiga también ha sido investigada para enfermedades reumáticas, En un ensayo abierto, el extracto de la hoja se asoció con una reducción de los síntomas comparables a la conseguida con anti-inflamatorios no esteroideos (AINE).³¹

En América del Sur, tradicionalmente se ha utilizado la infusión de las hojas como diurético, tónico, hipoglucemiante y para el alivio del dolor muscular o de las articulaciones. Se agrega a diferentes preparaciones culinarias y es considerada un alimento nutritivo.²⁷

En Argentina, los estudios realizados del extracto de las hojas de *U. urens* L. mostraron una importante actividad antinociceptiva en los modelos de dolor inducido químicamente en ratón y actividad antiinflamatoria en el edema de pata inducido por carragenina en ratas, llegando a la conclusión de que la *U. urens* se comportaría como un fármaco AINE. El ácido clorogénico, que es su principal componente, podría ser en parte responsable de esta actividad, ya que posee propiedades beneficiosas como antioxidante, hipoglucemiante, antiviral, actividad hepatoprotectora, antiinflamatoria y analgésica. Estos resultados podrían contribuir a la validación del uso popular de estas especies para el tratamiento de dolor relacionado con procesos inflamatorios, como la artritis, actividad que compartirían con la ortiga común (*U. dioica*).^{28, 27}

En Uruguay, se usa en el control de orugas y pulgones. Además, de vitalizante y estimulador en el crecimiento de los cultivos a los que brinda protección contra enfermedades.³⁹

En los cuadros N° 6 y 7 se muestra algunos productos a base de la planta medicinal *Urtica urens* L. y *Urtica dioica* L. usados en los países miembros de la EMEA y en Alemania que son comercializados bajo reglamentación jurídica.

Cuadro N°6: PRODUCTOS EN EL MERCADO EN ALGUNOS ESTADOS MIEMBROS ²⁶

Nombre del Producto (País)	Sustancia Activa	Indicación	Posología	Situación Jurídica
Kopřivový Caj (República Checa) Kopřivová nat (República Checa)	Fragmentado Herba urticae en bolsas de té Fragmentado Herba urticae consissa	Diurético suave, coadyuvante en el tratamiento de la fiebre reumática quejas y urinarios tracto inflamación. Adyuvante para mejorar de diuresis, para la prevención de nefrolitiasis, y arena de orina y para el tratamiento de la irritabilidad de la vejiga en las mujeres	1 cucharada o una bolsa de té (1,5 g) con infusión de 0,25 L de agua hirviendo (extraído durante 15 minutos) tres veces diario	1999 1997
Ortiga tintura (Hungría)	Urticae hierba. extr. alc. (60% V/V) (1:5)	Para revivir las quejas de la fiebre reumática y las enfermedades de la articulación, la arena urinaria, y cistitis	30-35 gotas 3 veces	"La curación producto " registrados en 1999
Cuerpo de primavera Ortica (Italia)	Extracto seco Herba urticae	Puede tener una dieta blanda drenaje de la acción en exceso de líquidos del cuerpo	2 cápsulas al día (2 veces 250 mg)	como suplemento alimenticio 2004
(Polonia)	Herba urticae como té (Dos productos)	Adyuvante en el tratamiento de leve quejas artríticas.	2,5 g (cuchara) hervir en 200 ml (Un vaso) de agua durante 5 min. Beber 3-4 veces al día un vaso de cocimiento.	Más que 30 años
(Polonia)	Herba urticae como el té, la infusión bolsas, 2 g	Diurético en los procesos inflamatorios del tracto urinario inferior y adyuvante en el tratamiento de leves quejas artríticas	Al igual que la decocción anterior se de un sobre que contiene 2g de la sustancia vegetal.	Hace más de 1 a 5 años

(Polonia)	Urticae herbae succus (1:1) de material fresco como un estabilizado " jugo de "líquido oral	Adyuvante en el tratamiento de leve quejas artríticas y diurético en la litiasis urinaria	2.5 de 5 ml de producto, 3 veces al día.	Más que 15 años (1989)
(Francia)	275 mg de polvo seco de las partes aéreas / cápsula dura	Tradicionalmente utilizado en seborrea de la piel condiciones	1 cápsula dura 3 veces diario	1992

Cuadro N°7: PRODUCTOS EN EL MERCADO ALEMÁN ²⁶

Sustancia Activa	Indicación	Posología	Situación Jurídica
Polvo de hierba Urticae	Tradición a base de hierbas medicinales productos para apoyar la función de eliminación del riñón.	3-4 veces al día, 2-3 cápsulas que contienen 190 mg de polvo cada 4 veces al día	THM por lo menos desde 1976
Jugo exprimido de nuevo hierba urticae (1.36-1.96:1)	Medicamentos tradicionales a base productos para apoyar la eliminación la función del riñón.	4 veces al día 3,5 ml de líquido oral contienen 100% jugo exprimido	THM por lo menos desde 1979 (DDR-AM)
Jugo exprimido de nuevo hierba urticae (1:0.5-1.1)	Como una purga en los procesos inflamatorios enfermedades de las vías urinarias sistema de recolección. Como una purga para evitar grava renal. Para tratamiento sintomático de la osteoartritis.	3 veces al día 10 ml de líquido oral que contiene 100% jugo exprimido 3 veces al día 10-15 ml de líquido oral que contiene 100% jugo exprimido	UEO por lo menos desde 1976
Extraer el líquido de hierba urticae (1:1.8-2.2) extracción por solventes: etanol 30 V / V	Como una purga en los procesos inflamatorios enfermedades de las vías urinarias sistema de recolección. Como una purga para prevenir y Apoya el tratamiento de grava renal	4 veces al día 100 gotas que contienen 100% de extracto líquido	UEO por lo menos desde 1976
Extracto seco de hierba Urticae (5-10:1), extracción por solvente: el agua	Como un purificante en enfermedades inflamatorias del sistema de recolección de las vías urinarias . Como un purificante para prevenir y apoyar el tratamiento de grava renal. Para tratamiento sintomático de osteoartritis.	4 veces al día 1 tableta comprimida contiene 300 mg de extracto seco 3 veces al día 3 tabletas comprimidas contienen 150 mg de extracto seco cada una.	UEO por lo menos desde 1976

10. *PIPER ELONGATUM* Poir. .-

Con el nombre vulgar de "matico" o "mático" se conoce desde hace bastante tiempo a una piperácea andina: *Piper angustifolium* R. et P. (*P. elongatum* Vahl.). Sus propiedades y usos aparecen en obras clásicas de farmacognosia como las de Gilg y Brandt , Youngken y, más recientemente, las de Claus y Tyler y Trease y Evans . El nombre correcto de esta especie fue dado a conocer por Yuncker, quien la señala sólo para el norte argentino, Bolivia y Perú.⁴⁰

Matico pertenece a la familia de la pimienta o Piperaceae. El género Piper, que incluye más de 2.000 especies de arbustos, árboles y vid, e incluye otras dos plantas de color negro pimienta (*Piper nigrum*) y la kava-java (*Piper methysticum*). El nombre en español, matico, proviene de una leyenda de América del Sur. La planta fue supuestamente descubierto por un soldado herido español llamado Matico. Aprendió (probablemente de los indios) que la aplicación de las hojas sobre sus heridas le detuvo la hemorragia, y comenzó a ser llamado "Matico" o "hierba del soldado". Se introdujo en la medicina en los Estados Unidos y Europa por un médico de Liverpool en 1839 como un estíptico y astringente para las heridas. Textos médicos de los EE.UU. incluyen al matico, que apareció en la Farmacopea de los Estados Unidos a principios del siglo XIX. También fue recomendado para la leucorrea, gonorrea, hemorroides, blenorragia, dispepsia, hemorragias internas, úlceras pulmonares, gástricos, y después del parto sangrado), así como para la diarrea, la disentería y el cólera.⁴¹

a. Clasificación taxonómica.-⁴²

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Piperales
Familia:	Piperaceae
Género:	<i>Piper</i>
Especie:	<i>Piper elongatum</i>

b. Sinónimos.-

Piper elongatum (*P. elongatum*) también es conocido como: *Piper angustifolium* Ruiz y RAV, *Piper celtidifolium* Kunth, *Piper aduncum* L.⁴¹

c. Nombres Comunes.-

Castellano: “matico”, “cordoncillo”, “higuillo o higuillo de hoja menuda”, “hierba del soldado”.⁴¹

d. Distribución Geográfica.-

El matico es una planta cosmopolita que crece en la costa, selva alta y baja y en los valles interandinos de la sierra. Esta ampliamente distribuido en los trópicos de América (Guatemala, Brasil, Perú, Chile, Bolivia y Argentina). Es nativa de la mayoría de las regiones tropicales de América del Sur, así como el sur de México, el Caribe, y gran parte de América Latina tropical. En otros tiempos se cultivaba como planta ornamental en todo el mundo, se ha naturalizado en las regiones tropicales de Asia, Polinesia y Melanesia, e incluso se puede encontrar en el sur de Florida, Hawai y Puerto Rico. En algunos países, el matico es considerado como una mala hierba y nociva.^{43, 42}

e. Características Botánicas.-

El matico es una planta cosmopolita de la familia de la pimienta (Piperaceae) de aproximadamente 3 a 7 metros de altura, con hojas de color verde claro, alterno y en forma de lanza de 12-20 cm de largo y 5-8 de ancho.⁴¹

1) Tallo.- Leñoso, nudoso, ramificado y verde o gris pálido.

2) Hojas.- Color verde, alternas, pecioladas, oblongo lanceoladas, enteras, cordadas en la base, ampoloso-rugosas en la cara superior y con nervaduras prominentes en la inferior; laxamente pubescentes (sobre todo en las nervaduras).⁴¹

4) Flores.- Pequeñas, bisexuales o unisexuales, dispuestas en espádices o espigas opuestas a las hojas por lo general. Tienen 1-10 estambres y carecen de pétalos y sépalos. Inflorescencia axilar ó terminal en espigas de hasta 15cm.

5) Fruto.- En baya carnosa indehiscente, con una sola semilla.⁴²

f. Metabolitos Secundarios.-

Matico contiene muchas sustancias químicas activas, incluyendo los flavonoides, sesquiterpenes, monoterpenos, heterociclos, fenilpropanoides, alcaloides, y benzenoides. Un grupo de químicos llamados cromenos se han encontrado en el aceite esencial de las hojas que han evidenciado efectos tóxicos a las células cancerosas y bacterias. Otros productos químicos, incluyendo un grupo de benzenoides químicos, también han demostrado un efecto antibacteriano y citotóxico. El matico también contiene una sustancia química llamada safrol que se ha utilizado con éxito como insecticida poderoso, fragancias o en fragancias, productos de jabones y detergentes.⁴¹

Los estudios realizados por Mahabir P. Gupta sobre los componentes químicos revelan que la composición química contienen aceites esenciales como 5-metoxi-6 (2'-propen) – benzodioxol, dillapiol, etoxidillapiol, miristicina y piperitona. Según De Simone, el compuesto principal del *P. elongatum* Poir. es la Cánfora (22.68%), el Canfeno (21.18%), Isoborneol (11.53%). También presenta alfa pineno, mirceno, limoneno, borneol y terpinol acetato.

Según la base de datos de Alerta de Productos Naturales (NAPRALERT) que está localizada en la Universidad de Illinois-EEUU, señala los siguientes componentes químicos:^{43,44}

Monoterpenos.- Borneol (10.2%), Iso-Borneol (12%), Canfeno (22 %), Alcanfor (25%), Limoneno (0.2 %), Terpinol acetato (0.1%), Timol (0.29%).

Sesquiterpenos.- Beta Bisabolol, (0.4%), Cariofileno (0.3%), Erenofileno (0.1%).

Fenil Propanoide .- Miristicina (0.3%)

Flavonoide.- Asebogenina

Terpenos y derivados.- Benzodioxol 5metoxi 6 (2 propeno)

Esteroides.- Sitosterol beta, Estigmasterol.

g. Usos Tradicionales ⁴¹.-

A lo largo de la Amazonia, muchas de las tribus indias utilizan hojas de matico como cicatrizante antiséptico para detener la hemorragia, prevenir infecciones y acelerar la curación. Las hojas son aplastadas o pulverizadas y se rocía directamente sobre el corte, llaga, úlcera. Se puede también realizar lavados con la infusión de las hojas. A veces, las hojas se calientan, golpean y luego se usan en forma de cataplasma. La etnia Shipibo-Conibo de la amazonia peruana también utilizan la infusión para tratar la inflamación, diarrea, gastritis, vómitos, fiebre, cólicos menstruales, infecciones internas y como un tónico post-parto.

En los sistemas de medicina a base de plantas en América del Sur, el matico es bastante conocido y respetado porque promueve la curación de heridas así como otras afecciones. Se utiliza ampliamente como un remedio para todo tipo de trastornos digestivos tales como dolores de estómago, vómitos, dispepsia, diarrea, úlceras gástricas, gases intestinales e incluso cáncer de estómago. También se considera un excelente tónico genitourinario y se utiliza para cálculos renales, infecciones del tracto urinario, cistitis, uretritis, leucorrea, vaginitis, y varias enfermedades venéreas como la gonorrea y tricomoniasis. Además, se emplean para diversas enfermedades de las vías respiratorias superiores como la bronquitis, hemorragias pulmonares, pleuritis, neumonía, resfriados, gripe, amigdalitis y dolores de garganta.

En la actualidad, su uso etno-medicinal es múltiple y variado siendo empleado para aliviar y curar enfermedades del tracto respiratorio (por su actividad anti inflamatorio y antitusígeno), en dolencias gastrointestinales (diarreas agudas o crónicas) y tópicamente en infusión de las hojas para gárgaras y como vulnerario (para el lavado de heridas externas). Igualmente la infusión de estas hojas juntamente con otras como la malva de olor es muy útil para los baños de

asiento y lavados vaginales siendo útil en los descensos fluidos y blanquecinos causados por el parásito *Trichomona vaginalis*. Sin embargo, estos lavados deben evitarse en los días de la menstruación. También es utilizado para enfermedades gastrointestinales; estos usos etno-medicinales se muestran en el cuadro N° 8.

Las hojas de Matico se preparan tradicionalmente en infusiones y decocciones. Los productos manufacturados disponibles en América del Norte y del Sur también se incluyen extractos fluidos y tinturas, así como cápsulas.

Cuadro N°8: USOS ETNOMEDICINALES DEL MATICO A NIVEL MUNDIAL ⁴¹

Usos Etnomedicinales En Todo El Mundo	
Brasil	Como un anti-inflamatorio, antiespasmódico, astringente, balsámico, diurético, hemostático, estimulante resolutorio, tónico estomacal, y vulnerario, por blenorragia, bronquitis, tos, cistitis, diarrea, trastornos digestivos, disentería, erisipela, hematuria, hemorroides, hemorragias, inflamación, leucorrea, dolor de hígado, menorragia, prolapso uterino, pielitis, úlceras en la piel, mordeduras de serpiente, llagas, trastornos urinarios, uretritis, infecciones de las vías urinarias, tónico uterino, y heridas.
Colombia	Como diurético y estimulante, para el estreñimiento, dolores de cabeza, cálculos renales, leucorrea, hemorragias nasales, neumonía, hemorragias pulmonares, y de estómago.
Rep. Dominicana	Como un diurético astringente, estimulante, y dolor estomacal.
Guatemala	Para gonorrea.
Guyana	Como vulnerario para las llagas y las heridas.
Haití	Como un afrodisíaco y hemostático, para dolor abdominal, blenorragia, hidropesía, leucorrea, problemas de hígado, reumatismo, problemas de piel, llagas y heridas.
Honduras	Como una ayuda digestiva, ayuda en el parto, y limpiador de la piel, para los dolores, hemorragias, el dolor menstrual.
Jamaica	Para dolores de estómago.
México	Como astringente, balsámico, diurético, estimulante y astringente, para enfermedades venéreas.
Nueva Guinea	Como una solución antiséptica, para los resfriados, la diarrea y las heridas.
Panamá	Para la pleuresía, bronquitis, cáncer, úlceras de decúbito, trastornos digestivos, neumonía, problemas respiratorios, dolencias de estómago, trichomonas, los fibromas uterinos, úlceras uterinas, vaginitis, y heridas.

Perú	Como un anti-hemorrágica, anti-inflamatorio, antiséptico, astringente, carminativo, cicatrizante, depurativo, desinfectante, diurético, expectorante, hemostático, nervine, panacea, purgante, estomacal, estimulante, astringente, tónico y vulnerario, para abscesos, blenorragia, forúnculos, bronquitis, cólera, resfriados, conjuntivitis, estreñimiento, cistitis, diarrea, disentería, dispepsia, enteritis, fiebre, gastritis, las úlceras gástricas, la gonorrea, el herpes úlceras, hemorroides, infecciones, inflamación, hemorragias internas, dolor renal, cálculos renales, leucorreas, la malaria, el cólico menstrual, neuralgias, hemorragias después del parto, los dolores reumáticos, úlceras en la piel, dolor de garganta, de estómago, cáncer de estómago, trastornos estomacales, amigdalitis, úlceras, infecciones urinarias, trastornos uterinos, fibromas uterinos, vaginitis, enfermedades venéreas, vómitos y heridas.
Puerto Rico	Como un tónico, para la diarrea, la disentería, vómitos, úlceras y para controlar el sangrado.
Estados Unidos	Como astringente, hemostático, estimulante, astringente, tónico urinario, y vulneraria, para blenorragia, catarro, cortes, diarrea, disentería, dispepsia, afecciones genito-urinario, gonorrea, hemorroides, leucorrea, hemorragias después del parto, hemorragias pulmonares, úlceras y heridas

h. Investigaciones de las Actividades Biológicas.-

El matico ha demostrado acciones de amplio espectro antimicrobiano que pueden ayudar a explicar su larga historial de uso para diversas enfermedades infecciosas. En varios estudios a lo largo de los años, las hojas de matico y el aceite esencial de las hojas o frutos han demostrado acciones antibacterianas contra varias bacterias gram-positivas y gram-negativas, así como en hongos y levaduras. Además, los investigadores franceses informaron que el matico tenía acciones antivirales contra la polio virus. Otras investigaciones mencionan al matico como un posible tratamiento para la leishmaniasis, enfermedad muy frecuente en la Amazonía y las zonas tropicales de América del Sur. La Leishmaniasis es una enfermedad parasitaria transmitida por la picadura de moscas de arena infectadas. Hay varias formas diferentes de la leishmaniasis. Las formas más comunes son la leishmaniasis cutánea, que causa llagas en la piel, y la leishmaniasis visceral, que afecta a algunos de los órganos internos del cuerpo (por ejemplo, bazo, hígado, médula ósea). En dos estudios, el matico y un químico extraído de la planta llamado chalcona es capaz de matar a

cualquier parásito o tratar la enfermedad en animales de laboratorio. Otra de las enfermedades tropicales peligrosas es la esquistosomiasis, esta enfermedad parasitaria que se transmite por caracoles de agua dulce que se encuentran en los numerosos ríos y arroyos de la cuenca del Amazonas, también podría ser controlada ya que el matico ha reportado tener acciones molusquicidas contra el caracol y el parásito transportador. También presenta acciones insecticidas contra el mosquito que transmite y extiende la fiebre amarilla.

En un estudio realizado en España, se pudo determinar que dos dihidrocalconas aisladas de esta planta presentan actividad contra los promastigotes extracelulares de *Leishmania braziliensis*, *in vitro*, también se pudo evidenciar que otros compuestos activos tienen efecto contra *Leishmania tropica* y *Leishmania infantum* mucho más que el ketoconazol, no mostrando ningún efecto tóxico en los macrófagos a las dosis administradas (2,98 y 3,65 mg/mL).⁴⁵

En Japón, a partir del extracto metanólico de las hojas de *P. elongatum* se aislaron 6 compuestos aromáticos (no mencionados), evaluados por el método de tiocianato férrico mostraron una mayor actividad antioxidante que el α -tocoferol y t-butil-e-hidroxianisol (BHA), que es un antioxidante sintético.⁴⁶

En Perú, se llevó a cabo un estudio experimental en cobayos, sobre la actividad antiinflamatoria de dos diferentes extractos: uno acuoso y otro etanólico, donde se pudo determinar que el extracto etanólico presenta una moderada actividad antiinflamatoria comparativamente con la indometacina al ser administrada por vía oral.⁴⁷

Así mismo, se evaluó el efecto cicatrizante del extracto acuoso al 50% de las hojas y tallos del matico en ratones albinos. El extracto fue capaz de promover la regeneración interna y externa de heridas demostrando que tiene un efecto del 40.89%, considerándose esta actividad como significativa.⁴⁸

En Bolivia, también se llevo a cabo estudios donde se determinó que el extracto acuoso del matico, administrado a dosis de 1g/Kg de peso corporal por vía oral, presenta una actividad antipirética moderada en 35% de las ratas y 41.2% de los conejos frente a la hipertermia inducida por levadura de cerveza.⁴⁹

También se demostró la actividad bacteriostática *in vitro* de los aceites esenciales (extracto diclorometánico) sobre *Helicobacter pylori* al igual que en estudios anteriores se había demostrado para *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*. Los extractos hidro-alcoholicos y acuosos también demostraron actividad anti-*Helicobacter pylori*. En otros estudios realizados se pudo determinar que el extracto diclorometano de *Piper elongatum* Poir presenta actividad antifúngica contra *Neurospora crassa*, y efecto antiparasitario frente a *Leishmania*.^{50, 51}

En un estudio sobre genotoxicidad del extracto total etanólico de *P. elongatum*, y su aceite esencial, se evidenció que ninguno ejercía una actividad genotóxica directa y tampoco una actividad genotóxica indirecta detectada por el test de mutación y recombinación somática SMART de *Drosophila melanogaster* a concentraciones de 25, 50 y 75 mg/ml, durante 48 horas.⁵²

i. Actuales Usos Prácticos.-

Las acciones antibacterianas y antivirales que presenta el matico están documentadas y por ello su amplia utilización para diversas infecciones de las vías respiratorias superiores, infecciones del tracto urinario, enfermedades de transmisión sexual, así como un antiséptico y desinfectante para las heridas. En América del Sur se utiliza para muchos tipos de problemas digestivos y es muy conocido para tratar estas afecciones.

En el siguiente cuadro se muestra los usos más actuales que tiene la planta medicinal *Piper elongatum* Poir. a nivel mundial.

Cuadro N°9: USOS ACTUALES DEL MATICO ⁴¹

Resumen de la Planta Matico
Principales Acciones (en orden): Estomacal, carminativo, vulnerario, antiséptico, hemostático.sx
Principales usos: 1.Para los problemas digestivos (vómitos, náuseas, dolores de estómago, dispepsia) 2.Como un carminativo y estomacal para expulsar los gases intestinales y ayudar a la digestión 3.Como un antiséptico sanador de heridas por cortes, rasguños, úlceras, forúnculos, etc. 4.Como hemostático para hemorragias internas (uterino, gástrico, pulmonar) 5. Para los resfriados, gripe, tos, bronquitis, neumonía y otros problemas respiratorios
Propiedades / Acciones Documentadas por Investigación: Anti-bacteriano, y anti-candidiasis, anti-fúngico, anti-leishmaniasis, antivirüs, insecticida citotóxico, molusquicida.
Propiedades y acciones documentadas por el uso tradicional: Anti-hemorrágica, anti-inflamatorios, antiespasmódica antiséptica, astringente, carminativo, cicatrizante, chologogue, descongestivo, depurativo, desinfectante, diurético, expectorante, hemostático, nervine, panacea, purgante, resolutivo, estomacal, estimulante, astringente, tónico, vulnerario.
Precauciones: No se han reportado.

V. JUSTIFICACIÓN.-

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde tiempos remotos como agentes terapéuticos lo que hoy en día es conocido como la "práctica terapéutica tradicional". A pesar de los grandes beneficios que pueden otorgar muchas de las plantas medicinales existen otras que pueden ser tóxicas o pueden presentar reacciones adversas por el consumo exagerado, tal es el caso del *Cannabis sativa* (marihuana) que en dosis adecuadas podría actuar como antiinflamatorio, hipotérmico, antioxidante pero se pudo demostrar que presenta efectos tóxicos a nivel de los tejidos al consumir en forma crónica.⁵³

Si bien se conoce muchas plantas medicinales a nivel mundial, cuyos efectos biológicos han sido validados y reportados, cabe recalcar que no existen estudios que demuestren que la mayoría de las plantas medicinales presenten o no efectos tóxicos.

Esta claramente establecido las propiedades medicinales que presentan las especies vegetales *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir., las cuales son tradicionalmente utilizadas para afecciones reumáticas, inflamatorias, parasitarias y bacterianas en nuestro medio como una alternativa frente al uso de fármacos convencionales que en muchos casos conllevan efectos secundarios, colaterales, adversos e incluso tóxicos, además que no son accesibles en muchos casos por el elevado costo o por la dificultad de obtener las mismas. Frente a esta situación surge la necesidad de la población de utilizar nuestros recursos naturales como son las plantas medicinales aprovechando las propiedades que presentan cuyos usos han sido transmitidos de generación en generación, sin embargo la seguridad de su utilización no está garantizada aunque existe la falsa creencia de que lo natural no es tóxico, por ello que se justifica plenamente la realización de este tipo de estudios y en este caso el presente trabajo aporta con un estudio del perfil toxicológico de ambas plantas necesarias para su utilización en la medicina tradicional.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS.-

A. ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.-

Se empleó ratones albinos suizos cepa Swiss, adultos, hembras y machos con un peso corporal promedio entre 20-30g. Todos los animales fueron criados y mantenidos en el Bioterio del Departamento de Farmacología, de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés, con ciclos de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, con alimento y agua *ad libitum*. Los animales fueron sometidos a ayuno de 6 a 12 horas antes de cada ensayo. El número de animales utilizados por cada ensayo fue 6 por grupo.

B. MATERIALES: REACTIVOS, MATERIAL FUNGIBLE y EQUIPOS.-

Se emplearon los siguientes:

1. REACTIVOS.-

- Solución salina fisiológica
- Anticoagulante EDTA
- Tinción de Panóptica
- Kits de Glucosa (Gluc), TECO DIAGNOSTIC
- Kits de Creatinina (Crea), TECNO DIAGNOSTIC
- Kits de Ácido úrico (AU), HUMAN
- Kits de Triglicéridos (TG), TECO DIAGNOSTIC
- Kits de Alanina aminotransferasa (ALAT/GPT), HUMAN
- Kits de Colesterol total (Chol-T), TECO DIAGNOSTIC
- Kits de Úrea (U), HUMAN
- Kits de Fosfatasa alcalina (FA), HUMAN

2. MATERIAL FUNGIBLE Y OTROS.-

- Embudos
- Vasos de precipitados
- Matraces
- Probetas

- Tubos de lectura
- Eppendorf
- Termómetro ambiental
- Termómetros rectales
- Material de disección
- Jeringas de 1 mL.
- Cánulas para administración oral
- Guantes de goma
- Papel filtro Whatman
- Gasa y algodón

3. EQUIPOS.-

- Estufa: VENTICELL. Modelo LSIS – B2V/VC 111; alemana.
- Rotaevaporador: HEIDOLPH. Modelo Laborota 4000 efficient; alemana.
- Liofilizador: CHRIST. Modelo Alpha 2 – 4 LD plus; alemana.
- Microcentrifugadora: EPPENDORF GA. Modelo Mini Spin plus; alemana.
- Centrifugadora: HERMLE. Modelo Z 206 A; alemana.
- Centrifuga para Hematocrito: PRESVAC. Modelo CMH – 28; argentina.
- Stat fax: HUMAN. Modelo Huma Lyzer 3000; alemana.
- Microscopio: LABOMED. Modelo CxL; americana.
- Balanza analítica: A&D COMPANY LIMITED. Modelo GR – 200; japonesa.
- Molino mecánico: MOLINO VICTORIA - MECANICOS UNIDOS S.A. Modelo tolva alta – Ref: 600009; colombiano.
- Termómetro: DIGITAL THERMOMETER. Modelo DT – 01 A; americana.
- Cámara de Neubauer: PRECICOLOR – HBG; alemana.

C. ESPECIES VEGETALES.-

Las especies vegetales seleccionadas según criterio etno-farmacológico y de uso popular o tradicional en Bolivia fueron: *Urtica urens* L. (Ortiga) de la familia *Urticaceae* y *Piper elongatum* Poir (Matico) de la familia *Piperaceae*.

La especie *Urtica urens* L. (Ortiga) fue recolectada en la localidad de Jesús de Machaca Provincia Ingavi y la especie *Piper elongatum* Poir (Matico) en la localidad de Chulumani, Provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz, entre los meses de septiembre a octubre de 2010 para ambas especies, en la época de floración y un ejemplar de cada especie fue depositado en el Herbario Nacional de Bolivia, para su clasificación e identificación.

D. EXTRACTO DE PLANTAS.-

Las hojas de cada especie, fueron fraccionadas en pequeños trozos para un secado rápido y eficaz en una estufa de secado a 35° C. Una vez secos fueron sometidos a molienda a través de un molino mecánico en la sección de Farmacología del IIFB hasta obtener un polvo que fue almacenado en recipientes de plástico perfectamente identificados hasta el momento de su utilización.

Para cada especie vegetal, el polvo fue sometido a extracción hidro-alcohólica mediante maceración con una mezcla de etanol: agua (70:30), durante 72 horas, seguida de filtración. El procedimiento de extracción se repitió tres veces y posteriormente se concentró por rota-evaporación, se liofilizó y se determinó el rendimiento.

Este polvo liofilizado fue el que se utilizó en todos los ensayos biológicos previstos en el trabajo de investigación

Se siguió el siguiente diagrama de flujo y cálculo de rendimiento:



El rendimiento de la extracción se determinó haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\% R = \frac{A - B}{Z} \times 100$$

Donde:

A = Peso del frasco con extracto seco.

B= Peso el frasco vacío.

Z = Gramos de planta molida para maceración

$$\% R \text{ *Urtica urens* L.} = \frac{115.96\text{g} - 91.3\text{g}}{300\text{g}} \times 100 = \mathbf{8.22\%}$$

$$\% R \text{ *Piper elongatum* Poir.} = \frac{272.57\text{g} - 228.84\text{g}}{300\text{g}} \times 100 = \mathbf{14.6\%}$$

E. ENSAYOS EXPERIMENTALES.-

La determinación de la toxicidad por vía oral se realizó, con pequeñas modificaciones, según las recomendaciones del Consejo de las Comunidades Europeas. Los ensayos se realizaron en dos fases: el ensayo de DL50 o toxicidad letal aguda (a dosis única) y el ensayo de toxicidad sub-aguda (a dosis múltiples) en rangos de dosis inferiores a la letal.¹⁰

En el ensayo de toxicidad aguda se utilizaron grupos de 6 ratones machos y hembras (20-30g de peso corporal), en ayunas de 6 horas a los que se administró dosis de: 3000 y 5000 mg/Kg de peso corporal para el EHA-Pe y 5000 mg/Kg de peso corporal para el EHA-Uu a una dosis única por vía oral y a continuación se observaron cuidadosamente los efectos y la mortalidad durante un periodo de 24 horas, posteriormente se hizo el seguimiento de su comportamiento y la evaluación correspondiente para cada extracto durante 14 días que incluyó observaciones y registro sistemático individual de todos los efectos para cada animal y por día. Se puso énfasis en la observación de la influencia de los extractos sobre la actividad autonómica, refleja o central por observación visual directa, registrados según el Test de Irwin, así como la medición de la temperatura corporal, peso corporal, consumo de comida y agua, una vez terminado el periodo de evaluación se continuó con la disección respectiva de cada animal de experimentación para obtener los órganos y realizar la correspondiente evaluación macroscópica y peso de los mismos, así como la obtención de muestras sanguíneas las cuales fueron utilizadas para realizar la determinación de los respectivos parámetros hematológicos y bioquímicos.

Por otra parte, en el ensayo de toxicidad sub-aguda a dosis múltiple se utilizaron grupos de animales de ambos sexos (N= 6; 20-30g de peso corporal) en ayunas de por lo menos 6 horas para el nivel de dosis que se investigó. El nivel de dosis que se utilizó en la prueba se seleccionó a partir de uno de los niveles de dosis del estudio principal (toxicidad aguda) como dosis máxima: 1000mg/Kg de peso corporal. El grupo control recibió el vehículo (solución salina fisiológica) en volumen correspondiente (0.1 mL/10 g de peso corporal). Las dosis de los extractos fueron administrados por vía oral una vez al día durante 14 días para el EHA-Uu y de 28 días para EHA-Pe y se realizaron observaciones y registro sistemático individual de todos los efectos para cada animal y por día de evaluación. Se puso énfasis en la observación de la influencia de los extractos sobre la actividad autonómica, refleja o central por

observación visual directa, registrados según el Test de Irwin, así como la medición de la temperatura corporal, peso corporal, consumo de comida y agua, una vez terminado el periodo de evaluación se continuó con la disección respectiva de cada animal de experimentación para obtener los órganos y realizar la correspondiente evaluación macroscópica y peso de los mismos, así como la obtención de muestras sanguíneas las cuales fueron utilizadas para realizar la determinación de los respectivos parámetros hematológicos y bioquímicos.

1. ENSAYO DE TOXICIDAD AGUDA - DL50.-

Para esta determinación se utilizaron grupos de 6 ratones machos y hembras (20-30g de peso corporal), en ayunas de 6 horas a los que se administró dosis de: 500; 1000; 1500; 3000 y 5000 mg/Kg de peso corporal de EHA-Uu y EHA-Pe por vía oral y a continuación se observaron cuidadosamente los efectos y la mortalidad durante un periodo de 24 horas, como parte de las pruebas preliminares, llevando a pruebas de confirmación utilizando las dosis más altas como ser de 3000 y 5000 mg/Kg de peso corporal para el caso del EHA-Pe y dosis de 5000 mg/Kg de peso corporal para el caso del EHA-Uu, bajo las mismas condiciones de administración y evaluación. Durante el periodo de evaluación de 14 días y en especial durante las primeras 24 horas se observó la presencia o no de mortalidad de los animales de experimentación.

2. EFECTO SOBRE EL COMPORTAMIENTO GENERAL DE RATONES.-

Tras la administración de los diferentes extractos tanto para la evaluación de toxicidad aguda y sub-aguda, se observaron y determinaron diferentes parámetros de comportamiento cada 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos, 4, 8 y 24 horas: Los parámetros biológicos de regulación y control central (disminución de la actividad motora, ataxia, pérdida de reflejo de erección, analgesia, anestesia, parálisis de las patas anteriores, posteriores y cabeza, pérdida de habilidad prensil, reacción de alarma, reflejo corneal y pineal, temores finos y toscos del cuerpo, fasciculaciones, convulsiones tónicas y clónicas, erección de la cola o

respuesta de Straub, prueba de Rabichaud), y de regulación autonómica (salivación, lagrimación, micción, diarrea, erección pilomotor, frecuencia y profundidad respiratoria), fueron tabulados individualmente. Los resultados fueron expresados en cruces: 1 a 2 ó 1 a 4 según el caso.⁵⁴

3. EVALUACIÓN DE LA TEMPERATURA RECTAL DE RATONES.-

La temperatura rectal de ratones fue medida en grados centígrados (°C) con un termómetro digital antes de los tratamientos, cada 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos, 4, 8 durante las primeras 24 horas después de los tratamientos y una vez por día durante todo el periodo de evaluación. Este ensayo permitió evaluar un probable índice de alteración de neurotransmisores centrales.⁵⁵

4. EVALUACIÓN DEL PESO CORPORAL.-

El peso corporal de ratones fue medido en gramos (g) de peso corporal con una balanza digital antes de los tratamientos y una vez por día durante el periodo de evaluación. Adicionalmente se hizo la medición del consumo de comida y agua.

a. Evaluación del Consumo de Agua y Comida.-

Como medida adicional el consumo de comida por cada grupo tratado fue medido en gramos (g) y el consumo de agua se midió en mililitros (mL), una vez al día durante los respectivos periodos de evaluación.

5. EVALUACION DEL PESO DE ÓRGANOS.-

El día 15 para el EHA-Uu y el EHA-Pe, en el ensayo de toxicidad aguda y el día 15 para el EHA-Uu y el día 29 para el EHA-Pe, en el ensayo de toxicidad sub-aguda fueron sacrificados todos los animales en secuencia individual y las condiciones de los órganos internos (hígado, riñones, bazo, estómago, pulmones, corazón y cerebro) fueron verificados visualmente en cuanto a la apariencia general y peso de los órganos. Se registraron todos los posibles cambios patológicos macroscópicos y los resultados fueron tabulados y comparados convenientemente.¹⁰

6. PRUEBAS HEMATOLÓGICAS.-

La muestra de sangre se tomó por punción intracardiaca a ratones anestesiados con éter dietílico. La sangre se recolectó en tubos eppendorf con anticoagulante EDTA. La recolección de la muestra se realizó en el día 15 después de la experimentación para el EHA-Uu y EHA-Pe, en el ensayo de toxicidad aguda, y el día 15 después de la experimentación para el EHA-Uu y el día 29 para el EHA-Pe, en el ensayo de toxicidad sub-aguda.

Se determinó los siguientes parámetros: recuento total de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina, VCM, VCHM. Recuento de glóbulos blancos y recuento diferencial de células (eosinófilos, segmentados, neutrófilos, linfocitos, basófilos y cayados).

a. Recuento Total de Glóbulos Rojos.-

La determinación se basó en una dilución de la sangre 1/200 con solución fisiológica, que suspende a los glóbulos rojos sin alterar la morfología además de mantener el equilibrio iónico tanto en el líquido intracelular como en el líquido extracelular. El equilibrio osmótico del eritrocito se conserva por permeabilidad selectiva de la membrana y por las bombas de cationes Na/K ATPasa localizadas en la membrana.

b. Hemoglobina.-

Para su determinación se utilizó la solución de Drabkin, cuya coloración producida se midió a 540 nm.

c. Hematocrito.-

Se realizó el llenado de tubos capilares con una muestra sanguínea hasta 1 cm antes de llegar al extremo distal del capilar, luego se sometió a una fuerza de centrifugación de velocidad constante (3500 rpm) durante un periodo de tiempo también constante (5 min). Una vez pasado ese tiempo se midió con la ayuda de una regla para hematocrito la interfase del paquete globular y el líquido

plasmático presente en el capilar, obteniendo el porcentaje correspondiente al hematocrito.

d. Velocidad de Sedimentación Globular.-

La velocidad de sedimentación globular se determinó directamente en el capilar para hematocrito dejando que la muestra sanguínea presente sedimentación durante un periodo de 30 min.

e. Índices Eritrocitarios.-

Se utilizaron el hematocrito y la cuenta de eritrocitos para calcular los índices: VCM, HCM, CMHC.

f. Recuento Total de Glóbulos Blancos.-

La determinación se realizó mediante una dilución de un volumen de 20 uL de sangre con 1.5 mL de Reactivo de Turk, una solución hipotónica de ácido acético que se ioniza a acetato en presencia de agua, este acetato ingresa a los eritrocitos por medio de un canal iónico (la proteína periférica banda 3), el ingreso de este acetato provoca una alteración a nivel de cargas en la membrana del eritrocito originando la despolarización y la lisis celular, esta medida es necesaria para que los eritrocitos presentes en mayor número que los leucocitos no interfieran en el recuento, por otro lado el azul de metileno que es un colorante básico se encarga de teñir los núcleos de los leucocitos para hacerlos más identificables a la hora del recuento. Este recuento se realizó en los cuadrantes distales de la cámara de Neubauer.

g. Recuento Diferencial.-

Para el recuento diferencial de leucocitos se empleó la Tinción Panóptica aplicada sobre un frotis sanguíneo, esto debido al comportamiento que presentan los mismos frente a los colorantes, es así que los leucocitos acidófilos muestran afinidad por la parte ácida del colorante de modo que los gránulos citoplasmáticos aparecen teñidos de color rojo-naranja, los basófilos

muestran afinidad por la parte alcalina del colorante de modo que los gránulos citoplasmáticos aparecen teñidos de color azul intenso y los neutrófilos aceptan los dos tipos de colorantes dando una coloración azul grisácea. Es así que gracias a estas propiedades se pudieron distinguir los diferentes tipos de leucocitos circulantes.

7. PRUEBAS BIOQUIMICAS.-

La muestra de sangre se tomó por punción intracardiaca a ratones anestesiados con éter dietílico y se depositó en tubos eppendorf sin anticoagulante, llevando a centrifugación a 3500 rpm por 5 minutos en una microcentrífuga para eppendorf, se removió convenientemente el suero para las determinaciones correspondientes.

Se realizó la determinación de las siguientes pruebas:

1. Glucosa por método enzimático colorimétrico
2. Creatinina por método cinético colorimétrico
3. Acido úrico por método enzimático colorimétrico
4. Urea por método enzimático colorimétrico
5. Colesterol total por método enzimático colorimétrico
6. Triglicéridos por método enzimático colorimétrico
7. Alanina aminotransaminasa por método cinético
8. Fosfatasa alcalina por método cinético

Para cada una de las determinaciones anteriores, se siguió los protocolos establecidos según las distintas marcas de los respectivos kits, ya mencionadas en la parte de reactivos.

F. ASUNTOS ÉTICOS.-

Al tratarse de un estudio experimental con animales de laboratorio, se consideró a los mismos como reactivos biológicos y se trabajó de acuerdo a las normas establecidas en la Comisión de Ética de la Comunidad Europea. El manejo de los animales se realizó por procedimientos estandarizados y una regla básica que se siguió fue que: “todo animal tratado debe ser sacrificado”. Se utilizó para los ensayos el número mínimo necesario evitando así un uso indiscriminado. Los restos de los animales sacrificados fueron convenientemente desechados según normas de bioseguridad.⁵⁷

G. CUESTIONES ESTADÍSTICAS.-

Los resultados se expresaron como promedios y desviación estándar (SD) y el análisis estadístico se realizó haciendo uso del programa estadístico INSTAT versión 2.5. Las comparaciones se realizó por la prueba de ANOVA (Tukey Kramer Test) seguido de un análisis no paramétrico ANOVA (Kruskal Wallis Test y Mann Whitney Test). Niveles de probabilidad menores de 0,05 fueron considerados como estadísticamente significativos. Para las gráficas correspondientes se usó el paquete estadístico SIGMA PLOT 12.0. Tanto para el análisis estadístico y gráficas también se hizo uso del paquete estadístico R-2.14.2.

VII. RESULTADOS.-

A. TOXICIDAD AGUDA.-

1. URTICA URENS L.-

U. urens L. se conoce con los nombres comunes de: “ortiga”, “ortiga crespá”. Esta especie nace espontáneamente en muchos lugares a nivel mundial y en especial sobre suelos nitrogenados, baldíos. La ortiga tiene muchos usos, pues es una de las plantas con más aplicaciones medicinales, para distintas afecciones como ser: reumatismo, infecciones del tracto urinario bajo, diurético, hipoglucemiante, antiinflamatorio, osteoartritis, entre otras.

a. DL50.-

A grupos de 6 ratones machos y hembras en ayunas de 6 horas se administró dosis de: 5000 mg/Kg de peso corporal de EHA-Uu por vía oral y los ratones del grupo control recibieron el solvente (solución fisiológica) en una relación de 0,1 mL/10g de peso corporal. Durante la evaluación no se presentó mortalidad a la dosis ensayada por lo que se asume que la DL50 está por encima de la dosis de 5000 mg/Kg de peso corporal.

b. Comportamiento General.-

A grupos de 6 ratones de ambos sexos se administró dosis de 5000 mg/Kg de peso corporal del EHA-Uu por vía oral. Los ratones del grupo control recibieron el solvente en una relación de 0,1 mL/10g de peso corporal. Tras la administración del extracto, se observaron y determinaron diferentes parámetros de comportamiento a los 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos, 4, 8 y 24 horas, basado en el Test de Irwin (Test Hipocrático).

Los resultados obtenidos mostraron que el EHA-Uu disminuyó la habilidad prensil de las patas traseras y delanteras en grado variable, además se evidenció piloerección y conducta pasiva sobre todo en los ratones machos hasta las 4 hrs de observación.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 1.

Grupos	Sexo	Habilidad prensil	Habilidad prensil	Piloerección	Conducta pasiva
		patas traseras (+++//++/+)	patas delanteras (+++//++/+)		
Control	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	0/6	0/6	0/6
Tratado (120 min)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	4/6	4/6	3/6	6/6
(4 hrs)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	3/6	3/6	3/6	4/6

Tabla N° 1. Efectos sobre el comportamiento general en ratones hembras y machos después de la administración oral del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg hasta los 120 min. y 4 hrs. de evaluación

c. Temperatura Rectal de Ratones.-

La temperatura rectal de los ratones fue medida antes de los tratamientos y durante intervalos de 15min., 30min., 60min., 120min., 4 hrs., 8hrs. y 24 horas después de la administración del extracto, así como una medición diaria durante los 14 días de evaluación.

En los resultados obtenidos se puede observar que los ratones hembras y machos después de la administración del EHA-Uu, no presentaron ninguna modificación estadísticamente significativa en la temperatura rectal, durante las primeras 24 horas y los 14 días de evaluación.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 2 y 3; gráficos del N° 1 al 18.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu 5000 mg/kg
Sexo/ Tiempo	Temperatura Corporal (°C)	Temperatura Corporal (°C)
Hembras		
15 min.	37.63 ± 0.63	36.87 ± 0.64
30 min.	37.63 ± 0.63	36.87 ± 0.64
60 min.	37.85 ± 0.22	37.42 ± 0.67
120 min.	37.15 ± 0.51	37.00 ± 0.64
4 horas	35.50 ± 0.58	36.33 ± 0.87
8 horas	36.65 ± 0.59	36.35 ± 0.51
24 horas	36.73 ± 0.57	36.77 ± 0.32
Machos		
15 min.	36.23 ± 0.93	36.25 ± 0.64
30 min.	36.52 ± 0.76	36.18 ± 0.92
60 min.	36.48 ± 0.60	36.68 ± 0.84
120 min.	36.70 ± 0.69	36.57 ± 0.27
4 horas	36.68 ± 0.87	36.37 ± 0.48
8 horas	36.22 ± 0.68	36.25 ± 0.52
24 horas	36.50 ± 0.74	36.68 ± 0.37

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05. (ANOVA Paramétrico; t-Test).

Tabla. Nº 2. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras y machos durante las primeras 24 horas de evaluación.

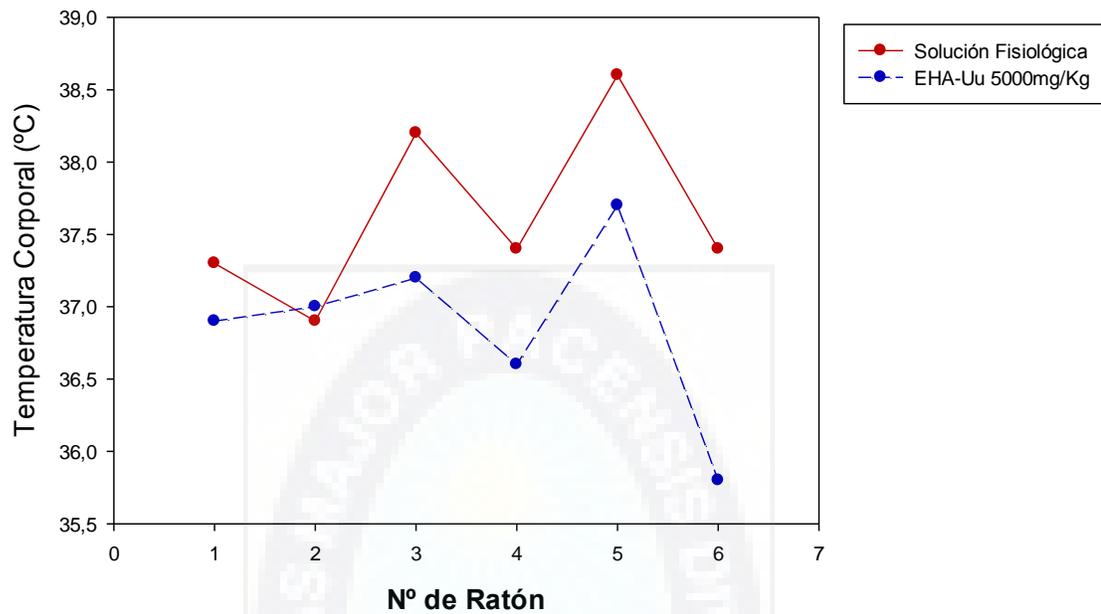


Figura Nº 1. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta los 15 min. de evaluación.

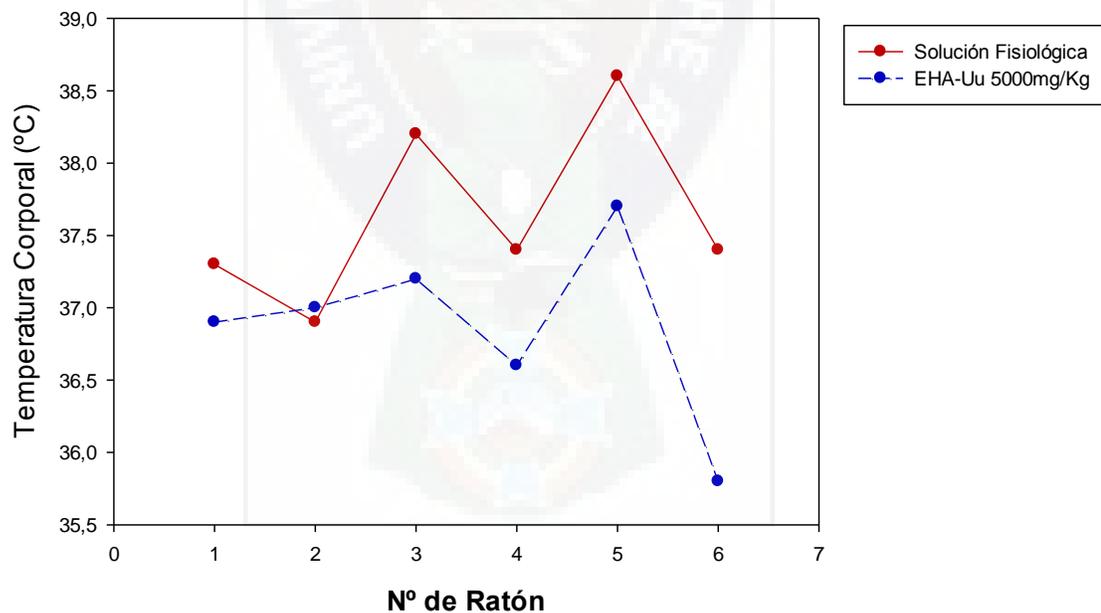


Figura Nº 2. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta los 30 min. de evaluación.

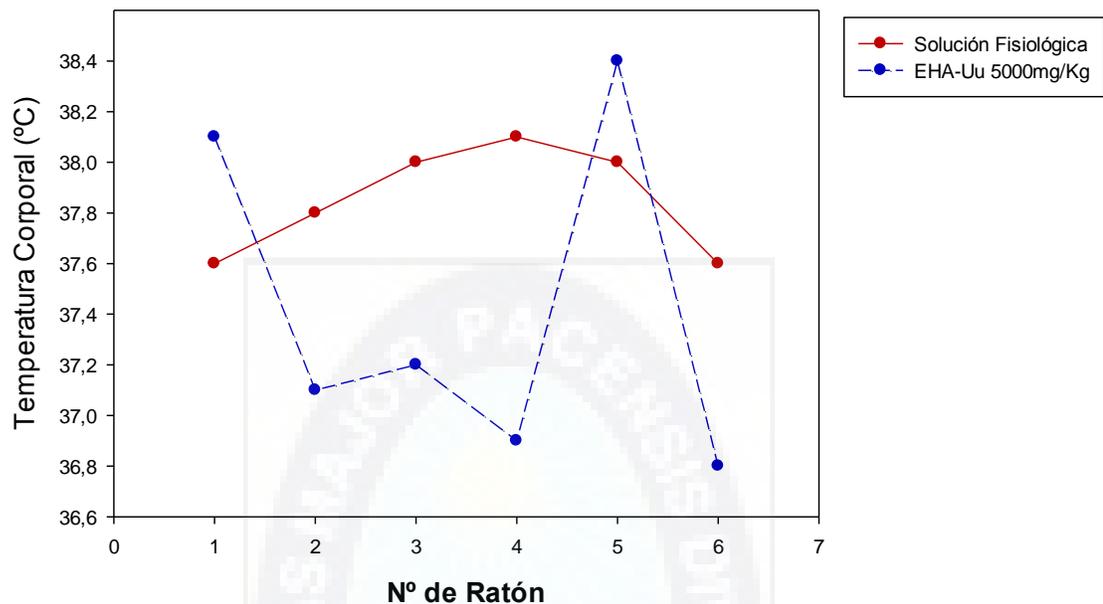


Figura Nº 3. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta los 60 min. de evaluación.

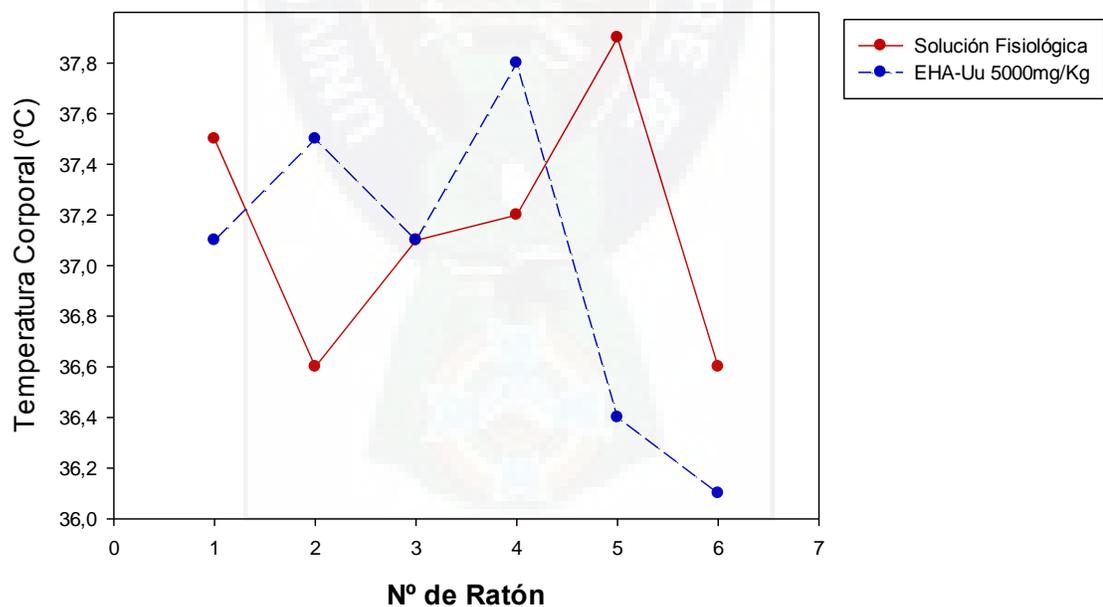


Figura Nº 4. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta los 120 min. de evaluación.

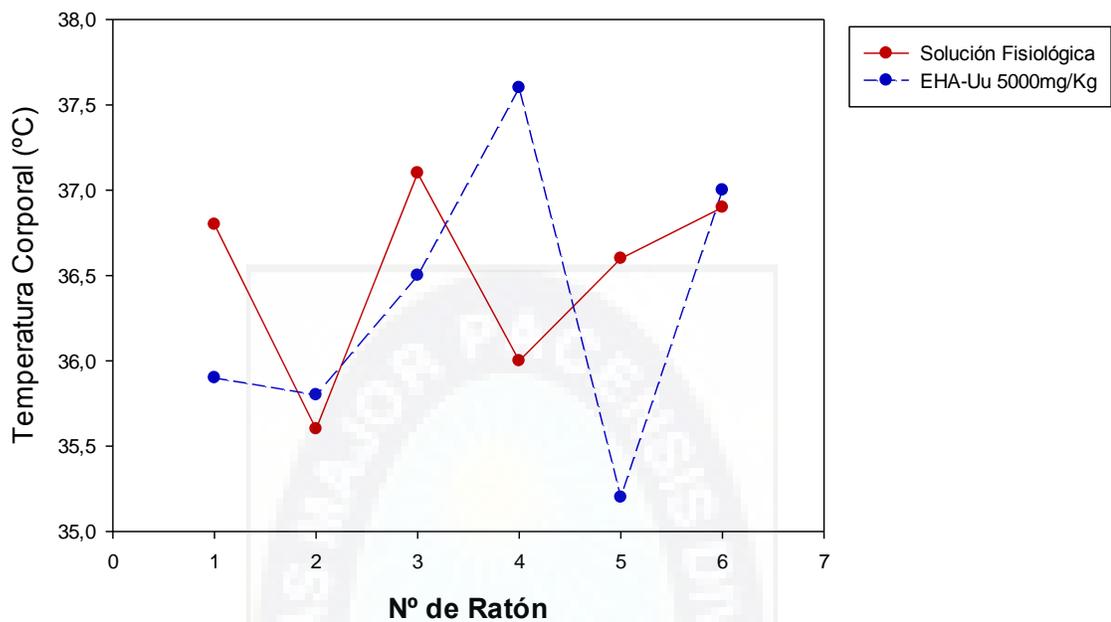


Figura Nº 5. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta las 4 horas de evaluación.

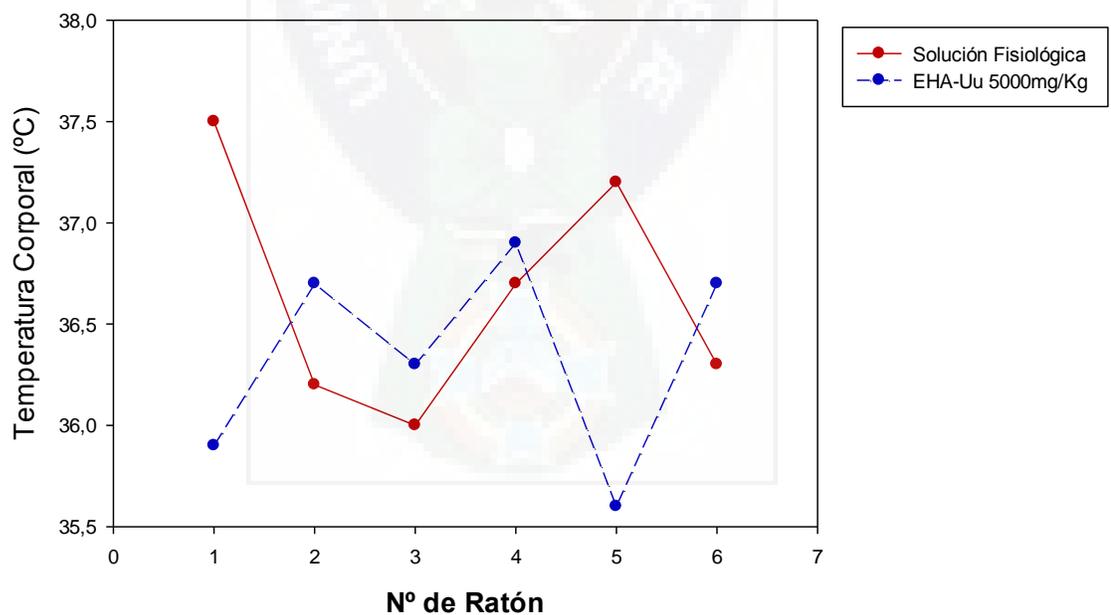


Figura Nº 6. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta las 8 horas de evaluación.

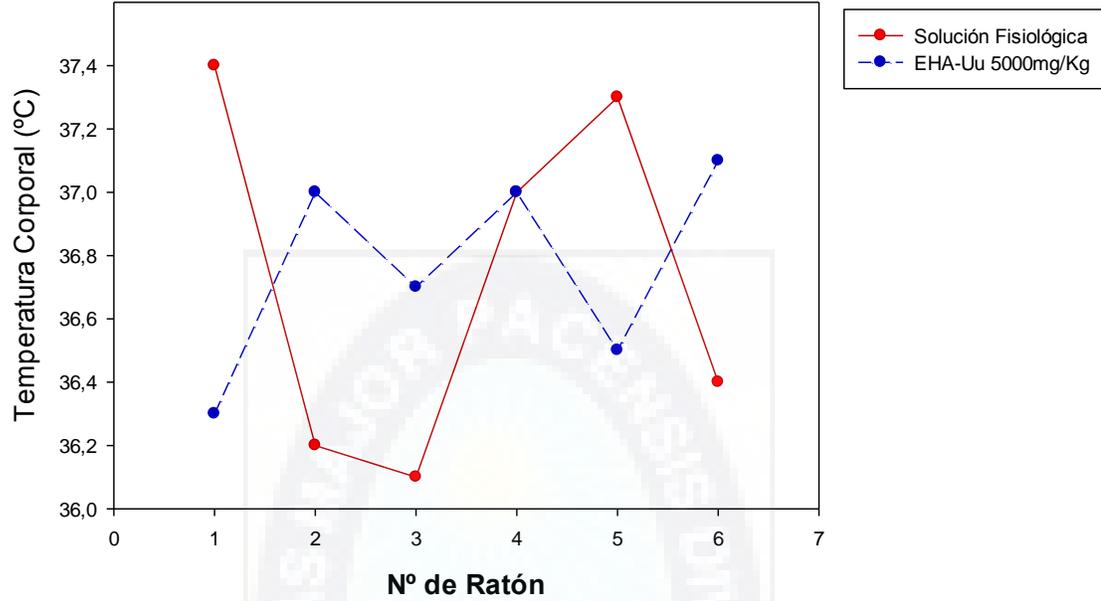


Figura Nº 7. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras hasta las 24 horas de evaluación.

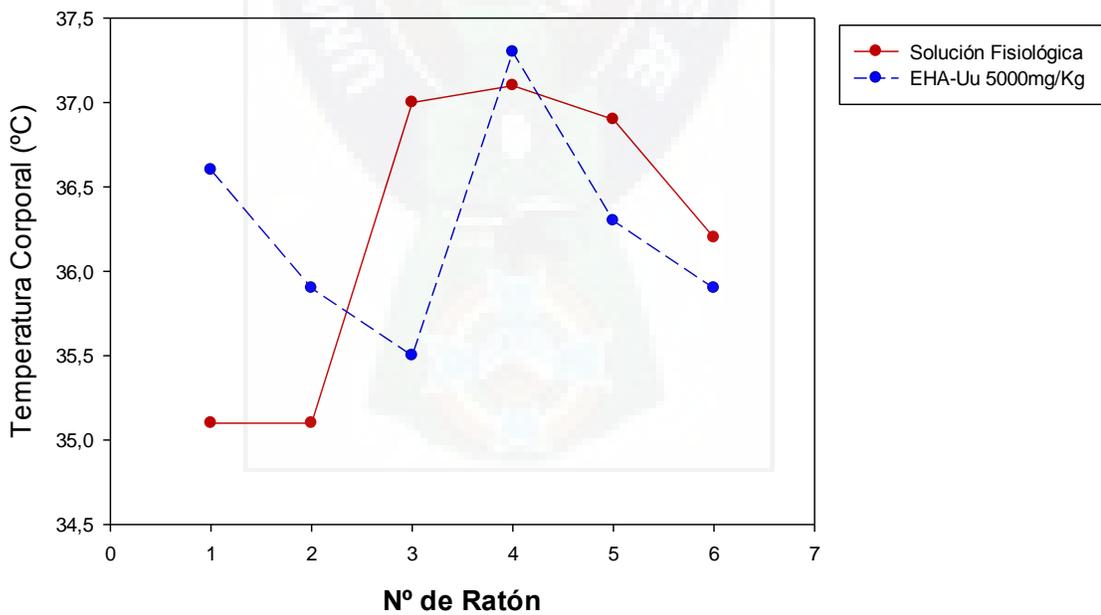


Figura Nº 8. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta los 15 min. de evaluación.

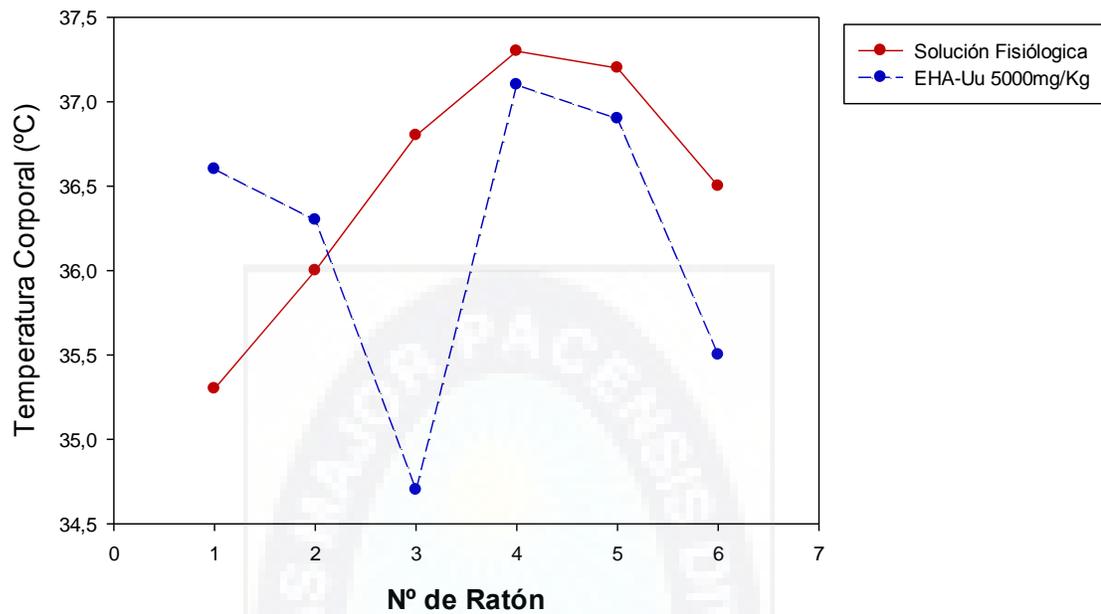


Figura Nº 9. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta los 30 min. de evaluación.

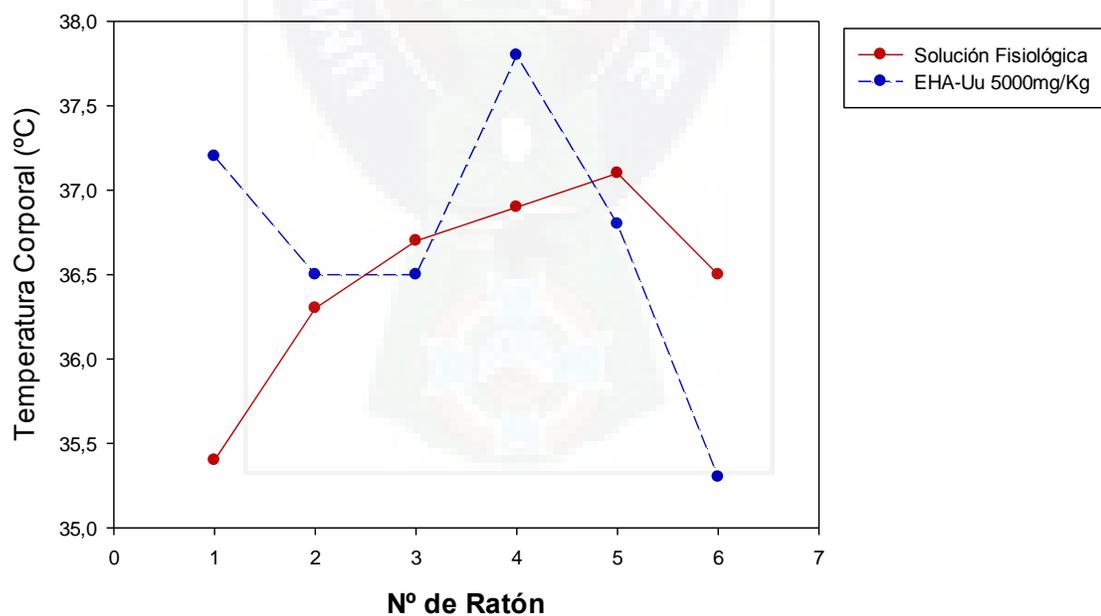


Figura Nº 10. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta los 60 min. de evaluación.

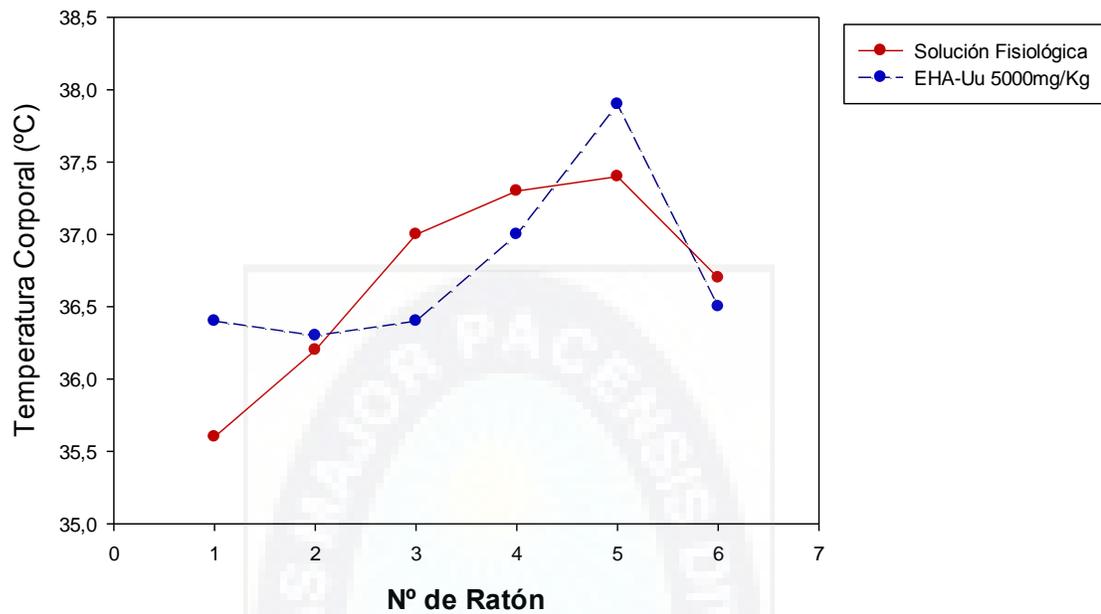


Figura Nº 11. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta los 120 min. de evaluación.

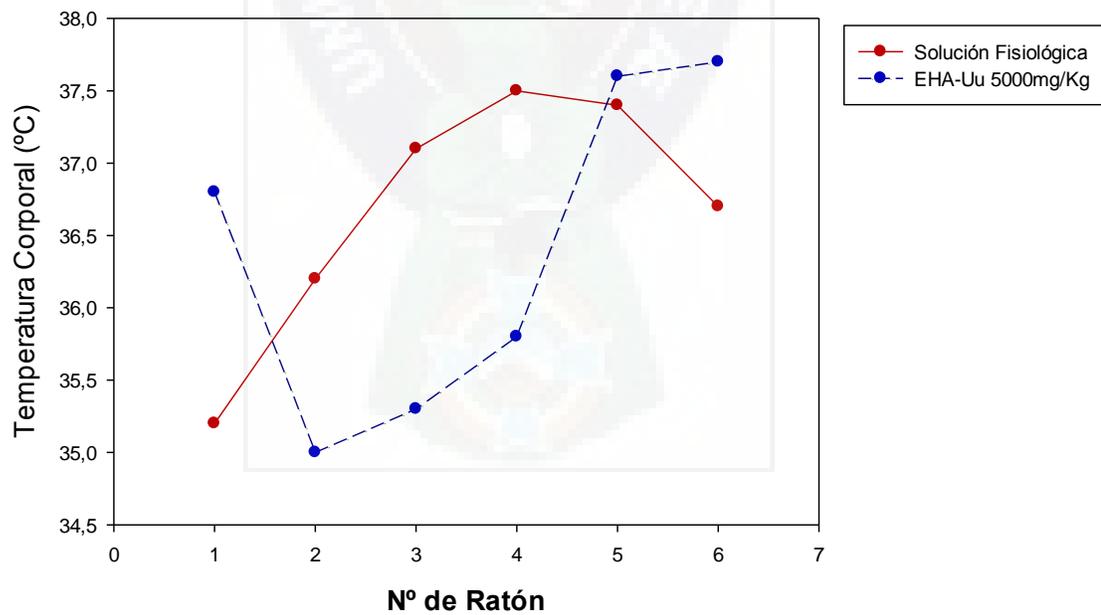


Figura Nº 12. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta las 4 horas de evaluación.

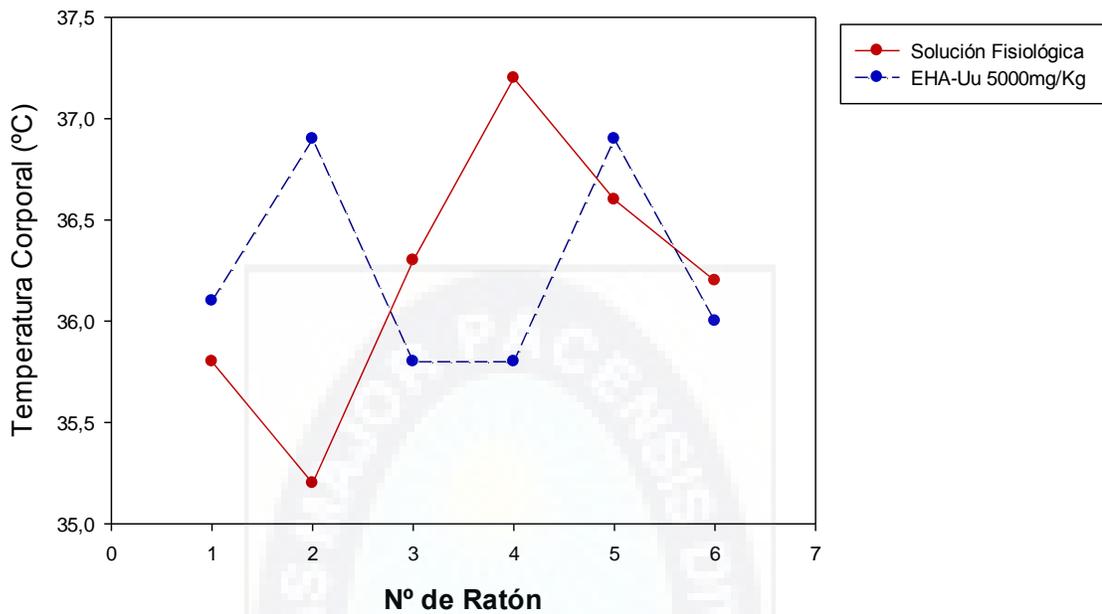


Figura Nº 13. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta las 8 horas de evaluación.

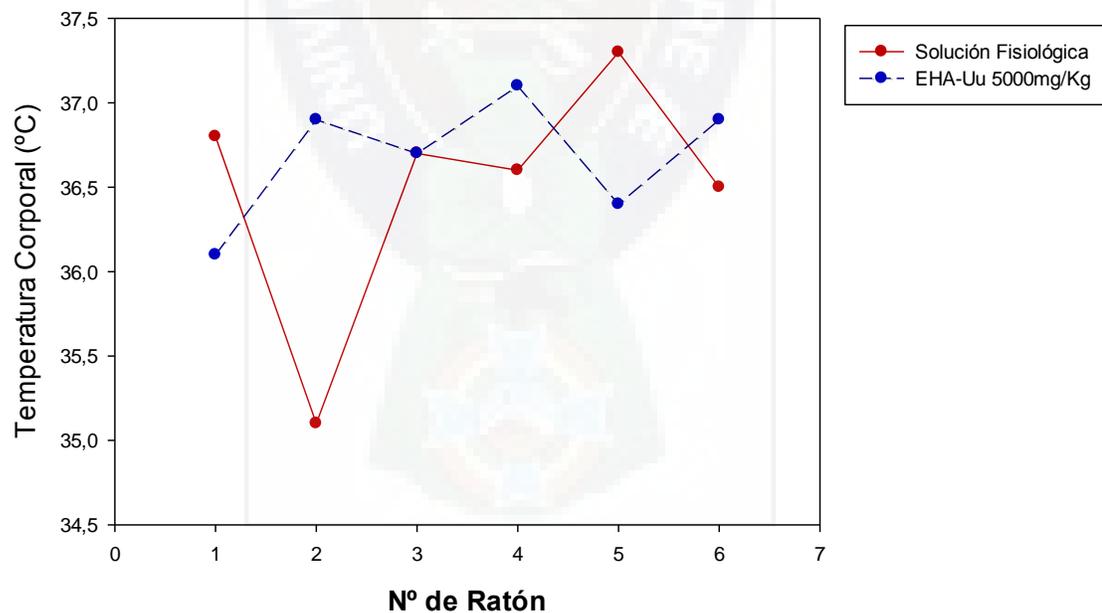


Figura Nº 14. Influencia de la administración del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos hasta las 24 horas de evaluación.

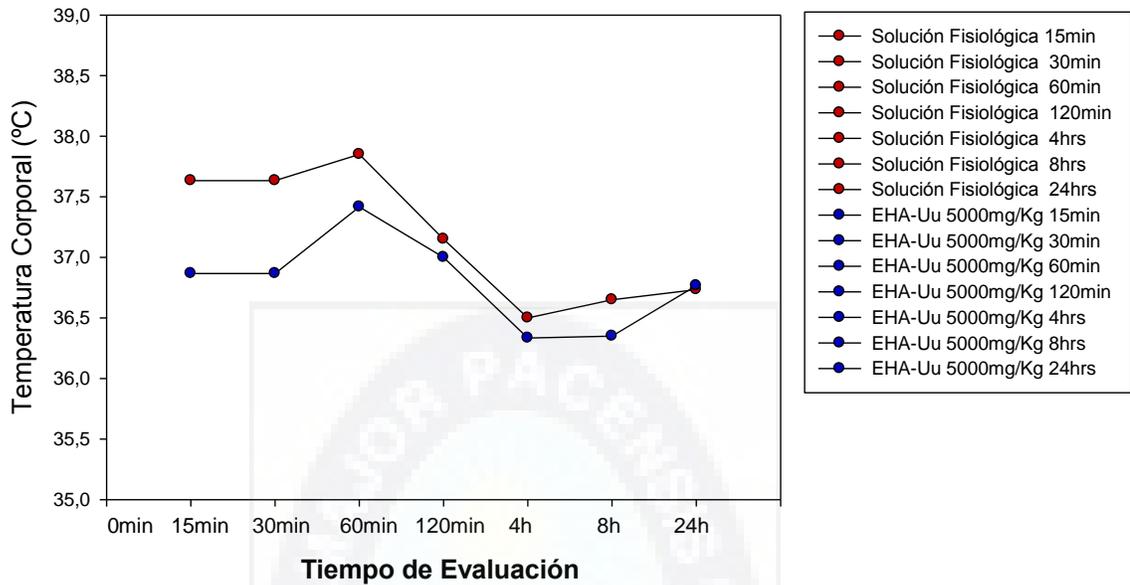


Figura N° 15. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras durante las primeras 24 horas de evaluación.

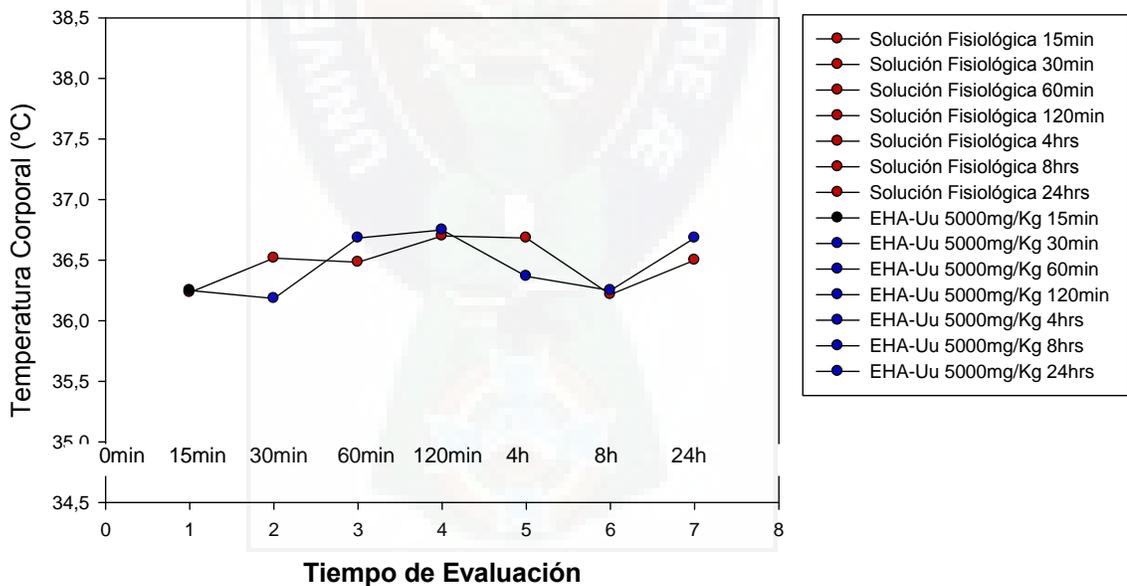


Figura N° 16. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos durante las primeras 24 horas de evaluación.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (5000 mg/Kg)
Sexo/Días de Evaluación	Temperatura Rectal (°C)	Temperatura Rectal (°C)
Hembras		
1° día	36.73 ± 0.57	36.77 ± 0.32
7° día	37.43 ± 0.55	37.07 ± 0.57
14° día	36.95 ± 0.95	37.60 ± 0.43
Machos		
1° día	36.50 ± 0.74	36.68 ± 0.37
7° día	36.58 ± 0.22	36.38 ± 0.32
14° día	36.37 ± 0.45	36.33 ± 0.66

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. (ANOVA Paramétrico; t-Test).

Tabla. Nº 3. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras y machos durante los 14 días de evaluación.

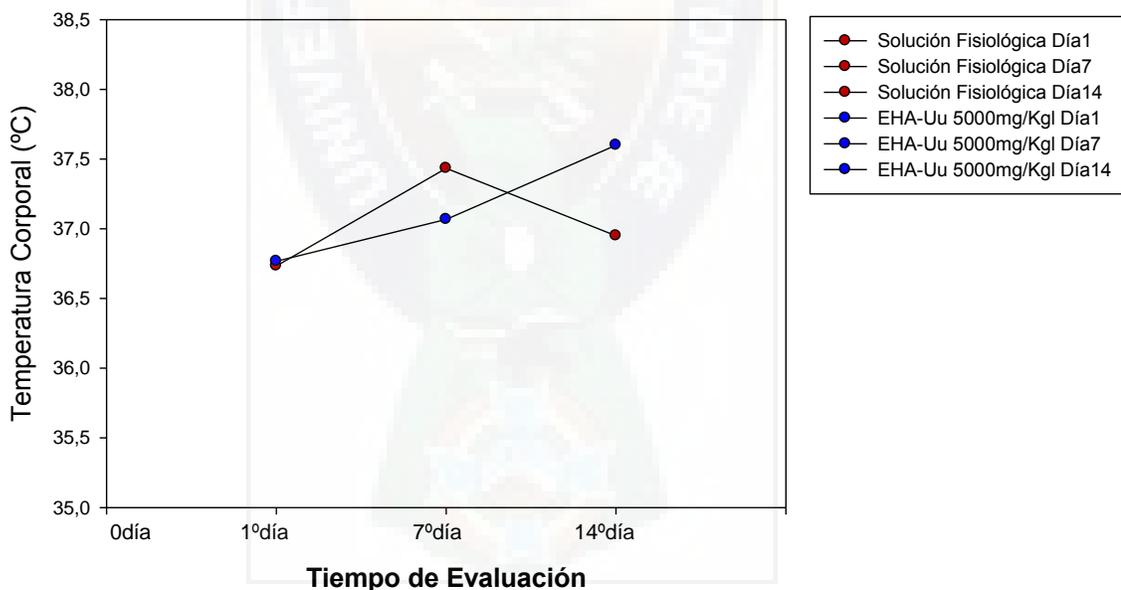


Figura Nº 17. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras durante los 14 días de evaluación.

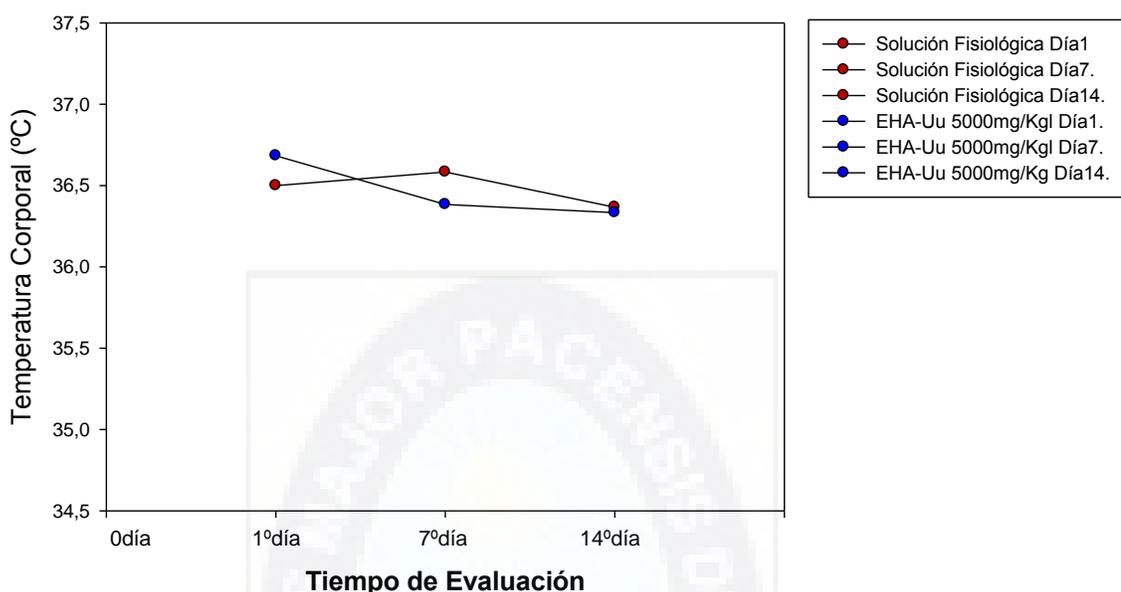


Figura N° 18. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos durante los 14 días de evaluación.

d. Peso Corporal.-

El peso corporal de ratones fue medido antes del tratamiento y cada 24 horas después del tratamiento. Así mismo, para respaldar la influencia que puede tener el extracto sobre el peso corporal, se hizo la correspondiente medición de la cantidad de comida consumida y el volumen de agua ingerido por los grupos de ratones evaluados cada 24 horas durante toda la evaluación.

Los resultados obtenidos mostraron que los ratones hembras tratados con el EHA-Uu a dosis única no presentaron ninguna influencia sobre el peso corporal y que los ratones machos tratados con el mismo extracto presentaron un menor peso corporal durante el primer día hasta el séptimo día de evaluación que es considerado como estadísticamente significativo. Respecto al consumo de comida durante el tratamiento se ve que existe un aumento en su consumo que es considerado como estadísticamente significativo, pero no así con relación al consumo de agua.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 4 y 5.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (5000 mg/kg)
Sexo/Días de Evaluación	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)
Hembras		
1º día	20.90 ± 2.27	22.02 ± 0.84
7º día	21.13 ± 2.71	21.70 ± 0.80
14º día	21.07 ± 2.50	21.82 ± 0.57
Machos		
1º día	24.62 ± 1.21	22.27 ± 0.43*
7º día	25.40 ± 0.87	23.33 ± 1.44*
14º día	26.48 ± 1.30	24.25 ± 2.35

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05. (ANOVA Paramétrico; t-Test).

Tabla Nº 4. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones hembras y machos.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu 5000 mg/kg
Sexo	Peso de Comida (g)	Peso de Comida (g)
Hembras		
Durante 14º días	16.30 ± 1.41	17.18 ± 1.71
Machos		
Durante 14º días	19.54 ± 1.15	20.55 ± 1.09*
Sexo	Volumen de Agua (mL)	Volumen de Agua (mL)
Hembras		
Durante 14º días	26.00 ± 2.66	27.14 ± 3.46
Machos		
Durante 14º días	31.57 ± 4.13	34.14 ± 3.84

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05. (ANOVA Paramétrico; t-Test).

Tabla Nº 5. Influencia del EHA-UU a dosis de 5000 mg/kg sobre el consumo de comida y agua de ratones hembras y machos.

e. Peso de Órganos.-

Al finalizar el tratamiento fueron sacrificados todos los ratones en secuencia individual y las condiciones de los órganos internos (cerebro, corazón, pulmones, estómago, bazo, hígado y riñones) fueron verificados macroscópicamente y se pesó cada órgano diseccionado.

Los resultados mostraron que los ratones hembras tratados con dosis única de EHA-Uu presentaron un aumento en el peso del bazo, hígado y los riñones, estadísticamente significativo respecto del grupo control. Los ratones machos tratados con el extracto no mostraron ninguna alteración en el peso de sus órganos. Estos resultados se muestran en la tabla N° 6



	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (5000 mg/kg)
Sexo/ Órganos	Peso de Órganos (g)	Peso de Órganos (g)
Hembras		
Cerebro	0.38 ± 0.05	0.42 ± 0.03
Corazón	0.10 ± 0.001	0.10 ± 0.01
Pulmones	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.03
Estomago	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.04
Bazo	0.06 ± 0.02	0.07 ± 0.01
Hígado	1.06 ± 0.17	1.34 ± 0.05*
Riñones	0.33 ± 0.01	0.34 ± 0.02
Machos		
Cerebro	0.44 ± 0.04	0.40 ± 0.02
Corazón	0.14 ± 0.01	0.13 ± 0.01
Pulmones	0.25 ± 0.01	0.22 ± 0.02
Estomago	0.26 ± 0.01	0.25 ± 0.03
Bazo	0.10 ± 0.01	0.10 ± 0.01
Hígado	1.45 ± 0.04	1.55 ± 0.22
Riñones	0.53 ± 0.02	0.53 ± 0.07

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05 (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

Tabla. Nº6. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre el peso de órganos de ratones hembras y machos.

f. Pruebas Hematológicas.-

Al finalizar el tratamiento todos los ratones fueron sacrificados por sobredosis con éter dietílico en secuencia individual y se obtuvo una muestra de sangre por punción intracardiaca que fue depositada en un tubo eppendorf con anticoagulante EDTA. En esta muestra se determinó los siguientes parámetros: Recuento total de eritrocitos, hematocrito, hemoglobina, VCM, VCHM. Recuento

de leucocitos y recuento diferencial de leucocitos (eosinófilos, segmentados, neutrófilos, linfocitos, basófilos y cayados).

Los resultados mostraron que los ratones tratados con el EHA-Uu no presentaron alteraciones en los parámetros hematológicos que puedan ser considerados como estadísticamente significativos.

Estos resultados se puede observar en la tabla N° 7.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (5000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Hematológicos	Valores	Valores
Hembras		
GR ($10^6/\mu\text{L}$)	5104.0 \pm 485.00	4986.7 \pm 605.17
Hb (g/dL)	15.03 \pm 0.34	14.95 \pm 1.82
Ht (%)	46.33 \pm 4.41	45.33 \pm 5.50
GB ($10^9/\text{L}$)	6555.3 \pm 722.97	6938.2 \pm 719.20
Linf. (%)	87.33 \pm 2.25	88.17 \pm 3.37
Segm. (%)	11.83 \pm 2.32	11.17 \pm 3.54
Mono. (%)	0.67 \pm 0.82	0.50 \pm 0.55
Machos		
GR ($10^6/\mu\text{L}$)	5258.0 \pm 107.78	5720.0 \pm 47.80
Hb (g/dL)	15.77 \pm 0.32	17.13 \pm 1.65
Ht (%)	47.83 \pm 0.98	52.00 \pm 4.98
GB ($10^9/\text{L}$)	6149.0 \pm 1026.6	5481.7 \pm 1354.5
Linf. (%)	89.33 \pm 3.20	90.50 \pm 2.12
Segm. (%)	10.00 \pm 3.03	8.67 \pm 2.01
Mono. (%)	0.67 \pm 0.52	0.833 \pm 0.98

Los datos son expresados como media \pm DS, N= 6. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

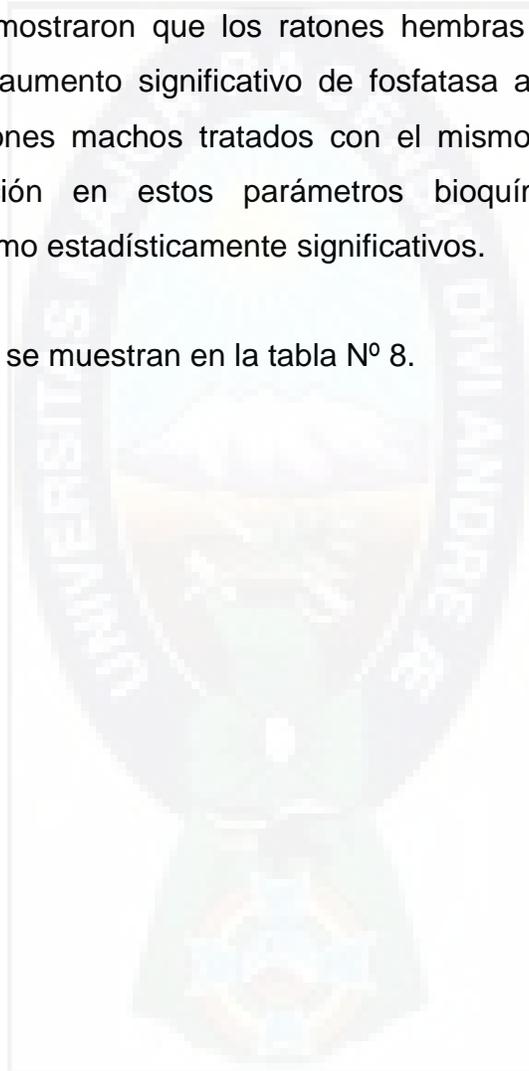
Tabla. N° 7. Influencia del EHA-UU a dosis única de 5000 mg/kg sobre los parámetros hematológicos de los ratones hembras y machos.

g. Pruebas Bioquímicas.-

En la muestra sanguínea obtenida por punción intracardiaca sin anticoagulante, se determinó los siguientes parámetros bioquímicos: Glucosa, Creatinina, Ac. Úrico, Urea, Colesterol, Triglicéridos, Fosfatasa alcalina y Alanina aminotransferasa.

Los resultados mostraron que los ratones hembras tratadas con el EHA-Uu presentaron un aumento significativo de fosfatasa alcalina respecto al grupo control. Los ratones machos tratados con el mismo extracto no presentaron ninguna alteración en estos parámetros bioquímicos que puedan ser considerados como estadísticamente significativos.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 8.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (5000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Bioquímicos	Valores	Valores
Hembras		
Glucosa (mg/dL)	91.75 ± 11.58	87.48 ± 6.66
Creatinina (mg/dL)	0.933 ± 0.10	0.97 ± 0.17
Urea (mg/dL)	11.48 ± 0.12	12.17 ± 0.81
Ac. Úrico (mg/dL)	3.27 ± 0.31	2.82 ± 0.32
Colesterol (mg/dL)	157.10 ± 11.63	144.77 ± 23.61
Triglicéridos (mg/dL)	67.20 ± 18.52	50.68 ± 35.54
Fosf. Alc. (IU/L)	113.03 ± 1.32	209.28 ± 44.81**
GPT (IU/L)	23.87 ± 0.89	27.40 ± 9.71
Machos		
Glucosa (mg/mL)	95.87 ± 4.26	93.43 ± 6.24
Creatinina (mg/mL)	1.02 ± 0.15	1.13 ± 0.08
Urea (mg/mL)	13.12 ± 1.55	13.60 ± 0.89
Ac. Úrico (mg/mL)	2.77 ± 0.10	2.53 ± 0.34
Colesterol (mg/mL)	157.80 ± 22.02	155.95 ± 19.48
Triglicéridos (mg/mL)	69.57 ± 17.46	50.68 ± 35.54
Fosf. Alc. (IU/L)	224.73 ± 54.16	251.43 ± 42.36
GPT (IU/L)	30.63 ± 5.79	27.50 ± 4.97

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, ** p< 0,01 (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

Tabla. Nº 8. Influencia del EHA-UU a dosis de 5000 mg/kg sobre los parámetros bioquímicos de ratones hembras y machos.

2. PIPER ELONGATUM Poir..-

El *Piper elongatum* Poir también conocido como: matico, cordoncillo, higuillo o higuillo de hoja menuda, es un árbol perenne de 6-7 metros de altura con hojas de color verde claro, alterno y en forma de lanza de 12-20 cm de largo y 5-8 de ancho. Es utilizado frecuentemente como antiinflamatorio, antirreumático y antiséptico.

a. DL50.-

A grupos de 6 ratones machos y hembras (20-30g de peso corporal), en ayunas de 6 horas se administró dosis de: 3000 y 5000 mg/Kg de peso corporal de EHA-Pe por vía oral y los ratones del grupo control recibieron el solvente (solución fisiológica) en una relación de 0,1 mL/10g de peso corporal. Durante la evaluación no se presentó mortalidad a estas dosis por lo que se asume que la DL50 es superior a la dosis de 5000 mg/Kg de peso corporal.

b. Comportamiento General.-

A grupos de 6 ratones de ambos sexos recibieron dosis de 3000 y 5000 mg/Kg de peso corporal de EHA-Pe por vía oral. Los ratones del grupo control recibieron el solvente en una relación de 0,1 mL/10g de peso corporal. Tras la administración de los extractos, se observaron y determinaron diferentes parámetros de comportamiento a los 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos, 4, 8 y 24 horas basado en el Test de Irwin (Test Hipocrático).

Según los resultados obtenidos se pudo observar que el EHA-Pe presentó una disminución de la habilidad prensil de las patas traseras y delanteras, además se evidenció piloerección en ratones machos en grado variable según la dosis administrada.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 9 Y 10.

Grupos	Sexo	Habilidad prensil	Habilidad prensil	Piloerección	Conducta pasiva
		patas traseras	patas delanteras		
		+	+		
Control	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	0/6	0/6	0/6
Tratados (60 min)	H	1/6	1/6	0/6	0/6
	M	5/6	3/6	0/6	0/6

Tabla N° 9. Efectos sobre el comportamiento general en ratones hembras y machos después de la administración oral del EHA-PE a dosis única de 3000 mg/kg hasta los 60 min. de evaluación.

Grupos	Sexo	Habilidad prensil	Habilidad prensil	Piloerección	Conducta pasiva
		patas traseras	patas delanteras		
		(+++/+)	(+++/+)	+	
Control	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	0/6	0/6	0/6
Tratados (60 min.)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	2/6	2/6	3/6	0/6
(4 hrs.)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	2/6	2/6	2/6	0/6
(8 hrs.)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	1/6	1/6	0/6	0/6

Tabla N° 10. Efectos sobre el comportamiento general en ratones hembras y machos después de la administración oral del EHA-PE a dosis única de 5000 mg/kg hasta los 60 min., 4 y 8 hrs. de evaluación.

c. Temperatura Rectal de Ratones.-

La temperatura rectal de los ratones fue medida antes de los tratamientos y durante intervalos de 15min., 30min., 60min., 120min., 4 hrs., 8hrs. y 24 horas después de la administración del extracto, así como una medición diaria durante los 14 días de evaluación.

En los resultados obtenidos se puede observar que los ratones hembras tratadas a dosis única de 3000 y 5000mg/Kg con el EHA-Pe no presentaron ninguna alteración de la temperatura rectal durante la primeras 24 horas y 14 días de evaluación.

Los ratones machos tratados con dosis única de 5000mg/Kg de EHA-Pe presentaron elevación de la temperatura corporal a las primeras 8 horas de evaluación, estadísticamente significativo respecto al grupo control. Durante los posteriores 14 días de evaluación no se presentaron alteraciones que puedan ser consideradas como estadísticamente significativas.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 11 y 12; gráficas N° 19 al 36.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe 3000mg/kg	EHA- Pe 5000 mg/kg
Sexo/ Tiempo	Temperatura Corporal (°C)	Temperatura Corporal (°C)	Temperatura Corporal (°C)
Hembras			
15 min.	37.63 ± 0.63	36.63 ± 1.63	36.87 ± 0.67
30 min.	37.63 ± 0.63	36.63 ± 1.63	36.88 ± 0.67
60 min.	37.85 ± 0.22	36.77 ± 1.70	37.37 ± 0.70
120 min.	37.15 ± 0.51	36.67 ± 0.42	37.17 ± 0.17
4 horas	36.50 ± 0.58	36.65 ± 0.55	36.40 ± 0.45
8 horas	36.65 ± 0.59	37.00 ± 0.62	36.67 ± 0.34
24 horas	36.73 ± 0.57	37.13 ± 0.40	36.80 ± 0.41
Machos			
15 min.	36.23 ± 0.93	36.17 ± 0.85	37.00 ± 1.02
30 min.	36.52 ± 0.76	37.18 ± 0.78	37.05 ± 0.80
60 min.	36.48 ± 0.60	36.87 ± 0.92	37.13 ± 1.16
120 min.	36.70 ± 0.69	36.72 ± 0.53	37.25 ± 1.00
4 horas	36.68 ± 0.87	37.00 ± 0.43	36.58 ± 0.89
8 horas	36.22 ± 0.68	36.42 ± 0.69	37.22 ± 0.23*
24 horas	36.50 ± 0.74	36.95 ± 0.48	36.62 ± 0.63

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de test de múltiple comparación de Tukey Kramer Test).

Tabla. Nº 11. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras y machos durante las primeras 24 horas de evaluación.

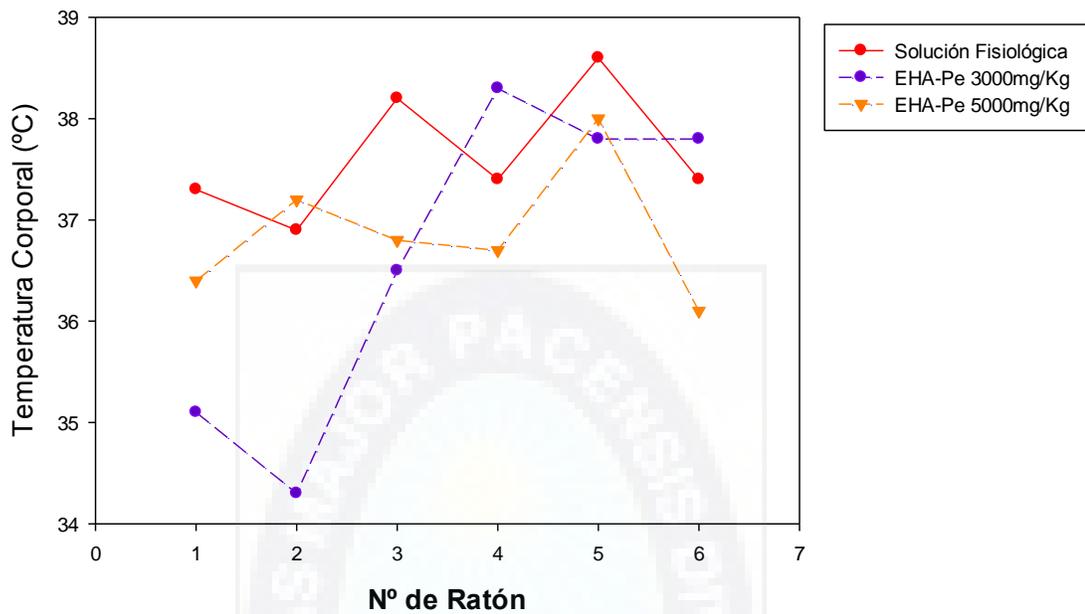


Figura Nº 19. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a los 15 min. de evaluación.

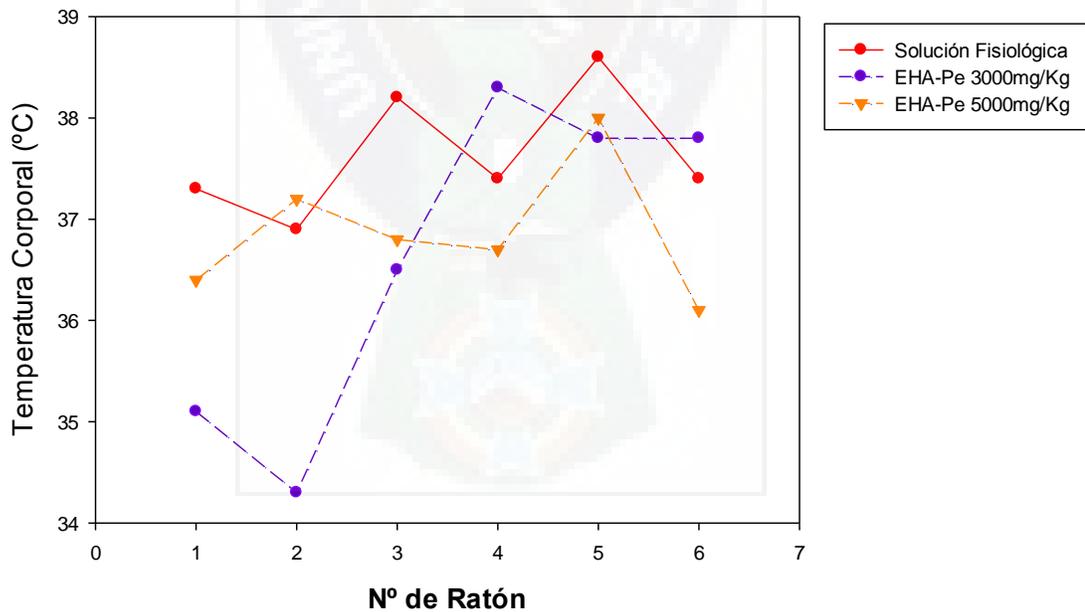


Figura Nº 20. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a los 30 min. de evaluación.

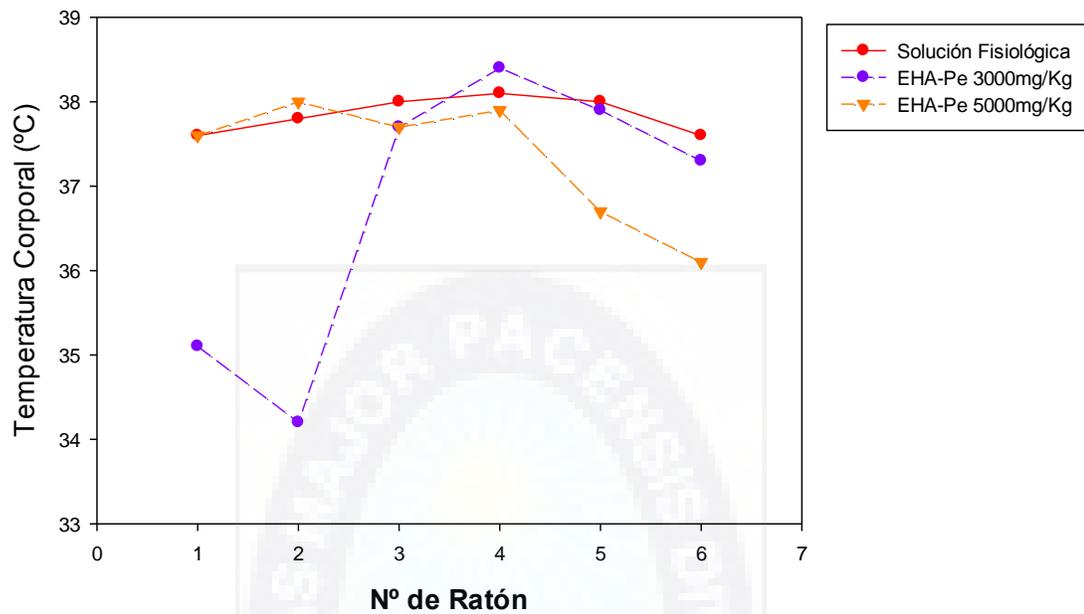


Figura Nº 21. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a los 60 min. de evaluación.

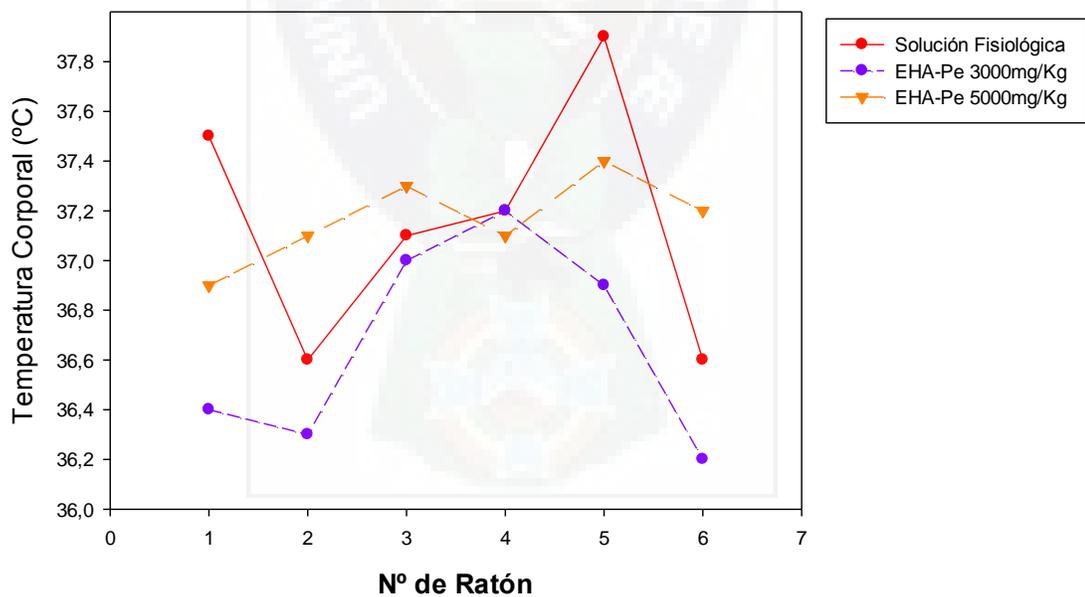


Figura Nº 22. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a los 120 min. de evaluación.

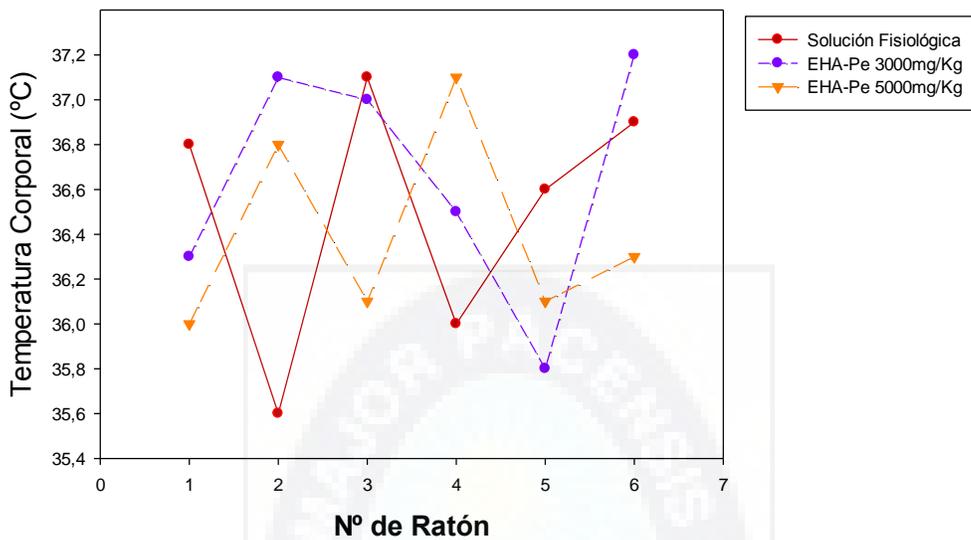


Figura Nº 23. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a las 4 horas de evaluación.

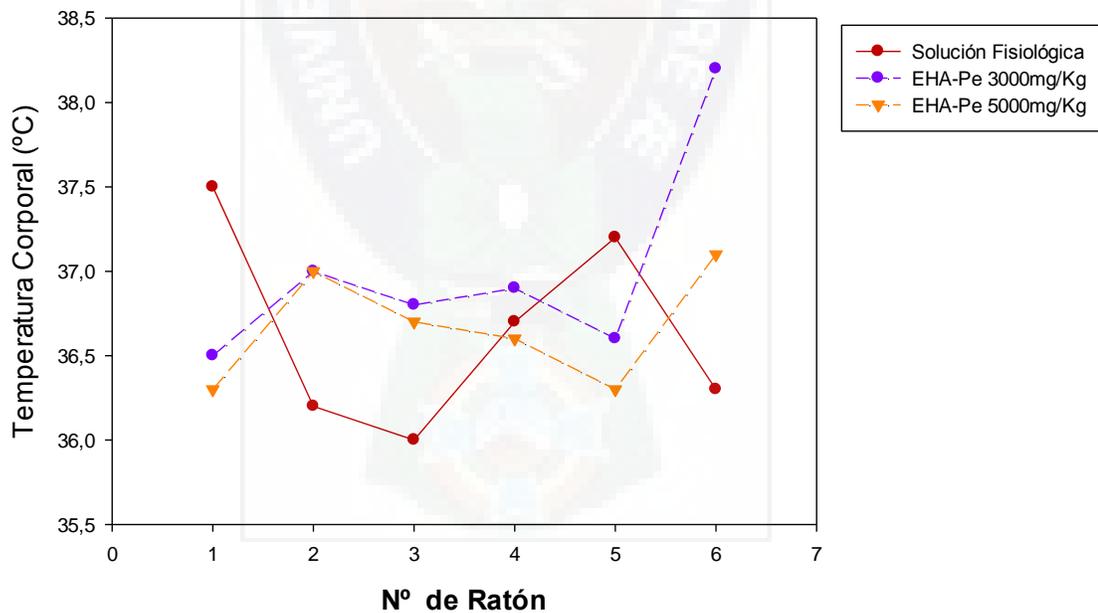


Figura Nº 24. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a las 8 horas de evaluación.

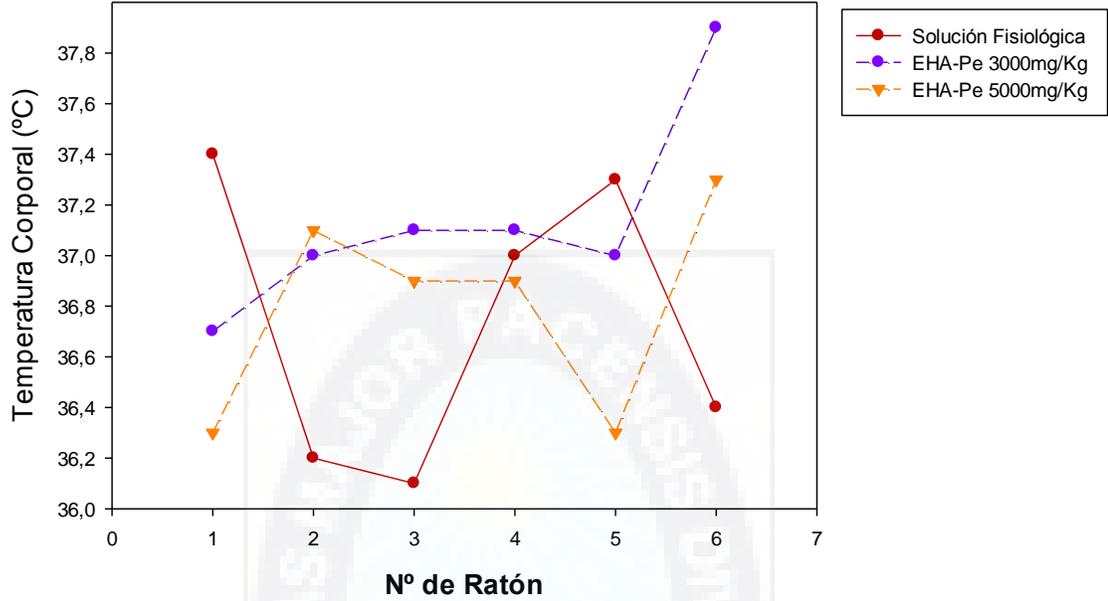


Figura Nº 25. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras a las 24 horas de evaluación.

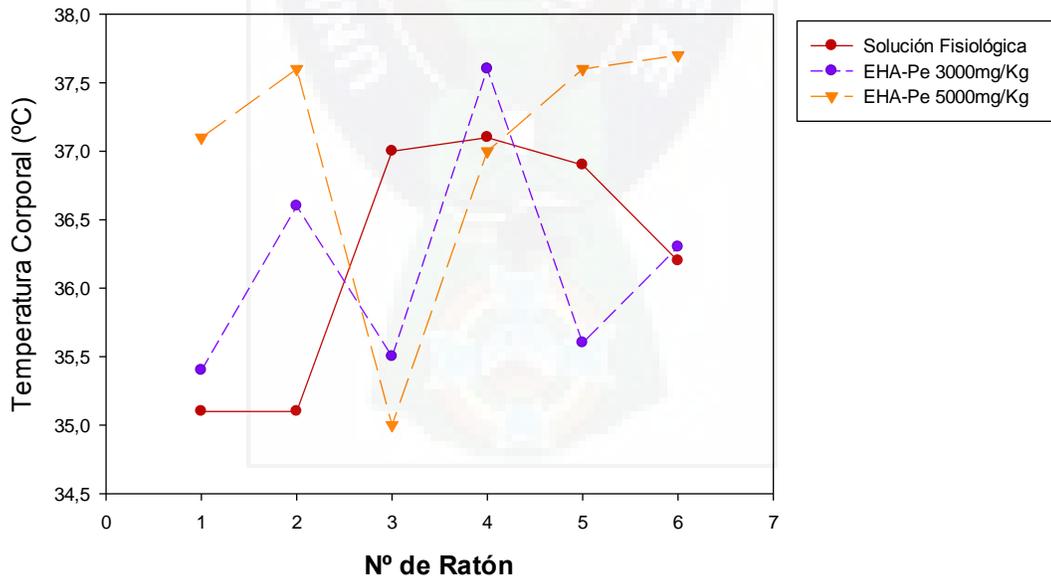


Figura Nº 26. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a los 15 min. de evaluación.

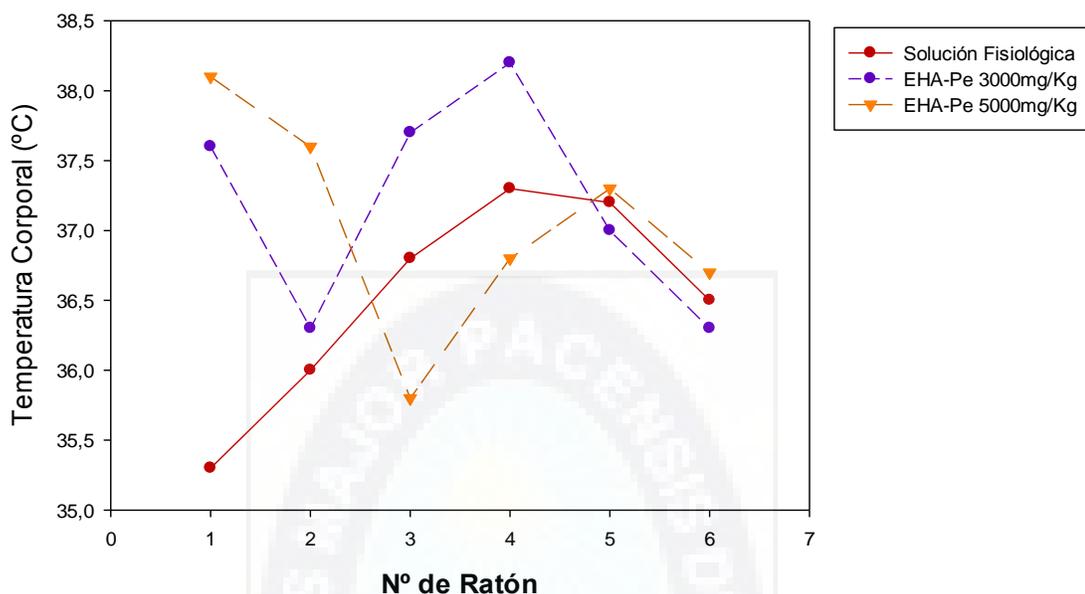


Figura Nº 27. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a los 30 min. de evaluación.

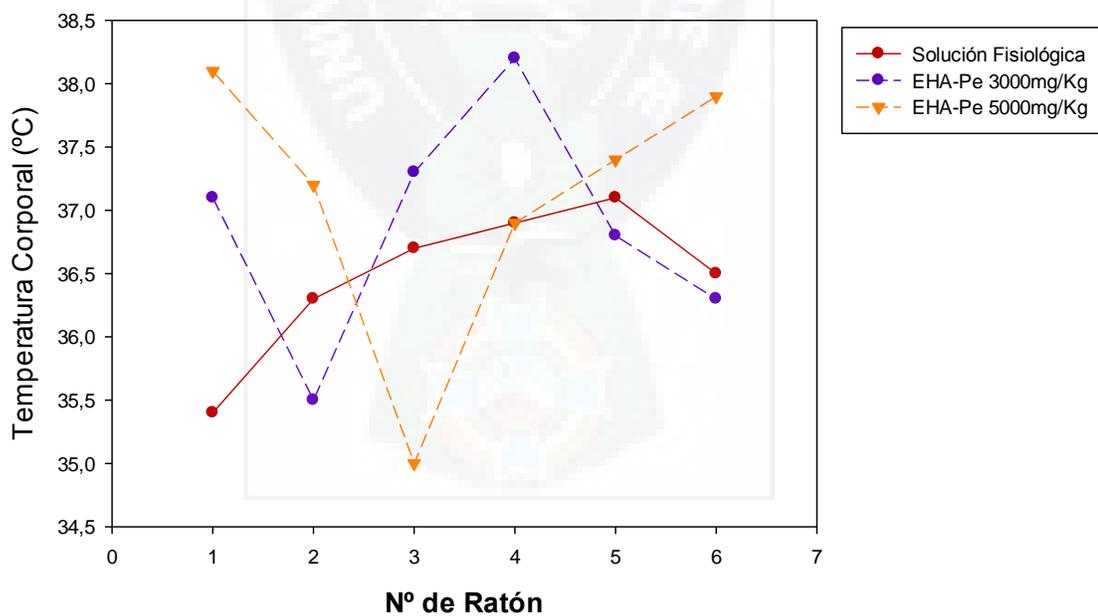


Figura Nº 28. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a los 60 min. de evaluación.

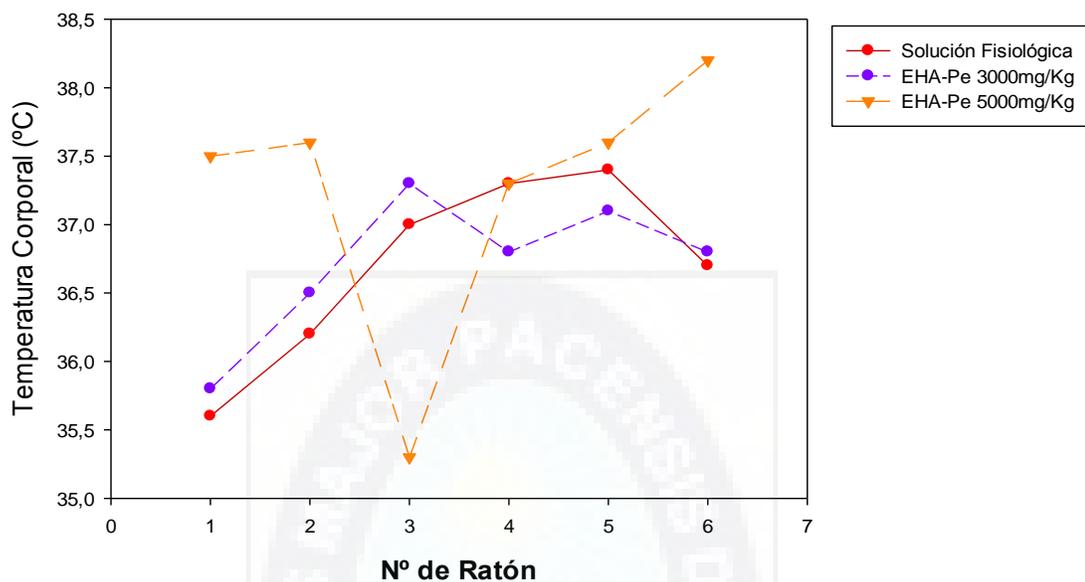


Figura Nº 29. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a los 120 min. de evaluación.

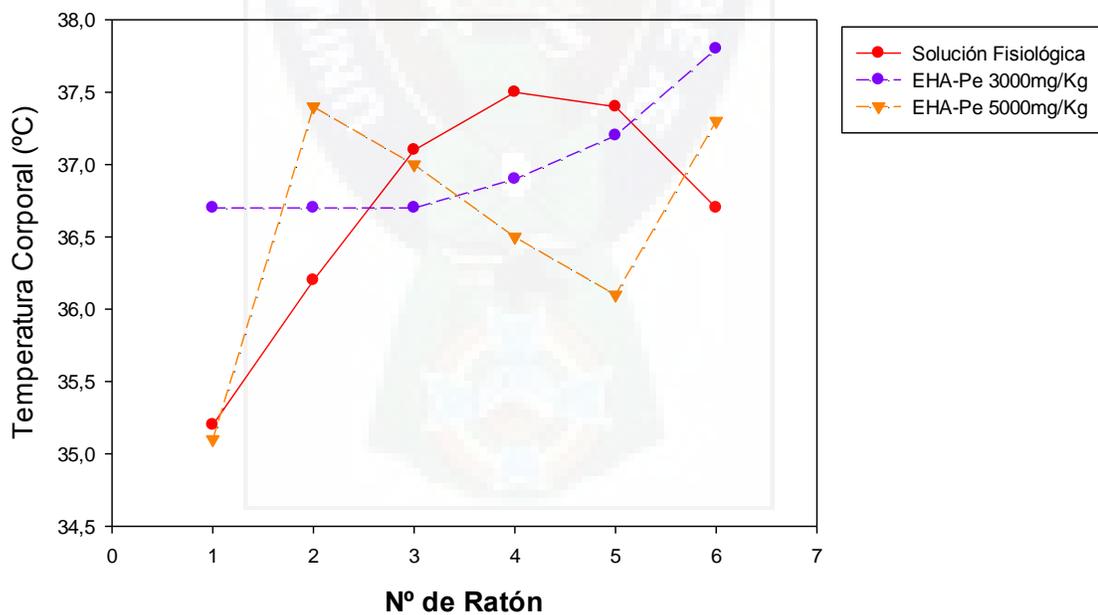


Figura Nº 30. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a las 4 horas de evaluación.

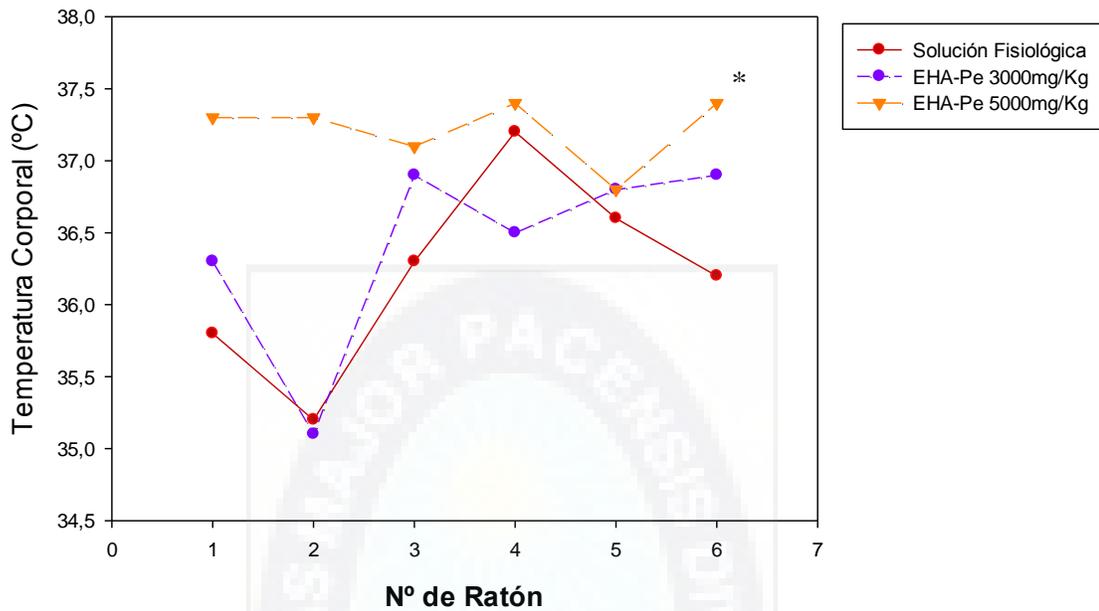


Figura Nº 31. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a las 8 horas de evaluación.

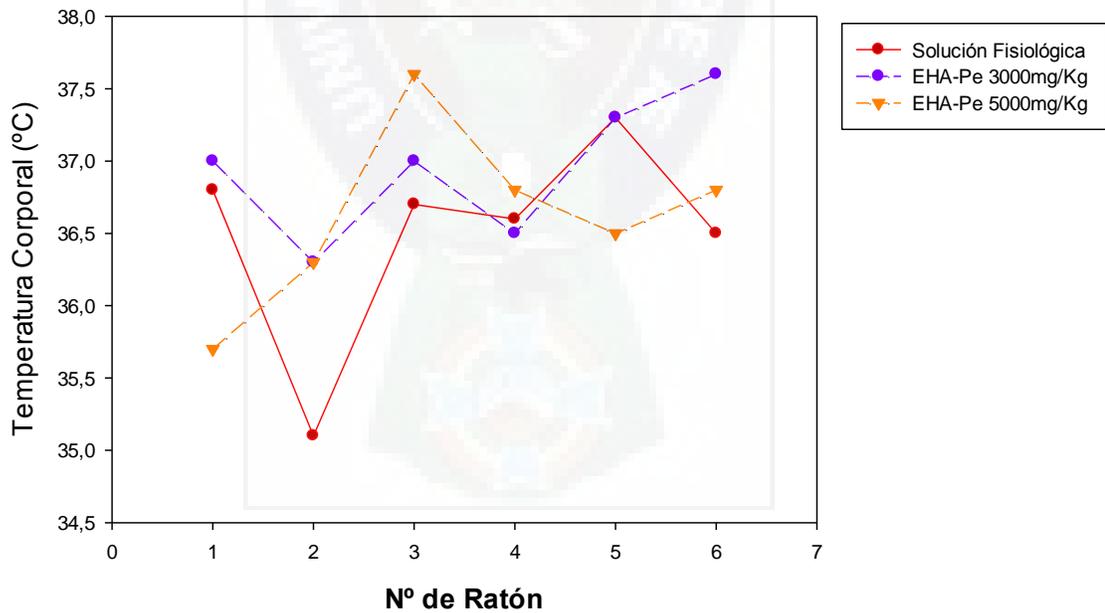


Figura Nº 32. Influencia de la administración del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos a las 24 horas de evaluación.

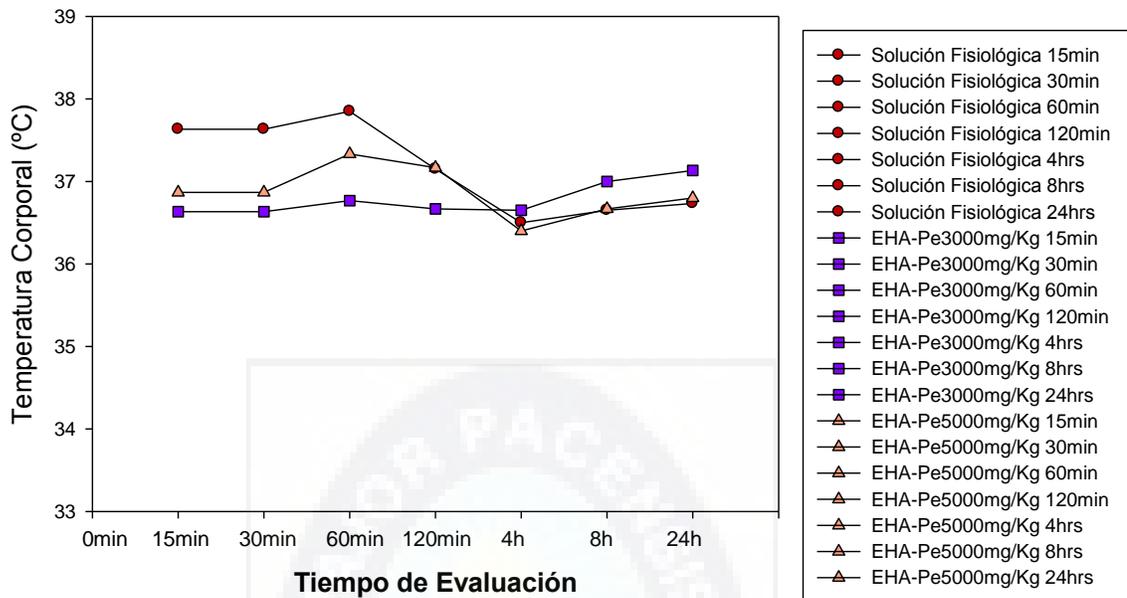


Figura Nº 33. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras durante las primeras 24 horas de evaluación.

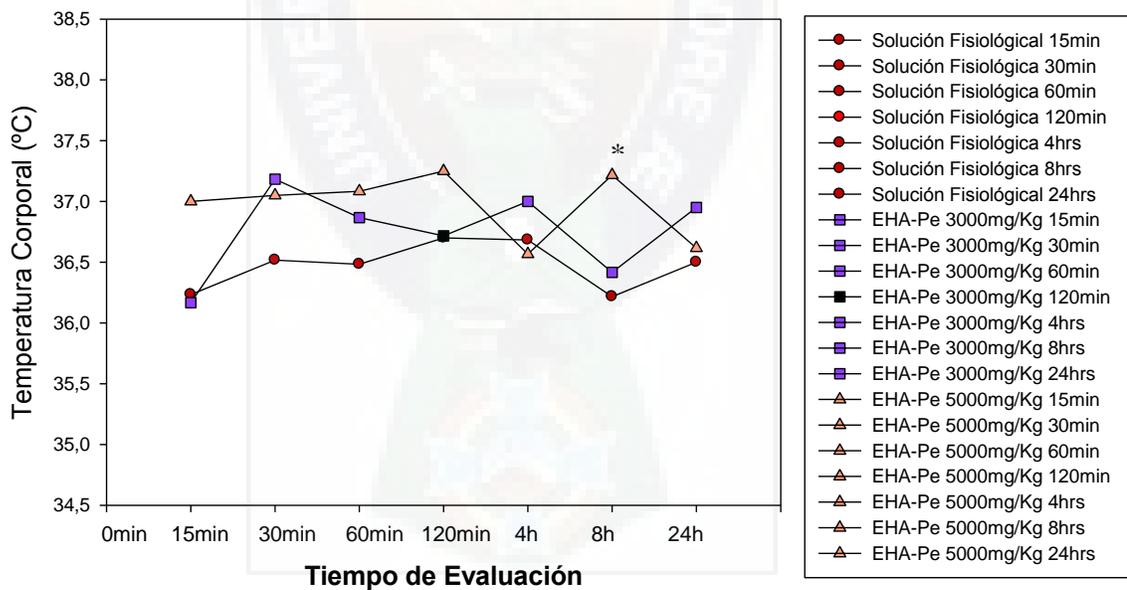


Figura Nº 34. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos durante las primeras 24 horas de evaluación.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe 3000mg/kg	EHA-Pe 5000 mg/kg
Sexo/Días de Evaluación	Temperatura Rectal (°C)	Temperatura Rectal (°C)	Temperatura Rectal (°C)
Hembras			
1° día	36.73 ± 0.57	37.13 ± 0.40	36.80 ± 0.41
7° día	37.43 ± 0.55	37.28 ± 0.51	37.03 ± 0.81
14° día	36.95 ± 0.95	37.38 ± 0.89	37.08 ± 0.77
Machos			
1° día	36.5 ± 0.74	36.95 ± 0.48	36.62 ± 0.63
7° día	36.58 ± 0.22	36.07 ± 0.66	36.17 ± 0.52
14° día	36.37 ± 0.45	36.25 ± 0.41	35.95 ± 0.61

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. (ANOVA Paramétrico)

Tabla. N° 12. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras y machos durante los 14 días de evaluación.

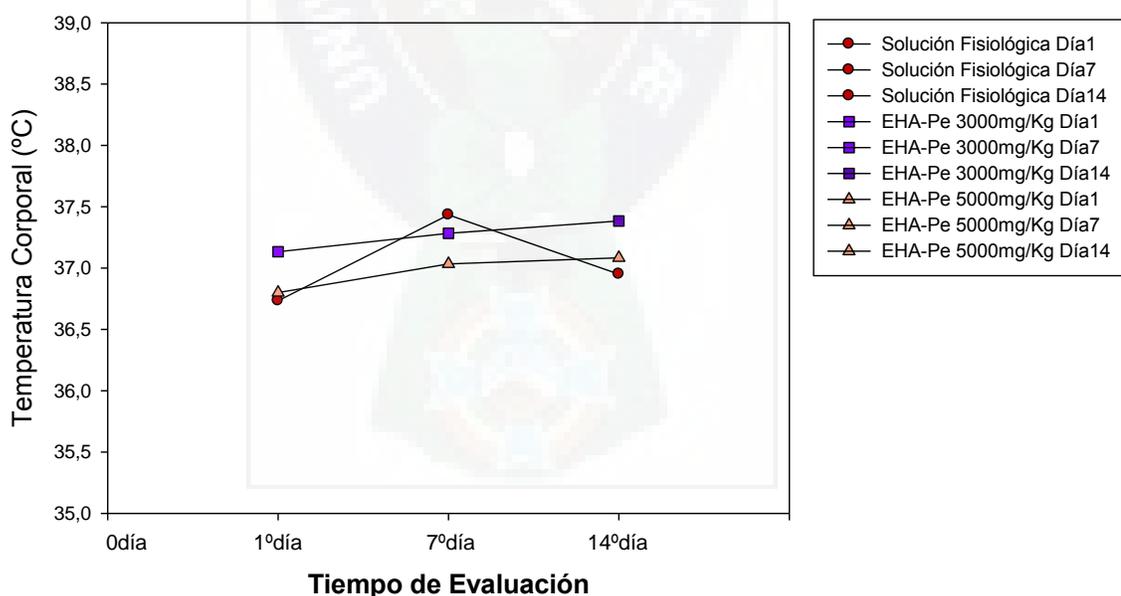


Figura N° 35. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras durante los 14 días de evaluación.

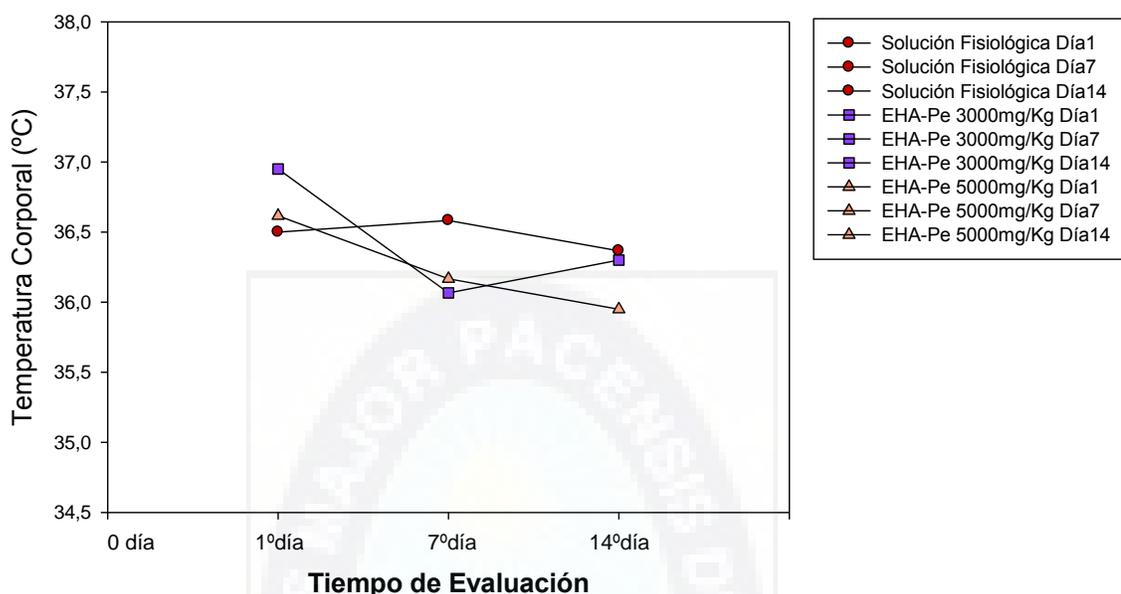


Figura Nº 36. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones machos durante los 14 días de evaluación.

d. Peso Corporal.-

El peso corporal de ratones fue medido antes de los tratamientos y cada 24 horas después de los mismos. Así mismo, para respaldar la influencia que puede tener el extracto sobre el peso corporal, se hizo la correspondiente medición de la cantidad de comida consumida y el volumen de agua ingerido por los grupos de ratones cada 24 horas durante toda la evaluación para ambos casos.

Según los resultados obtenidos se observó que los ratones machos tratados con el EHA-Pe con dosis de 3000mg/Kg presentaron menor peso corporal hasta los 14 días de evaluación y con dosis de 5000mg/Kg presentaron menor peso corporal hasta el 7º día de evaluación, que son considerados como estadísticamente significativos respecto al grupo control. Los ratones hembras tratados con el EHA-Pe para ambas dosis no presentan ningún cambio significativo en el peso corporal.

Con relación al peso de comida y del volumen de agua ingerido por los grupos tratados se observó que los ratones machos tratados con dosis de 5000mg/Kg presentaron un aumento en la ingesta de comida estadísticamente significativo respecto al grupo control, no existiendo tal significancia en el consumo de agua. Los ratones hembras tratados con el mismo extracto a ambas dosis no presentaron diferencia significativa en el consumo de comida y agua.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 13 y 14; gráficas N° 37 al41.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe (3000 mg/kg)	EHA-Pe (5000 mg/kg)
Sexo/Días de Evaluación	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)
Hembras			
1° día	20.90 ± 2.27	21.70 ± 0.38	21.98 ± 1.09
7° día	21.13 ± 2.71	21.22 ± 1.07	21.63 ± 1.13
14° día	21.07 ± 2.50	21.35 ± 0.87	21.85 ± 1.48
Machos			
1° día	24.62 ± 1.21	20.95 ± 0.58***	22.58 ± 0.41***
7° día	25.40 ± 0.87	22.27 ± 0.75***	23.52 ± 0.96**
14° día	26.48 ± 1.30	23.82 ± 0.85**	25.10 ± 0.93

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, ** p< 0,01;*** p< 0,001. (ANOVA Paramétrico; de un factor seguido de test de múltiple comparación de Tukey Kramer Test).

Tabla N° 13. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones hembras y machos.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe 3000mg/kg	EHA-Pe 5000 mg/kg
Sexo	Peso de Comida (g)	Peso de Comida (g)	Peso de Comida (g)
Hembras			
Durante 14° días	16.30 ± 1.41	16.09 ± 1.63	15.88 ± 1.60
Machos			
Durante 14° días	19.54 ± 1.15	19.67 ± 1.04	21.84 ± 1.67***
Sexo	Volumen de Agua (mL)	Volumen de Agua (mL)	Volumen de Agua (mL)
Hembras			
Durante 14° días	26.00 ± 2.66	27.50 ± 4.43	28.36 ± 5.58
Machos			
Durante 14° días	31.57 ± 4.13	31.07 ± 1.68	34.21 ± 2.36

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, *** p < 0,001. (ANOVA Paramétrico; de un factor seguido de test de múltiple comparación de Tukey Kramer Test).

Tabla N° 14. Influencia del EHA-PE a dosis de 3000 y 5000 mg/kg sobre el consumo de comida y agua de ratones hembras y machos.

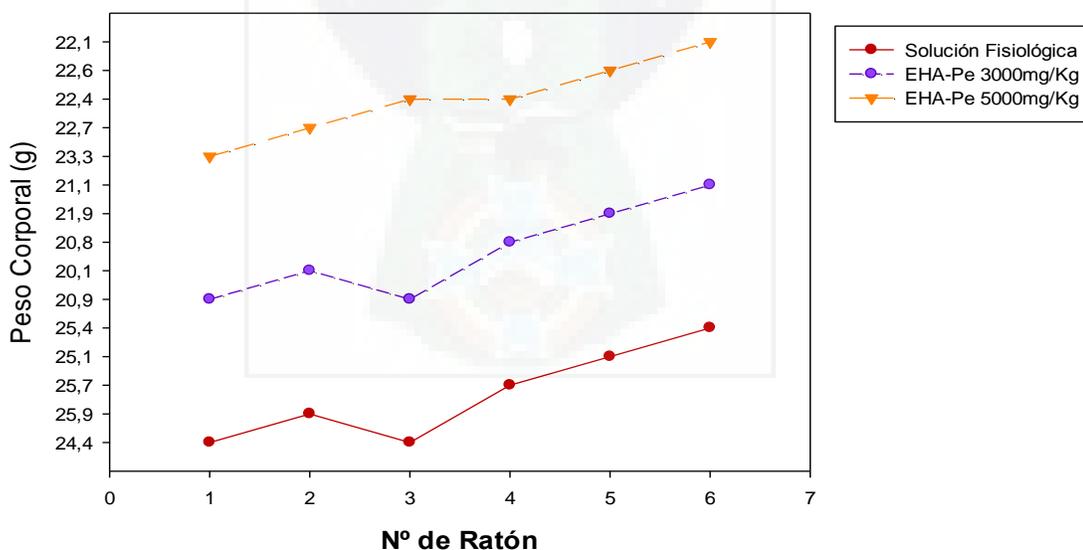


Figura N° 37. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones machos en el 1° día de evaluación.

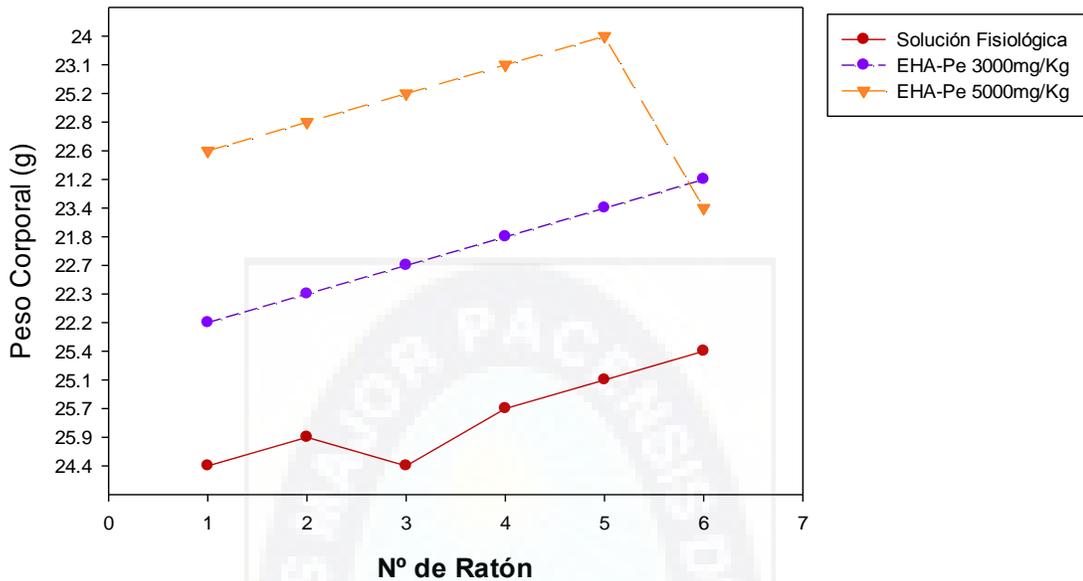


Figura Nº 38. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones machos en el 7º día de evaluación.

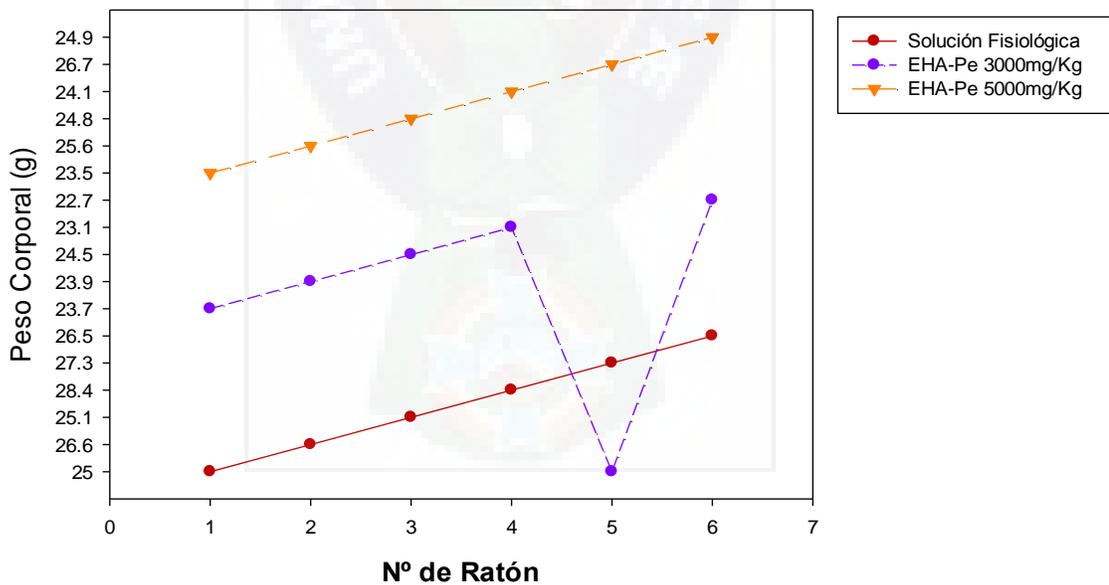


Figura Nº 39. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones machos en el 14º día de evaluación.

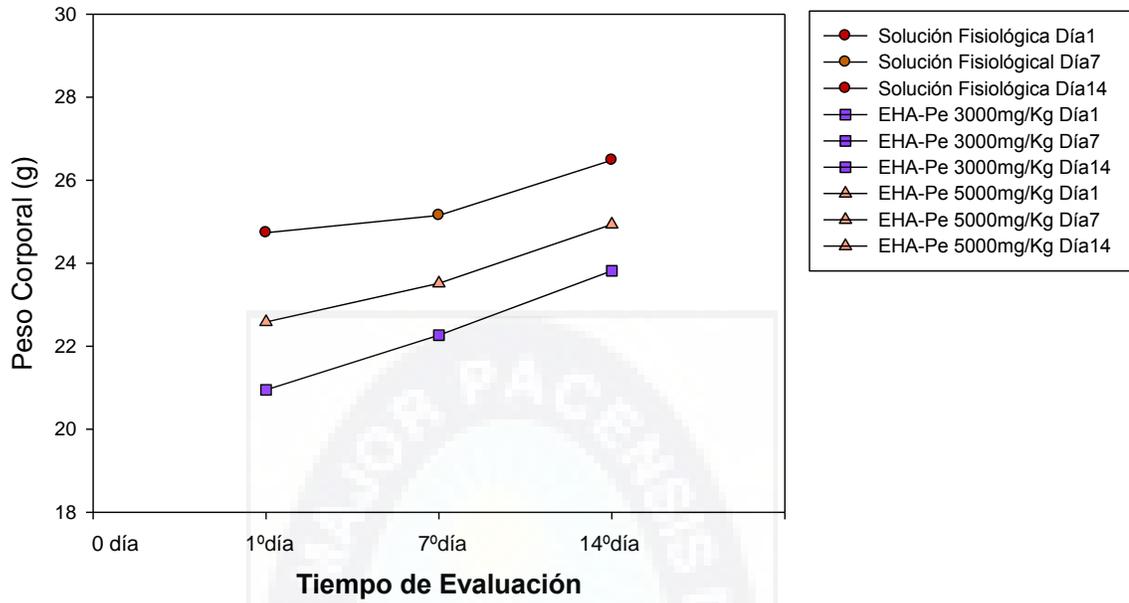


Figura N° 40. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones machos durante los 14 días de evaluación.

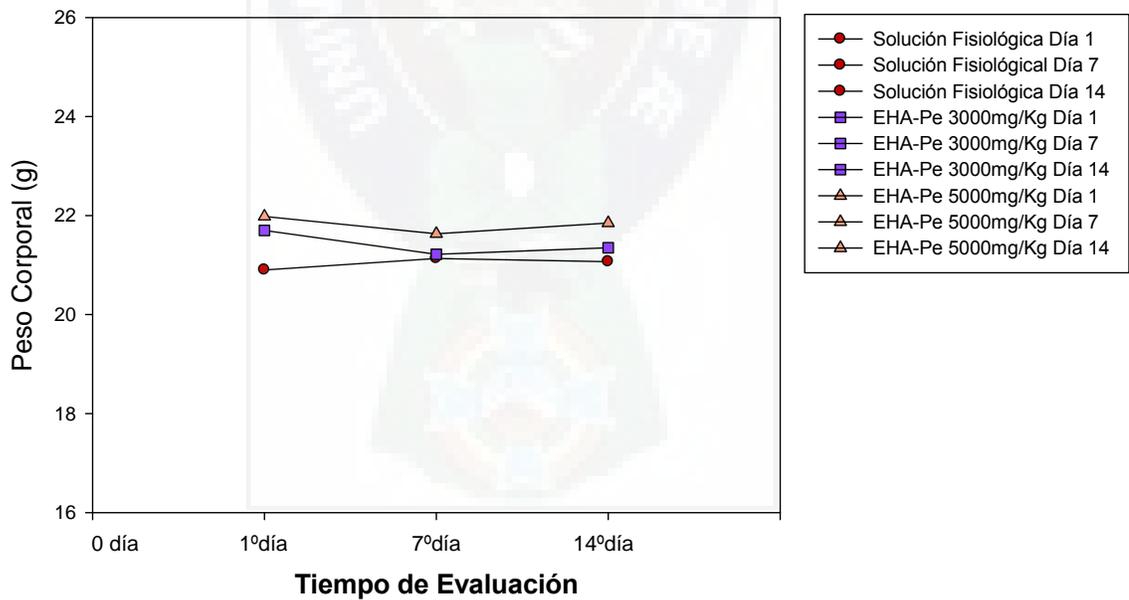


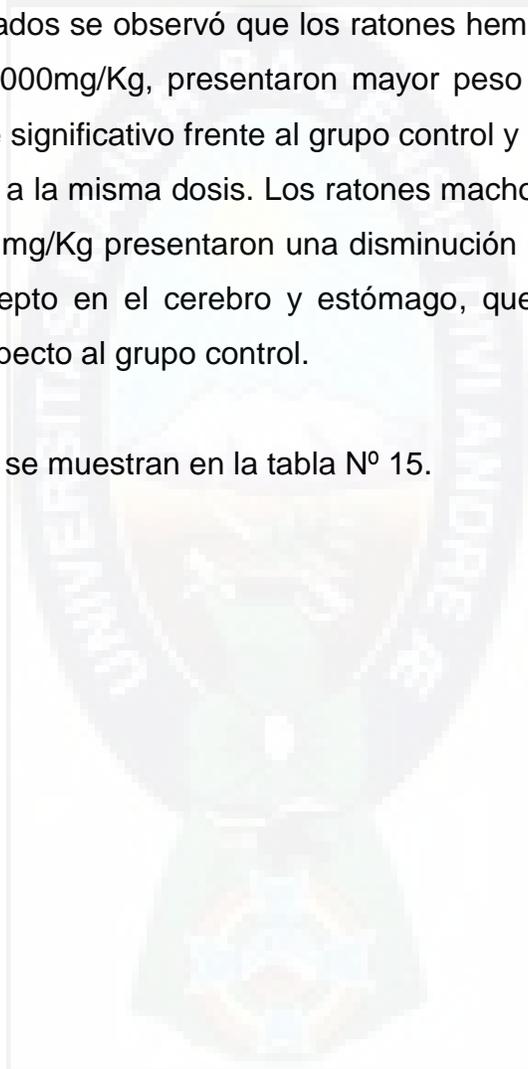
Figura N° 41. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones hembras durante los 14 días de evaluación.

e. Peso de Órganos.-

Al finalizar el tratamiento todos los ratones fueron sacrificados en secuencia individual y las condiciones de los órganos internos (cerebro, corazón, pulmones, estómago, bazo, hígado y riñones) fueron verificados por visualización directa y se pesó cada órgano.

Según los resultados se observó que los ratones hembras tratadas con el EHA-Pe a dosis de 5000mg/Kg, presentaron mayor peso en los riñones e hígado, estadísticamente significativo frente al grupo control y lo contrario en los ratones machos tratados a la misma dosis. Los ratones machos tratados con el EHA-Pe a dosis de 3000 mg/Kg presentaron una disminución de peso en la mayoría de los órganos excepto en el cerebro y estómago, que fueron estadísticamente significativos respecto al grupo control.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 15.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe (3000 mg/kg)	EHA-Pe (5000 mg/kg)
Sexo/ Órganos	Peso de Órganos (g)	Peso de Órganos (g)	Peso de Órganos (g)
Hembras			
Cerebro	0.38 ± 0.05	0.40 ± 0.02	0.43 ± 0.03
Corazón	0.10 ± 0.001	0.12 ± 0.004	0.11 ± 0.01
Pulmones	0.19 ± 0.03	0.21 ± 0.02	0.21 ± 0.01
Estomago	0.22 ± 0.01	0.25 ± 0.03	0.21 ± 0.02
Bazo	0.06 ± 0.02	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01
Hígado	1.06 ± 0.17	1.13 ± 0.09	1.20 ± 0.7*
Riñones	0.33 ± 0.01	0.35 ± 0.01	0.36 ± 0.01**
Machos			
Cerebro	0.44 ± 0.04	0.43 ± 0.03	0.44 ± 0.04
Corazón	0.14 ± 0.01	0.12 ± 0.01**	0.13 ± 0.02
Pulmones	0.25 ± 0.01	0.20 ± 0.02**	0.23 ± 0.01
Estomago	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.03	0.27 ± 0.04
Bazo	0.10 ± 0.01	0.07 ± 0.02*	0.09 ± 0.01
Hígado	1.45 ± 0.04	1.22 ± 0.14*	1.33 ± 0.14
Riñones	0.53 ± 0.02	0.44 ± 0.02**	0.48 ± 0.04

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05; ** p< 0,01. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Kruskal-Wallis Test/ Dunn's Multiple Comparisons Test).

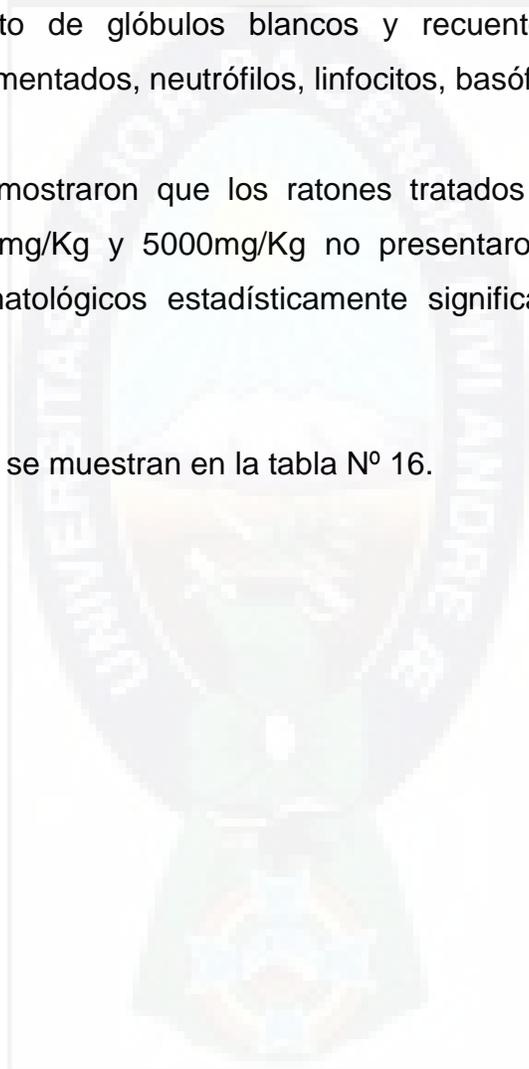
Tabla. Nº15. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg de peso corporal sobre el peso de órganos de ratones hembras y machos.

f. Pruebas Hematológicas.-

De la misma manera que con el EHA-Uu, la muestra sanguínea obtenida por punción intracardiaca, se dividió en dos tubos; uno con anticoagulante EDTA para las pruebas hematológicas y la otra sin anticoagulante para las pruebas bioquímicas. En las pruebas hematológicas se determinó los siguientes parámetros: recuento total de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina, VCM, VCHM. Recuento de glóbulos blancos y recuento diferencial de células (eosinófilos, segmentados, neutrófilos, linfocitos, basófilos y cayados).

Los resultados mostraron que los ratones tratados con el EHA-Pe a dosis únicas de 3000mg/Kg y 5000mg/Kg no presentaron alteraciones sobre los parámetros hematológicos estadísticamente significativos respecto al grupo control.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 16.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe (3000 mg/kg)	EHA-Pe (5000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Hematológicos	Valores	Valores	Valores
Hembras			
GR (10 ⁶ /μL)	5104.0 ± 485.00	5316.70 ± 275.37	5335.0 ± 257.97
Hb (g/dL)	15.03 ± 0.34	15.95 ± 0.85	16.02 ± 0.78
Ht (%)	46.33 ± 4.41	48.33 ± 2.50	48.50 ± 2.34
GB (10 ⁹ /L)	6555.3 ± 722.97	6418.7 ± 1153.5	7150.0 ± 1026.9
Linf. (%)	87.33 ± 2.25	89.67 ± 3.27	89.17 ± 3.19
Segm. (%)	11.83 ± 2.32	9.00 ± 3.35	9.33 ± 2.07
Mono. (%)	0.67 ± 0.82	0.67 ± 0.52	1.00 ± 0.89
Cayados (%)	0.00 ± 0.00	0.83 ± 0.98	0.33 ± 0.52
VSG (mm)	1.000 ± 0.00	0.67 ± 0.52	0.67 ± 0.52
VCM (fL)	92.00 ± 0.00	91.67 ± 0.52	91.67 ± 0.52
Machos			
GR (10 ⁶ /μL)	5258 ± 107.78	5698.0 ± 383.58	5610.0 ± 405.66
Hb (g/dL)	15.77 ± 0.32	17.05 ± 1.17	16.85 ± 1.21
Ht (%)	47.83 ± 0.98	51.83 ± 3.49	51.00 ± 3.69
GB (10 ⁹ /L)	6149.0 ± 1026.6	5246.7 ± 912.6	5119.0 ± 826.28
Linf. (%)	89.33 ± 3.20	89.17 ± 2.79	92.33 ± 1.86
Segm. (%)	10.00 ± 3.03	10.00 ± 2.90	7.00 ± 1.55
Mono. (%)	0.67 ± 0.52	0.67 ± 0.82	0.67 ± 0.82
Cayados (%)	0.00 ± 0.00	0.17 ± 0.41	0.00 ± 0.00
VSG (mm)	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00	0.67 ± 0.52
VCM (fL)	92.00 ± 0.00	91.33 ± 0.52	91.33 ± 0.52

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Kruskal-Wallis Test/ Dunn's Multiple Comparisons Test).

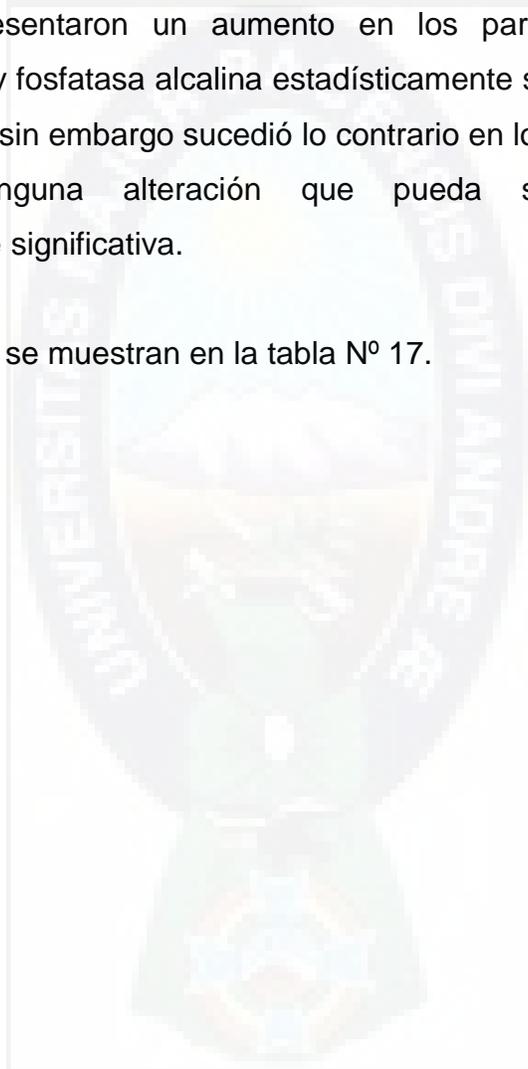
Tabla. Nº16. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg de peso corporal sobre los parámetros hematológicos de ratones hembras y machos.

g. Pruebas Bioquímicas.-

De la misma manera que para el EHA-Uu, las pruebas bioquímicas que se determinaron fueron: Glucosa, Creatinina, Ac. Úrico, Úrea, Colesterol, Triglicéridos, Fosfatasa alcalina y Alanina aminotransferasa.

Los resultados mostraron que los ratones hembras tratados con el EHA-Pe a dosis única presentaron un aumento en los parámetros bioquímicos de creatinina, urea y fosfatasa alcalina estadísticamente significativos con respecto al grupo control, sin embargo sucedió lo contrario en los ratones machos que no presentaron ninguna alteración que pueda ser considerada como estadísticamente significativa.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 17.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Pe (3000 mg/kg)	EHA-Pe (5000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Bioquímicos	Valores	Valores	Valores
Hembras			
Gluc (mg/dL)	91.75 ± 11.58	89.00 ± 13.04	92.90 ± 2.79
Crea (mg/dL)	0.93 ± 0.10	1.02 ± 0.12	1.11 ± 0.11*
U (mg/dL)	11.48 ± 0.12	12.28 ± 0.54	14.97 ± 1.29***
AU (mg/dL)	3.27 ± 0.31	2.87 ± 0.19	2.82 ± 0.21
Chol-T (mg/dL)	157.10 ± 11.63	151.02 ± 25.75	132.57 ± 15.89
TG(mg/dL)	67.20 ± 18.52	98.68 ± 54.92	48.47 ± 8.98
FA. (IU/L)	113.03 ± 1.32	179.43 ± 51.14	223.92 ± 39.63**
ALAT/GPT (IU/L)	23.87 ± 0.89	24.63 ± 2.38	23.07 ± 2.67
Machos			
Gluc (mg/dL)	95.87 ± 4.26	90.15 ± 4.64	90.17 ± 3.26
Crea (mg/dL)	1.02 ± 0.15	0.88 ± 0.10	1.00 ± 0.17
U (mg/dL)	13.12 ± 1.55	13.40 ± 0.55	13.53 ± 1.26
AU (mg/dL)	2.77 ± 0.10	2.78 ± 0.07	2.85 ± 0.24
Chol-T (mg/dL)	157.80 ± 22.02	172.05 ± 19.97	162.68 ± 38.96
TG (mg/dL)	69.57 ± 17.46	49.47 ± 15.51	44.83 ± 7.27
FA. (IU/L)	224.73 ± 54.16	245.73 ± 29.28	216.02 ± 43.96
ALAT/GPT (IU/L)	30.63 ± 5.79	27.00 ± 1.69	29.95 ± 0.88

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05; ** p< 0,01;*** p< 0,001. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Kruskal-Wallis Test/ Dunn's Multiple Comparisons Test).

Tabla. Nº 17. Influencia del EHA-PE a dosis única de 3000 y 5000 mg/kg sobre los parámetros bioquímicos de ratones hembras y machos.

B. TOXICIDAD SUB-AGUDA.-

1. *URTICA URENS* L. y *PIPER ELONGATUM* Poir..-

Para la evaluación de la toxicidad sub-aguda se consideró la dosis de 1000 mg/Kg de peso corporal, la cual se administró a ratones de ambos sexos una vez por día durante 14 días para el EHA-Uu y 28 días para el EHA-Pe.

a. Comportamiento General.-

A grupos de 6 ratones de ambos sexos se administró dosis de 1000 mg/Kg del EHA-Uu y del EHA-Pe por vía oral. Los ratones del grupo control recibieron el solvente (solución fisiológica) en una relación de 0,1 mL/10g de peso corporal. Tras la administración del extracto, se observaron y determinaron diferentes parámetros de comportamiento cada 5, 10, 15, 30, 60, 120 minutos, 4, 8 y 24 horas basado en el Test de Irwin (Test Hipocrático).

Los resultados obtenidos mostraron que el EHA-Uu disminuye la habilidad prensil de patas traseras y delanteras, asimismo se presenta piloerección sobre todo en ratones machos y conducta pasiva tanto en machos y hembras hasta la 4^a hora de evaluación.

El EHA-Pe también disminuye la habilidad prensil de patas delanteras y traseras de los ratones machos, hasta el día 13^o y 14^o de evaluación.

Sin embargo, para ambos extractos los ratones hembras no presentaron este tipo de efectos observados en los ratones machos.

Estos resultados se muestran en las tablas N^o 18 y 19.

Grupos	Sexo	Habilidad prensil	Habilidad prensil	Piloerección	Conducta pasiva
		patas traseras	patas delanteras		
		+	+		
Control	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	0/6	0/6	0/6
Tratados (4 hrs.)	H	0/6	0/6	0/6	6/6
	M	4/6	4/6	0/6	6/6
4º día.	H	1/6	0/6	0/6	0/6
	M	2/6	0/6	0/6	0/6

Tabla N° 18. Efectos sobre el comportamiento general en ratones hembras y machos después de la administración oral del EHA-UU a dosis de 1000mg/kg hasta las 4 hrs. y 4º día de evaluación.

Grupos	Sexo	Habilidad prensil	Habilidad prensil	Piloerección	Conducta pasiva
		patas traseras	patas delanteras		
		+	+		
Control	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	0/6	0/6	0/6
Tratados (24 hrs.)	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	0/6	1/6	0/6	0/6
4º día	H	1/6	0/6	0/6	0/6
	M	2/6	0/6	0/6	0/6
12º y 13º día	H	0/6	0/6	0/6	0/6
	M	2/6	2/6	0/6	0/6

Tabla N° 19. Efectos sobre el comportamiento general en ratones hembras y machos después de la administración oral del EHA-PE a dosis de 1000mg/kg hasta las 24 hrs., 4º DÍA y 12º - 13º día de evaluación.

b. Temperatura Rectal de Ratones.-

La temperatura rectal de los ratones fue medida antes de los tratamientos y durante intervalos de 15min., 30min., 60min., 120min., 4 hrs., 8hrs. y 24 horas después de la administración del extracto, así como una medición diaria durante los 14 y 28 días de evaluación para el EHA-Uu y el EHA-Pe respectivamente.

Los resultados obtenidos mostraron que los ratones hembras tratados con el EHA- Pe presentaron una disminución de la temperatura corporal el día 21 de tratamiento estadísticamente significativo respecto del grupo control, y de la misma manera los ratones machos al día 28 de tratamiento.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 20.

	Control (Suero Fis.)	EHA- Uu 1000mg/kg	EHA- Pe 1000 mg/kg
Sexo/ Días de Evaluación	Temperatura Rectal (°C)	Temperatura Rectal (°C)	Temperatura Rectal (°C)
Hembras			
1° día	36.73 ± 0.57	36.68 ± 0.59	37.42 ± 0.74
7° día	37.43 ± 0.55	37.15 ± 0.50	37.30 ± 0.77
14° día	36.95 ± 0.95	36.65 ± 1.02	37.35 ± 0.68
21° día	37.28 ± 0.39		36.23 ± 0.61**
28° día	36.62 ± 0.55		36.52 ± 0.49
Machos			
1° día	36.50 ± 0.74	36.82 ± 0.46	37.08 ± 0.86
7° día	36.58 ± 0.22	36.55 ± 0.48	36.40 ± 0.42
14° día	36.37 ± 0.45	36.58 ± 0.61	36.52 ± 0.52
21° día	36.40 ± 0.53		35.87 ± 1.08
28° día	37.57 ± 0.69		36.35 ± 0.51**

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, ** p< 0,01;*** (ANOVA Paramétrico; t-Test).

Tabla. N° 20. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre la temperatura rectal de ratones hembras y machos.

c. Peso Corporal.-

El peso corporal de ratones fue medido cada 24 horas durante los 14 y 28 días de tratamiento para ambos extractos. Asimismo, se midió cada 24 horas el peso de comida consumido y el volumen de agua ingerido por los grupos tratados durante todo el periodo de evaluación del tratamiento.

Los resultados obtenidos mostraron que los ratones machos tratados con el EHA-Uu a dosis continua presentaron menor peso hasta el día 7 normalizándose el peso el día 14, este resultado se correlaciona con el aumento de consumo de comida y agua estadísticamente significativos frente al grupo control y para los ratones machos tratados con el EHA-Pe presentaron hasta la finalización del tratamiento (28 días) un menor peso corporal además de presentar un mayor consumo de agua que son considerados como estadísticamente significativos respecto al grupo control. En el caso de las hembras tratadas con los respectivos extractos no presentaron ninguna alteración en el peso corporal, sin embargo las hembras tratadas con el EHA-Uu presentaron un aumento en el consumo de comida estadísticamente significativo frente al grupo control.

Estos resultados se muestran en las tablas N° 21 y 22; gráficas N° 42 y 43.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (1000 mg/kg)	EHA-Pe (1000 mg/kg)
Sexo/ Días de Evaluación	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)	Peso Corporal (g)
Hembras			
1º día	20.90 ± 2.27	20.12 ± 0.57	20.27 ± 0.31
7º día	21.13 ± 2.71	21.13 ± 0.81	21.13 ± 0.43
14 día	21.07 ± 2.50	21.95 ± 1.32	21.52 ± 0.49
21 día	21.05 ± 2.53		22.73 ± 0.94
28 día	20.88 ± 2.36		22.57 ± 1.07
Machos			
1º día	24.61 ± 1.21	20.48 ± 0.26***	20.23 ± 0.58***
7º día	25.40 ± 0.87	23.97 ± 0.94*	22.17 ± 1.01***
14 día	26.48 ± 1.30	26.13 ± 1.48	24.28 ± 1.61*
21 día	27.57 ± 2.13		24.52 ± 1.47*
28 día	27.63 ± 1.60		25.45 ± 1.10*

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05; ** p< 0,01;*** p< 0,001. (ANOVA Paramétrico; t-Test)

Tabla Nº 21. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones hembras y machos.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu 1000mg/kg	EHA-Pe 1000 mg/kg
Sexo	Peso de Comida (g)	Peso de Comida (g)	Peso de Comida (g)
Hembras			
Durante 14º días	16.30 ± 1.41	17.96 ± 1.64**	17.51 ± 1.88
Durante 28º días	15.83 ± 1.32		17.20 ± 1.68**
Machos			
Durante 14º días	19.54 ± 1.15	21.71 ± 0.84***	19.94 ± 1.60
Durante 28º días	18.82 ± 1.38		19.06 ± 1.73
Sexo	Volumen de Agua (mL)	Volumen de Agua (mL)	Volumen de Agua (mL)
Hembras			
Durante 14º días	26.00 ± 2.66	28.50 ± 3.86	30.64 ± 3.85***
Durante 28º días	25.64 ± 2.61		29.43 ± 3.90***
Machos			
Durante 14º días	31.57 ± 4.13	37.86 ± 4.00***	36.14 ± 4.31**
Durante 28º días	30.82 ± 4.10		34.46 ± 4.32**

Los datos son expresados como media ± DS, N=6. *Diferencia significativa frente al control, ** p< 0,01;*** p< 0,001. (ANOVA Paramétrico; t-Test)

Tabla Nº 22. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre el consumo de comida y agua de los ratones hembras y machos.

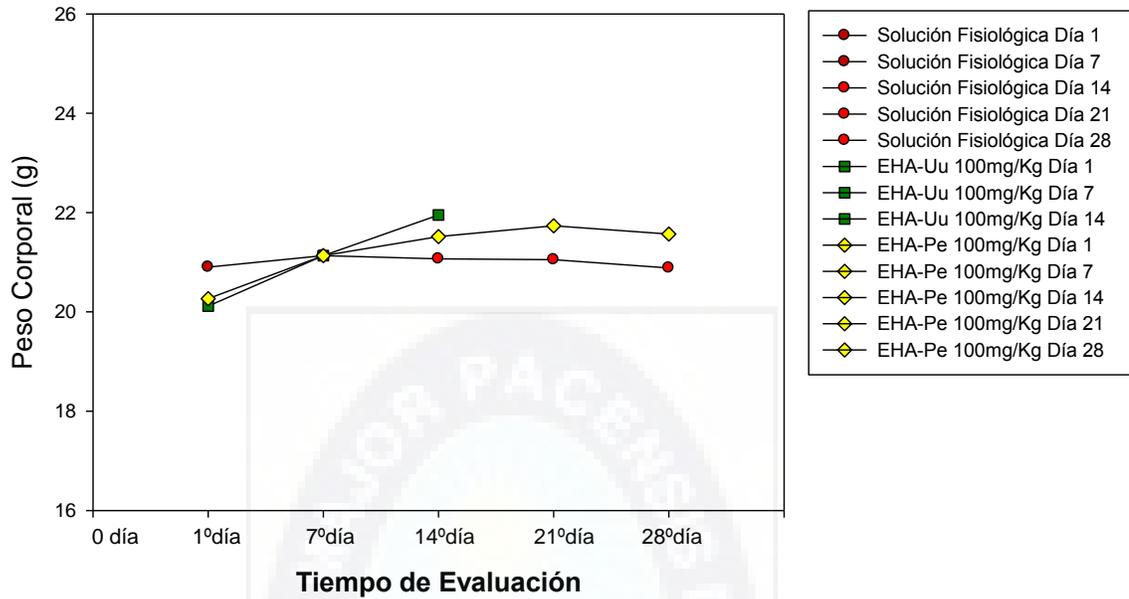


Figura Nº 42. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones hembras durante los 14 y 28 días de evaluación respectivamente.

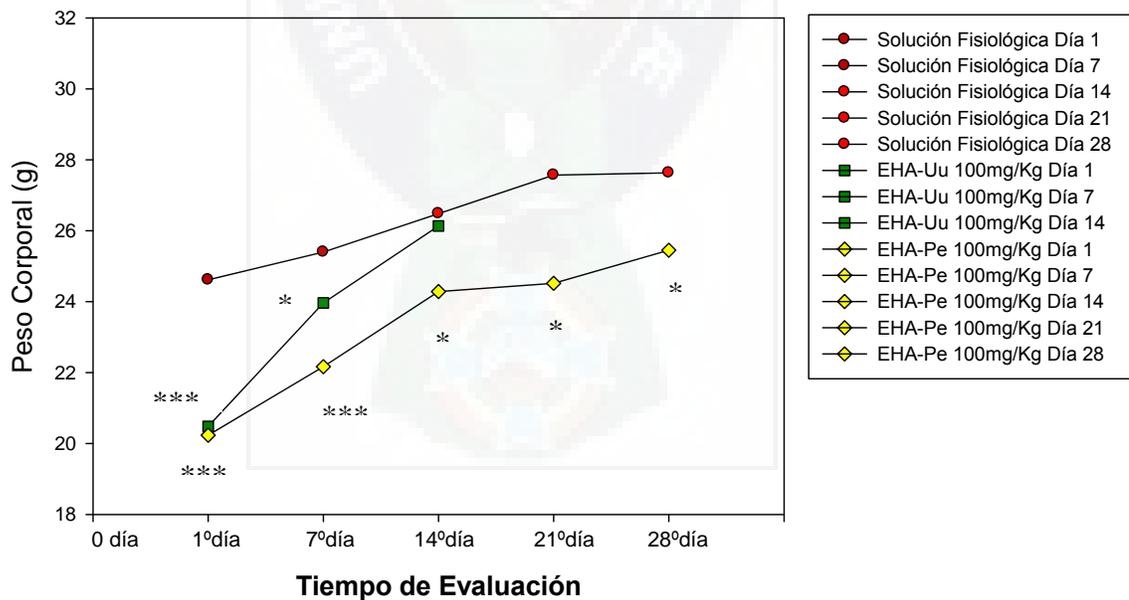


Figura Nº 43. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre el peso corporal de ratones machos durante los 14 y 28 días de evaluación respectivamente.

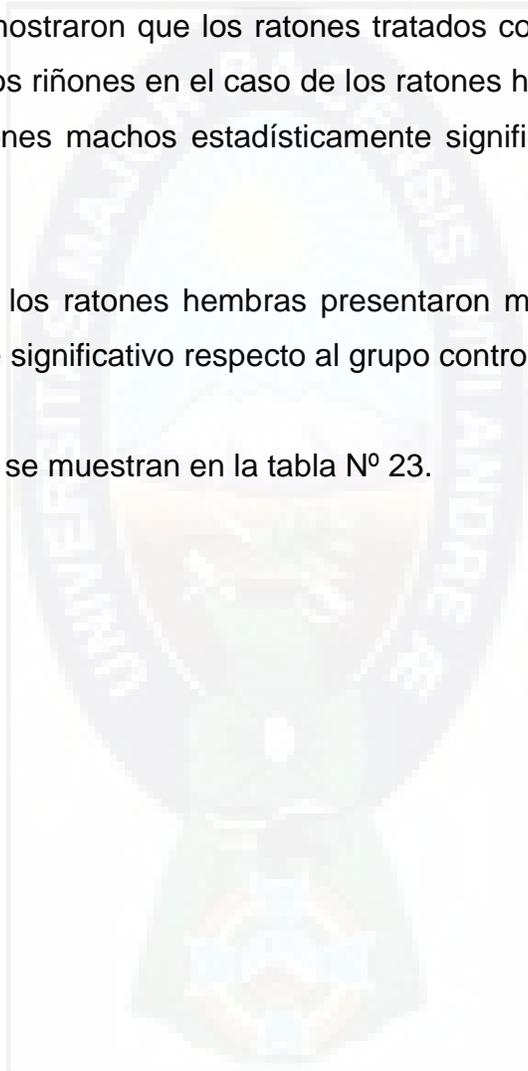
d. Peso de Órganos.-

Al finalizar el tratamiento todos los ratones fueron sacrificados en secuencia individual y las condiciones de los órganos internos (cerebro, corazón, pulmones, estómago, bazo, hígado y riñones) fueron verificados macroscópicamente y se pesó cada órgano diseccionado.

Los resultados mostraron que los ratones tratados con el EHA-Uu presentaron mayor peso en los riñones en el caso de los ratones hembras y en el bazo en el caso de los ratones machos estadísticamente significativos respecto al grupo control.

Para el EHA-Pe los ratones hembras presentaron mayor peso en los riñones estadísticamente significativo respecto al grupo control.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 23.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (1000 mg/kg)	EHA- Pe (1000 mg/kg)
Sexo/ Órganos	Peso de Órganos (g)	Peso de Órganos (g)	Peso de Órganos (g)
Hembras			
Cerebro	0.38 ± 0.05	0.40 ± 0.05	0.42 ± 0.02
Corazón	0.10 ± 0.001	0.11 ± 0.01	0.11 ± 0.01
Pulmones	0.19 ± 0.03	0.19 ± 0.01	0.21 ± 0.01
Estomago	0.22 ± 0.01	0.24 ± 0.03	0.23 ± 0.01
Bazo	0.06 ± 0.02	0.12 ± 0.01*	0.09 ± 0.004*
Hígado	1.06 ± 0.17	1.32 ± 0.18*	1.32 ± 0.05*
Riñones	0.33 ± 0.01	0.40 ± 0.01**	0.35 ± 0.01*
Machos			
Cerebro	0.44 ± 0.04	0.42 ± 0.05	0.44 ± 0.03
Corazón	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.01	0.14 ± 0.004
Pulmones	0.25 ± 0.01	0.24 ± 0.05	0.24 ± 0.01
Estomago	0.26 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.25 ± 0.04
Bazo	0.10 ± 0.01	0.14 ± 0.004*	0.12 ± 0.03
Hígado	1.45 ± 0.04	1.58 ± 0.11	1.50 ± 0.11
Riñones	0.53 ± 0.02	0.56 ± 0.02	0.51 ± 0.03

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05; ** p< 0,01. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

Tabla. Nº 23. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre el peso de órganos de ratones hembras y machos.

e. Pruebas Hematológicas.-

Al finalizar el tratamiento todos los ratones fueron sacrificados en secuencia individual y se obtuvo una muestra de sangre por punción intracardiaca que fue depositada en tubo eppendorf con anticoagulante EDTA. En esta muestra se determinó los siguientes parámetros hematológicos: recuento total de glóbulos rojos, hematocrito, hemoglobina, VCM, VCHM. Recuento de glóbulos blancos y recuento diferencial de células (eosinófilos, segmentados, neutrófilos, linfocitos, basófilos y cayados).

Los resultados mostraron que los ratones hembras y machos tratados con el EHA-Uu presentaron alteraciones en la serie roja, y en el recuento diferencial de las hembras estadísticamente significativos frente al grupo control.

Los ratones hembras tratados con el EHA-Pe presentaron alteraciones en la serie roja estadísticamente significativos frente al grupo control.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 24.

	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (1000 mg/kg)	EHA-Pe (1000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Hematológicos	Valores	Valores	Valores
Hembras			
GR (10 ⁶ /μL)	5104.0 ± 485.00	5835.3 ± 124.9**	4950.0 ± 0456.2
Hb (g/dL)	15.03 ± 0.34	17.43 ± 0.51**	14.83 ± 1.38
Ht (%)	46.33 ± 4.41	53.00 ± 1.26**	45.00 ± 4.15
GB (10 ⁹ /L)	6555.3 ± 722.97	6824.2 ± 341.58	6032.0 ± 794.38
Linf. (%)	87.33 ± 2.25	73.83 ± 3.87**	86.67 ± 2.94
Segm. (%)	11.83 ± 2.32	24.50 ± 4.23**	12.83 ± 2.48
Mono. (%)	0.67 ± 0.82	0.833 ± 0.75	0.50 ± 0.55
Machos			
GR (10 ⁶ /μL)	5258.0 ± 107.78	5830.0 ± 258.69**	5032.3 ± 127.81**
Hb (g/dL)	15.77 ± 0.32	17.50 ± 1.47*	15.08 ± 0.39**
Ht (%)	47.83 ± 0.98	53.00 ± 2.37**	45.83 ± 1.17*
GB (10 ⁹ /L)	6149.0 ± 1026.6	6635.80 ± 1057.6	6835.8 ± 1076.3
Linf. (%)	89.33 ± 3.20	84.50 ± 8.76	87.67 ± 1.03
Segm. (%)	10.00 ± 3.03	15.00 ± 9.83	11.17 ± 1.17
Mono. (%)	0.67 ± 0.52	0.50 ± 0.55	0.50 ± 0.55

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05;** p< 0,01 (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

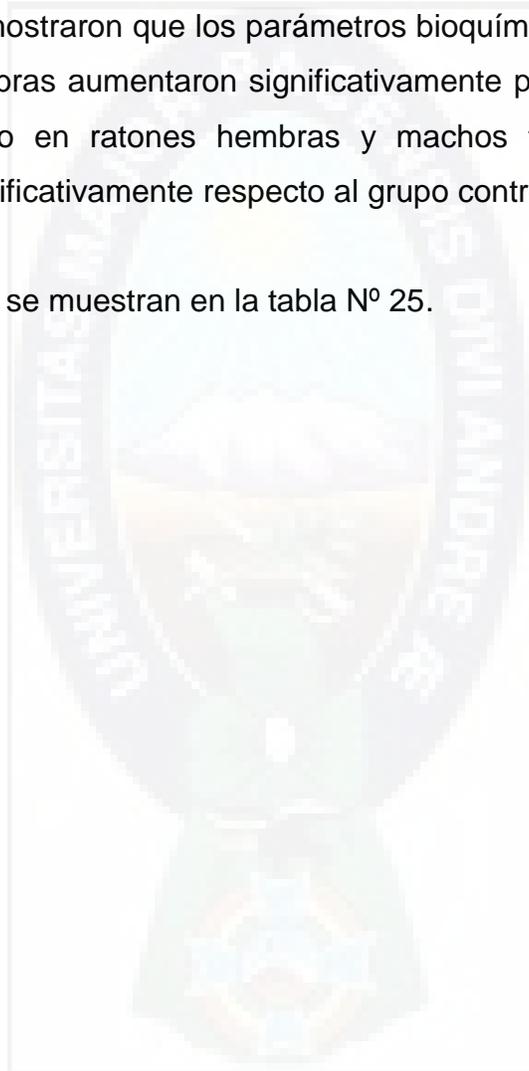
Tabla. N° 24. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre los parámetros hematológicos de ratones hembras y machos.

f. Pruebas Bioquímicas.-

En la muestra sanguínea obtenida por punción intracardiaca sin anticoagulante se determinó los siguientes parámetros bioquímicos: Glucosa, Creatinina, Ac. Úrico, Urea, Colesterol, Triglicéridos, Fosfatasa alcalina y Alanina aminotransferasa.

Los resultados mostraron que los parámetros bioquímicos: creatinina y urea de los ratones hembras aumentaron significativamente para ambos extractos. Los triglicéridos tanto en ratones hembras y machos tratados con el EHA-Uu aumentaron significativamente respecto al grupo control.

Estos resultados se muestran en la tabla N° 25.



	Control (Suero Fis.)	EHA-Uu (1000 mg/kg)	EHA-Pe (1000 mg/kg)
Sexo/ Parámetros Bioquímicos	Valores	Valores	Valores
Hembras			
Gluc (mg/dL)	91.75 ± 11.58	93.28 ± 0.77	99.67 ± 0.97
Crea (mg/dL)	0.93 ± 0.10	1.10 ± 0.63*	1.10 ± 0.63*
U (mg/dL)	11.48 ± 0.12	15.32 ± 0.39**	12.42 ± 0.37**
AU (mg/dL)	3.27 ± 0.31	3.03 ± 0.47	3.43 ± 0.26
Chol-T (mg/dL)	157.10 ± 11.63	142.63 ± 28.68	134.52 ± 19.82
TG(mg/dL)	67.20 ± 18.52	98.48 ± 8.28**	84.87 ± 15.72
FA. (IU/L)	113.03 ± 1.32	238.12 ± 27.17**	217.55 ± 41.56**
ALAT/GPT (IU/L)	23.87 ± 0.89	23.53 ± 2.82	21.47 ± 4.54
Machos			
Gluc (mg/dL)	95.87 ± 4.26	92.72 ± 1.63	92.90 ± 2.58
Crea (mg/dL)	1.02 ± 0.15	1.18 ± 0.12	1.00 ± 0.11
U (mg/dL)	13.12 ± 1.55	14.55 ± 0.53	12.15 ± 0.64
AU (mg/dL)	2.77 ± 0.10	3.13 ± 0.43	3.10 ± 0.32
Chol-T (mg/dL)	157.80 ± 22.02	185.85 ± 28.33	152.33 ± 42.27
TG (mg/dL)	69.57 ± 17.46	125.25 ± 8.31**	80.57 ± 25.15
FA. (IU/L)	224.73 ± 54.16	262.73 ± 17.77	246.50 ± 31.99
ALAT/GPT (IU/L)	30.63 ± 5.79	26.40 ± 3.69	28.58 ± 6.24

Los datos son expresados como media ± DS, N= 6. *Diferencia significativa frente al control, * p< 0,05; ** p< 0,01. (ANOVA No Paramétrico; de un factor seguido de ANOVA Mann-Whitney Test).

Tabla. Nº 25. Influencia de los EHA-UU y EHA-PE a dosis continua de 1000 mg/kg sobre los parámetros bioquímicos de ratones hembras y machos.

VII. DISCUSIÓN.-

En el presente trabajo se evaluó la toxicidad de las especies: *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir., en ratones cepa Swiss. Estas especies son utilizadas tradicionalmente para afecciones inflamatorias, reumáticas y parasitarias entre otras, sin embargo no se dispone de información sobre estudios de toxicidad *in vivo*. Los protocolos empleados para llevar adelante este estudio fueron estandarizados y se encuentran avalados según referencia bibliográfica.^{6, 8}

Las dosis empleadas en esta investigación fueron seleccionadas a partir de un estudio preliminar habiendo considerado dosis de 500, 1000, 1500, 3000 y 5000mg/Kg de peso corporal para ambas especies. Con estas dosis no se observó mortalidad.

En el estudio de toxicidad aguda del EHA-Uu después de la administración oral de 5000mg/Kg del extracto, se observó los efectos durante las primeras 24 horas y 14 días de evaluación. Durante este periodo no se observó la muerte de ningún ratón tratado, por lo que se asume que la DL50 está por encima de la dosis de 5000mg/Kg de peso corporal para este extracto.

En la evaluación sobre el comportamiento general que se realizó durante las primeras 24 horas y 14 días post-administración se evaluaron varios parámetros según el test de Irwin pero sólo algunos de estos se vieron afectados. Según este ensayo los ratones machos tratados con el extracto presentaron pérdida de la habilidad prensil tanto de las patas delanteras como traseras en grado variable, es decir, algunos ratones presentaron una máxima pérdida de la habilidad prensil, con una respuesta de (+++), pero otros con una respuesta parcial de (++) y (+). Estos efectos duraron hasta las 8 horas. A partir de la octava hora hasta los 14 días de evaluación todos los ratones recuperaron completamente su habilidad prensil. Sólo algunos animales que presentaron pérdida de la habilidad prensil también presentaron un mínimo grado de piloerección hasta la cuarta hora de evaluación, recuperando la normalidad a

partir de la octava hora hasta los 14 días de evaluación. Todos los animales presentaron también conducta pasiva en grado variable recuperando su normalidad a partir de la octava hora hasta los 14 días de evaluación.

Lo observado en el comportamiento general de los ratones tratados con el EHA-Uu se podría atribuir a la posible actividad depresora sobre el sistema nervioso central (SNC) ya que en estudios anteriores se demostró que el extracto acuoso e infusión de la hierba ortiga administrada por vía intraperitoneal en ratas presentó efectos depresores sobre el SNC.²⁶ La presencia de piloerección podría deberse a la posible estimulación de las vías nociceptivas, hecho que puede atribuirse a la presencia de la acetilcolina e histamina en los pelos de las hojas de la ortiga.^{26, 57, 58}

En la evaluación sobre la temperatura rectal en general no se observó ningún cambio significativo en comparación a los ratones tratados con solución salina fisiológica durante las primeras 24 horas y 14 días de evaluación, por lo que se asume que el extracto no afecta el centro termorregulador del hipotálamo. Sin embargo, según los resultados obtenidos se observa una ligera disminución de la temperatura corporal durante las primeras 4 horas las mismas que no son consideradas como estadísticamente significativas.

Respecto al peso corporal, consumo de comida y agua en ratones hembras no se observó cambios significativos en los grupos tratados respecto del grupo control. En el caso de los ratones machos se observó una disminución de peso corporal estadísticamente significativa respecto del grupo control. Esta disminución podría ser atribuible al probable efecto del EHA-Uu sobre el centro regulador del apetito a nivel central, aunque con el consumo de comida se restableció el peso corporal normal.

Respecto al peso de los órganos, en general no se evidenció ninguna alteración significativa entre los grupos tratados respecto del grupo control. Sin embargo,

los ratones hembras tratados con el extracto presentaron un aumento significativo en el peso del hígado que podría atribuirse a la elevada dosis administrada (5000 mg/Kg).

Respecto a los parámetros hematológicos no se observó ninguna alteración significativa tanto en los ratones machos y hembras, por lo que se asume que a las dosis ensayadas no causa ninguna alteración de importancia biológica en los parámetros hematológicos.

En los parámetros bioquímicos en ratones machos tratados con el EHA-Uu no presentan ninguna alteración significativa respecto a los parámetros evaluados, sin embargo en el caso de los ratones hembras tratados con el extracto se observó un aumento significativo en los niveles de la fosfatasa alcalina respecto a los ratones control, estos resultados pueden estar en correlación con el aumento de peso del hígado y se podría atribuir a la administración de dosis elevada del extracto ó a algunos componentes de la planta.

En el estudio de toxicidad aguda del EHA-Pe la DL50 se determinó después de la administración de 3000 y 5000mg/Kg de peso corporal, observándose los efectos durante las primeras 24 horas y los 14 días de evaluación post-administración. Durante este periodo no se observó la muerte de ningún ratón tratado, por lo que se asume que la DL50 está por encima de la dosis de 5000mg/Kg de peso corporal para este extracto.

En la evaluación sobre el comportamiento general con dosis de 3000mg/Kg de peso corporal se observó que algunos ratones machos tratados presentaron una mínima disminución de la habilidad prensil hasta los 60 min. recuperando su normalidad a partir de los 120 min. hasta la finalización del ensayo (14 días). Con dosis de 5000mg/Kg de peso corporal, algunos de los ratones machos tratados presentaron disminución de la habilidad prensil en grado variable hasta las 8 horas de evaluación, recuperando su normalidad hasta la finalización del

ensayo. Presentaron también un mínimo grado de piloerección hasta la 4ª hora recuperando la normalidad a partir de la 8ª hora hasta la finalización de la evaluación.

Para el caso del EHA-Uu, estas alteraciones fueron en menor grado y no estuvieron acompañadas de la presencia de conducta pasiva. Estos efectos podrían deberse a la presencia de alcaloides aún no identificados, que conferirían efectos parciales sobre SNC.⁵⁹

Al evaluar la temperatura rectal se observó que con ambas dosis del extracto en ratones hembras no existe un cambio significativo en comparación a los ratones control; por el contrario en ratones machos, que presentó un aumento significativo de la temperatura rectal respecto al control a las 8 horas de evaluación a dosis de 5000mg/Kg. Este aumento podría deberse al posible efecto del extracto sobre el centro termorregulador del hipotálamo. Sin embargo, después de la 8ª hora de evaluación hasta los 14 días de evaluación los ratones no experimentaron cambios en la temperatura rectal.

Respecto al peso corporal, consumo de comida y agua de ratones hembras tratadas con ambas dosis del extracto, no presentaron cambios significativos respecto del grupo control. Los ratones machos tratados con dosis de 3000mg/Kg presentaron bajo peso corporal que es considerado significativo frente al grupo control. Sin embargo, tras haber realizado un análisis de tendencia de pesos corporales para los días 1, 7 y 14 de evaluación se observó que existe un aumento progresivo de pesos del grupo tratado frente al grupo control lo que demostró que esta diferencia no se debería a factores propios de la planta sino a que existió una gran diferencia de pesos al iniciar la evaluación.

En los ratones machos tratados con dosis de 5000mg/Kg se observó un hecho muy similar al anterior, sin embargo se observó un aumento del peso corporal a la finalización de los 14 días de evaluación. Asimismo, se observó un aumento

significativo en el consumo de comida que podría estar relacionado con el aumento de peso que tuvieron los ratones en los últimos días de evaluación, lo que sugeriría que el extracto tendría un efecto modulador en el apetito de los animales.

El peso de órganos de los ratones machos tratados con dosis de 3000mg/Kg presentaron menor peso de órganos respecto del grupo control, que más que deberse a los posibles efectos del extracto, estaría relacionada con la diferencia de pesos con el que se llevó a cabo el inicio de la experimentación.

Los ratones hembras tratadas con dosis de 5000mg/Kg presentaron aumento significativo en el peso del hígado y los riñones, los cuales son atribuidos a la elevada dosis utilizada en el ensayo o a un posible efecto tóxico del extracto.

En los parámetros hematológicos no se observó ninguna alteración significativa para ambas dosis del EHA-Pe, por lo que se asume que a las dosis ensayadas no causa ninguna alteración de importancia biológica en los parámetros hematológicos.

En la evaluación de los parámetros bioquímicos los ratones tratados con dosis de 3000mg/Kg del extracto no presentaron ninguna alteración significativa. Sin embargo a dosis de 5000mg/Kg los ratones hembras presentaron un aumento significativo en los niveles de creatinina, urea y fosfatasa alcalina los cuales mostraron estar relacionados con el aumento de riñones e hígado, atribuibles a un posible efecto tóxico del extracto.

Respecto al comportamiento general del EHA-Uu en el ensayo de la toxicidad sub-aguda, se observó que algunos de los ratones machos tratados presentaron una mínima disminución de la habilidad prensil tanto de las patas delanteras como traseras hasta el 4^o día de evaluación retornando a su normalidad a partir de esta hora hasta los 14 días de evaluación. También se

observó la presencia de conducta pasiva en todos los animales tratados hasta las 4 horas de evaluación. Según estudios realizados con anterioridad, el extracto acuoso de la ortiga a dosis de 750mg/Kg produce una reducción significativa de la actividad espontánea por lo menos durante las primeras 16 horas después de la administración.²⁶ Estos efectos podrían deberse a los metabolitos presentes en el extracto.

Por otra parte en la evaluación de la temperatura rectal del extracto en general no se observó ningún cambio significativo en comparación al grupo control.

La evaluación del peso corporal de los ratones hembras tratadas con el EHA-Uu si bien no presentaron alteraciones significativas en el peso corporal, se observó aumento significativo en el consumo de comida respecto del grupo control. Por otra parte en ratones machos tratados con el extracto, la disminución significativa del peso corporal sólo se evidenció al iniciar el ensayo, pero paulatinamente recuperaron el peso corporal. Asimismo se observó un aumento significativo del consumo de comida y agua que podría deberse a las propiedades nutritivas de la ortiga y por su gran contenido de minerales (hierro) y vitaminas (C y A).^{26, 27} Sin embargo este hecho no se relaciona con lo observado en los ratones hembras.

Asimismo, al evaluar el peso de los órganos, en hembras tratadas con el extracto se observó un aumento significativo en el peso del bazo, hígado y riñones, respecto del grupo control y los ratones machos tratados sólo presentaron un aumento significativo del peso del bazo respecto del grupo control. El aumento macroscópico del Bazo (en ambos sexos) es correlacionado con el aumento de la actividad eritropoyética, y leucopoyética que se observa en los parámetros hematológicos. Es así que, se produjo un aumento significativo en los niveles de la serie roja tanto de ratones hembras como machos. Estos resultados también sugieren que el extracto podría tener un efecto modulador de la eritropoyesis atribuible a alguno de los componentes

presentes en la planta de ortiga. También se observó una disminución en el recuento de linfocitos y un aumento de neutrófilos que podría atribuirse en el caso de estos últimos a la posible presencia de flavonoides y glucósidos flavonoides presentes en la planta, que reportaron actividad inmuno-estimulante sobre los neutrofilos.²⁶

Respecto a los parámetros bioquímicos se observó que los ratones hembras tratadas con el EHA-Uu presentaron un aumento significativo en los niveles de creatinina, urea, triglicéridos y fosfatasa alcalina y los ratones machos en los niveles de triglicéridos. Estos aumentos estarían relacionados con el aumento de peso de órganos que experimentaron, es decir, aumento del peso de riñones con un aumento de los niveles de creatinina y urea que al ser parámetros de control de funcionamiento del órgano al encontrarse elevados sugieren una alteración en la fisiología del órgano por lo que se podría atribuir a un posible efecto tóxico del extracto. Según estudios sobre el efecto diurético del extracto acuoso de *Urtica dioica*, similar a *Urtica urens*, a dosis de 2 mg/Kg/h se evidenció efecto tóxico.²⁶ El aumento de los niveles de fosfatasa alcalina se correlacionaría con el aumento del peso del hígado podría deberse a la elevada dosis utilizada o a un posible efecto tóxico (hepatotóxico). Sin embargo, este resultado es contradictorio a otros estudios realizados en que el extracto de ortiga es utilizado como hepatoprotector,³⁷ además de ser utilizado para tratamiento de afecciones renales. El aumento en los niveles de triglicéridos para el caso de los ratones hembras estaría relacionado con el efecto diurético que presenta la planta. En el caso de los ratones machos el aumento de triglicéridos podría relacionarse con el aumento del peso corporal que presentaron ya que ambos parámetros están estrechamente relacionados.

En la evaluación del comportamiento general del EHA-Pe se observó que algunos ratones machos tratados presentaron una disminución de la habilidad prensil durante las primeras 24 horas de evaluación, y de manera intermitente al 4º, 12º y 13º día de evaluación. A partir de la tercera semana de evaluación

todos los ratones tratados recuperaron completamente su habilidad prenil hasta los 28 días de evaluación. Ninguno de los grupos tratados con el extracto presentó conducta pasiva ni piloerección.

Respecto a la evaluación de la temperatura rectal del extracto se observó una disminución significativa en ratones hembras y machos tratados, el 21^o y 28^o día de evaluación. Esta disminución se podría atribuir a las propiedades depresoras sobre el centro termorregulador del hipotálamo, de forma parcial.⁴⁹

Por otra parte, en la evaluación sobre el peso corporal con el EHA-Pe no se observó diferencia significativa en el peso corporal de ratones hembras respecto del grupo control, pero sí se observó un aumento significativo del consumo de comida. De manera contraria los ratones machos tratados con el extracto presentaron disminución significativa, pero ello es atribuible a la diferencia de pesos de los grupos de animales de experimentación al iniciar la evaluación. Sin embargo, se evidenció un aumento significativo de consumo de agua y no así de comida respecto del grupo control.

El estudio sobre el peso de órganos, evidenció que los ratones hembras tratadas con el extracto presentaron un aumento significativo en el peso del bazo, hígado y riñones, respecto del grupo control. Este análisis macroscópico podría evidenciar un posible efecto tóxico del extracto con las dosis ensayadas.

Asimismo, en la evaluación de los parámetros hematológicos se observó una disminución significativa en el recuento de la serie roja de los ratones machos respecto del grupo control y no así en los ratones hembras.

Al evaluar los parámetros bioquímicos los ratones hembras presentaron un aumento significativo en los niveles de creatinina, urea y fosfatasa alcalina que también se co-relacionó con el aumento de los pesos de riñones e hígado

respectivamente. Estos efectos pueden deberse a un posible efecto tóxico por parte de los componentes presentes en el extracto.



VIII. CONCLUSIÓN.-

Según el estudio de toxicidad aguda para ambos extractos se asume que la DL50 es superior a la dosis de 5000mg/Kg de peso corporal.

La influencia de los extractos sobre el comportamiento general evidenció alteraciones en grado variable sobre la actividad prensil tanto de las patas delanteras y traseras de los ratones pero no así en las hembras, estas alteraciones se vieron acompañadas de una disminución de la actividad motora espontánea y piloerección en el caso del EHA-Uu pero no así con el EHA-Pe.

EL EHA-Uu no afecta significativamente la temperatura rectal de los ratones a dosis de 5000mg/Kg, sin embargo el EHA-Pe produjo un aumento significativo de la temperatura rectal a las 4 horas de evaluación en ratones hembras con dosis de 3000 y 5000mg/Kg y a las 8 horas en los machos con dosis de 5000mg/Kg.

El EHA-Uu incrementó significativamente el peso corporal de ratones machos, por un aumento de la ingesta de comida hasta el final de la evaluación. El EHA-Pe con dosis de 3000mg/Kg no modifica significativamente el peso corporal de ratones hembras y machos, sin embargo con dosis de 5000mg/Kg el peso corporal de ratones machos se incrementó significativamente en comparación con los ratones control.

EL EHA-Uu aumentó significativamente el peso del hígado de los ratones hembras con aumento de los niveles de fosfatasa alcalina. El EHA-Pe produjo un aumento significativo del peso de los riñones e hígado en ratones hembras, que estarían relacionados con el aumento en los niveles de creatinina, urea y fosfatasa alcalina que se observaron en los mismos ratones.

Ambos extractos según las dosis ensayadas no presentaron efectos significativos sobre los parámetros hematológicos evaluados.

Según el estudio de toxicidad sub-aguda ambos extractos con dosis continua de 1000mg/Kg presentan efectos en los ratones machos sobre la habilidad prensil tanto de las patas delanteras como traseras en grado variable, además de la presencia de una conducta pasiva.

El EHA-Uu no presenta efectos significativos sobre la temperatura rectal de los ratones machos y hembras, sin embargo el EHA-Pe produjo descenso significativo de la temperatura rectal tanto en ratones hembras como en machos a los días 21 y 28 respectivamente.

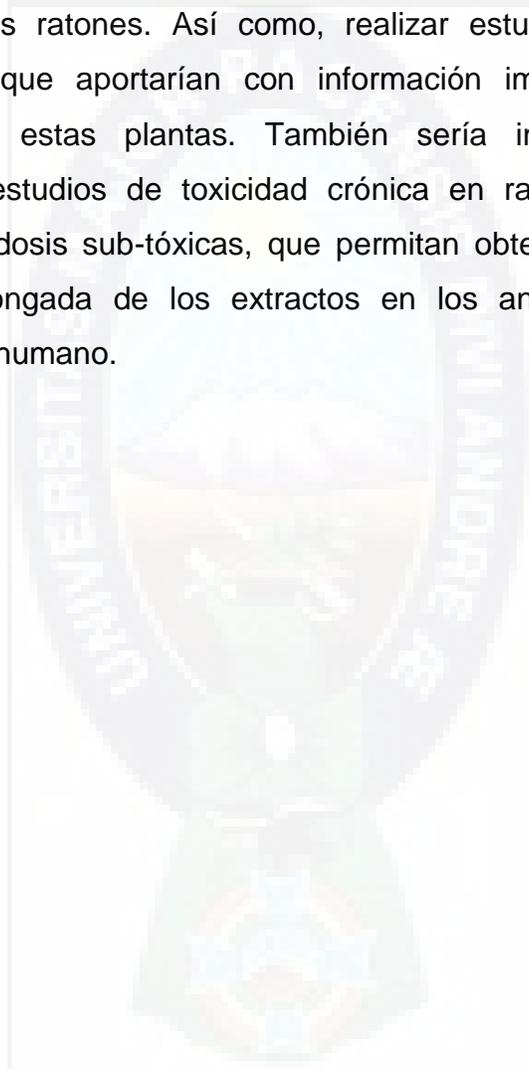
Además en el EHA-Uu produjo aumento significativo del peso corporal de los ratones machos. El EHA-Pe no presentó ningún efecto significativo sobre el peso corporal de los grupos tratados.

El EHA-Uu presentó efectos significativos sobre el aumento del peso del bazo, riñones e hígado en ratones hembras que podrían relacionarse con el aumento del recuento de eritrocitos y leucocitos así como un aumento significativo de los niveles de creatinina, urea, triglicéridos y fosfatasa alcalina. En el caso del EHA-Pe que incrementó los niveles de creatinina, urea y fosfatasa alcalina que podrían relacionarse con el aumento del peso de órganos.

Sobre la base de los resultados obtenidos los EHA-Uu y EHA-Pe, presentan un perfil toxicológico favorable y los efectos observados a nivel hepático, renal, hematológico y bioquímico serían atribuibles a las altas dosis utilizadas en este estudio.

IX. RECOMENDACIONES.-

Si bien la información generada en este estudio es de suma importancia, debido a que las dos plantas son de uso tradicional muy importante en nuestro medio, se plantea la necesidad de continuar con esta investigación realizando estudios histológicos para determinar la posible influencia o toxicidad de los extractos sobre los órganos como el hígado y riñones que aparentemente han sido afectados en los ratones. Así como, realizar estudios de genotoxicidad y mutagenicidad, que aportarían con información importante sobre el perfil toxicológico de estas plantas. También sería importante considerar la realización de estudios de toxicidad crónica en ratones hasta 90 días de exposición con dosis sub-tóxicas, que permitan obtener información sobre la exposición prolongada de los extractos en los animales y probablemente extrapolables al humano.



X. BIBLIOGRAFÍA.-

1. Velasco A., San Román L., Serrano J., Martínez-Sierra R., Cadavid I. (2003) *Farmacología Fundamental*, Ed. McGraw-Hill/Interamericana, España, S.A.U.
2. Tepuztlahcuiloli, impresos en náhuatl: historia y bibliografía, Ascensión H. de León-Portilla. Se encuentra disponible en: <http://www.biomanantial.com/historia-de-las-plantas-medicinales-a-87.html>. Accedido en: Abril de 2011.
3. Chen S., Vieira A. (2010) “A meta-analysis of medicinal plants to assess the evidence for toxicity”, *Nutrition and Metabolic Research*, **vol. 3** N° 2, pág. 82–85.
4. Ladrón de Guevara J., Moya V. (1995) *Toxicología Médica, Clínica y Laboral*, Ed. Mc. Graw-Hill-Interamericana de España, 1ª ed., Madrid-España, pág. 4-11, 669-667.
5. Silbergeld E. K. (1998) *Toxicología - Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*, Editado por el Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales de Madrid, 3ª ed., Madrid-España, capítulo 33, pág. 1-65. Se encuentra disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/TextosOnline/EnciclopediaOIT/tomo1/33.pdf>. Accedido en: Noviembre de 2011.
6. Córdova D. (2006) *Toxicología*, Ed. El Manual Moderno, 5ª ed., Bogotá D.C.-Colombia, pág. 11, 24-25, 105-107.
7. Moreira E. (1995) “Fundamentos Metodológicos de los Bioensayos de Toxicidad/Carcinogenicidad”, *Rev. Cubana de Enfermería*. Se encuentra

disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/enf/vol11_3_95/enf01395.htm.
Accedido en: Noviembre de 2011.

8. Repetto M., Repetto G. (2009) Toxicología Fundamental, Ed. Diaz de Santos, 4ª ed., Madrid-España, pág. 341, 403-407, 409-413, 418-420, 425. Se encuentra disponible en: <http://books.google.com.bo/books>
Accedido en: Noviembre de 2011.
9. Kuklinski C. (2003) Farmacognosia, Ed. Omega, Barcelona-España, pág. 43-44.
10. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (1995) Reglamento Sobre Notificación de Sustancias Nuevas y Clasificación, Envasado y Etiquetado de Sustancias Peligrosas, Ed. Aranzadi, España, pág. 92-95, 98-102, 131-132, 158-160.
11. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales, Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (1998) Reglamento Sobre Notificación de Sustancias Nuevas y Clasificación, Envasado y Etiquetado de Sustancias Peligrosas, Ed. Aranzadi, España, pág. Parte B: Métodos para la Determinación de la Toxicidad y Otros. Se encuentra disponible en: http://ec.europa.eu/environment/archives/dansub/pdfs/annex5b_es.pdf. Accedido en diciembre de 2011
12. Page Cl., Curtis M. (1998) Farmacología Integrada, Ed. Harcourt, Madrid-España, pág. 64.
13. Dosis Mortal 50%. En toxicología, se denomina DL50 (abreviatura de Dosis Letal, 50%) a la dosis de una sustancia o radiación que resulta mortal para la mitad de un conjunto de animales de prueba. Contenido: 1

Convenciones; 2 Las organizaciones de derechos de los animales; 3 Ejemplos; 4 Otras medidas de toxicidad, 2011. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Dosis_mortal_50%25 Accedido en: Enero 2012.

14. Ruiz G. (2004) Fundamentos de interpretación Clínica de los Exámenes de Laboratorio, Ed. Médica Panamericana, 1ª ed., México, D.F., pág. 75-91, 184.
15. Rodak B.F. (2007) Hematología Fundamentos y Aplicaciones Clínicas, Ed. Médica Panamericana, 2ª ed, Buenos Aires-Argentina, pág. 156-185.
16. Ecobichon D. J. (1997) Principios de Farmacología, Ed. The Basis of Toxicity Testing. 2ª ed, Cap. Principios de Toxicología. Se encuentra disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma05/tox/tox02.htm> Accedido en: diciembre de 2011
17. Organización Mundial de la Salud, Unión Mundial para la Naturaleza, Fondo Mundial para la Naturaleza (1993) Directrices sobre conservación de plantas medicinales. Suiza, pág. 4-7.
18. Organización Mundial de la Salud Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional (2002-2005) Cáp.3: El papel actual de la OMS. WHO/EDM/TRM/2002.1, pág. 31-37.
19. Sánchez C. (1993) Informe Técnico PNUD. Reunión del grupo de expertos sobre la utilización industrial de plantas medicinales, Panajachel, Guatemala.
20. Alonso J. (2004) Tratado de Fitofármacos y Nutraceuticos, Editorial Corpus, 1ª ed., Rosario-Argentina, pág. 1-5. 738.

21. El valor económico de las plantas medicinales. El consumo de medicamentos en América Latina. Centro de referencia en manejo de información sobre la diversidad biológica y ambiental de la Amazonía Peruana. Disponible en: www.siamazonia.org.pe/archivos/.../libros/.../28000002.htm. Accedido en: Enero 10 de 2011.
22. Giroult L. (1987) Kallawayas, Curanderos itinerantes de Los Andes, La Paz, Ed. UNICEF-OPS-OMS. Impresiones Quipus, pág. 670.
23. Bourdy G., Gimenez A., Quenevo C. et al. (1999) *Tacana: Ecuánasha Aquí, Ecuánasha Idírene Cuana, Me Schanapaque. Tacana: Conozcan nuestras plantas, nuestras hierbas*. 1ª ed. Editores: USMA: IIFB-IIQ-IBBA, FONAMA-EIA, IRD (Orstom), Ediciones Plural, La Paz, Bolivia.
24. Terceros P., Quelca B., Solares M. (2007) Plantas Medicinales en Bolivia, Estado de Arte. Gobierno de Bolivia, Ministerio de Planificación del Desarrollo, Viceministerio de Ciencia y Tecnología, Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial, Subdivisión de Promoción de Inversión y Tecnología, pág. 12-14.
25. Barnes J., Anderson L., Phillipson J.D. (2005) Plantas Medicinales, Ed. Pharma Editores, 1ª ed., Barcelona-España, pág. 3-5, 8-22.
26. EMEA (European Medicines Agency) (2008) Evaluation of Medicines for Human Use, Assessment Report on: *Urtica dioica* L., and *Urtica urens* L., Herba, London, pág. 2-26. Disponible en: <http://www.emea.europa.eu> Accedido en: Diciembre 2011.

27. Marrassini C., Gorzalczany S., Ferraro G. (2010) “Actividad Analgésica de dos especies de *Urtica* con sus usos etnomédicos en la República Argentina”, *Rev. Dominguezia* - **vol. 26** N°1, pág. 21-29.
28. Marrassini C., Acevedo C., Miño J., Ferraro G., Gorzalczany S. (2010) “Evaluation of Antinociceptive, Antiinflammatory Activities and Phytochemical Analysis of Aerial Parts of *Urtica urens* L.”, *Phytother. Res.* **vol 24**, pág.1807–1812.
29. Crespo M.E. (2006) ORTIGA (*Urtica dioica* y *Urtica urens*)-Plantas Medicinales para Enfermedades Reumáticas Centro de Investigación para Fitoterapia, Ed. Complutense, Madrid-España, pág. 39-49.
30. World Health Organization (2004) *WHO Monographs on Selected Medicinal Plants* – **vol 2**, pág. 329-341. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s4927e/s4927e.pdf> Accedido en: Enero 2012.
31. “*Urtica dioica*; *Urtica urens* (Nettle)” Monograph (2007) *Alternative Medicine Review* – **vol. 12** N°3, pág. 280-284. Disponible en: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma06/pdfs/ortiga01.pdf> Accedido en: Enero 2012.
32. Bock B., “*Urtica urens* L.”, *Base de Données Nomenclaturale de la Flore de France par Benoît Bock*, *BDNFF*- **vol4** N°2, Francia. Disponible en: <http://www.tela-botanica.org/eflore/BDNFF/4.02/nn/70431/export/pdf> Accedido en: Febrero 2012.
33. Alonso J., Plantas Medicinales Empleadas por los Indígenas del NOA (Noroeste Argentino), pág. 1-5

34. Porcuna J.L. (2010) “La Ortiga *Urtica urens* y *Urtica dioica*”, *Rev. Ae* – **vol. 2** - invierno 2010, pág. 60.
35. Gulluoglu B.M., Cingi A., Cakir T., Barlas A. (2008) “Patients in Northwestern Turkey Prefer Herbs as Complementary Medicine after Breast Cancer Diagnosis”, *Breast Care Journal Home - Complementary Herbal Use for Breast Cancer*, pág. 269-273.
36. Ozkarsli M., Sevim H., Sen A. (2008) “In vivo effects of *Urtica urens* (dwarf nettle) on the expression of CYP1A in control and 3-methylcholanthrene-exposed rats”, *Rev. Xenobiotica*- **vol. 38** N°1, pág. 48-61.
37. Sen A., Sahin B., Agus H., Bayav M., Sevim H., Semiz A. (2007) “Prevention of Carbon Tetrachloride-Induced Hepatotoxicity by *Urtica urens* in Rats”, *JABS (Journal of Applied Biological Sciences)*- **vol. 1** N° 3: 29-32. Disponible en: <http://nobel.gen.tr/MakaleDetax.aspx?ID=230&islem=abstract> Accedido en: Enero 2012.
38. Schulze-Tanzil G., De Souza P., Behnke B., Klingelhofer S., Scheid A., Shakibaei M. (2002) “Effects of the antirheumatic remedy Hox alpha - a new stinging nettle leaf extract - on matrix metalloproteinases in human chondrocytes *in vitro*”, *Rev. Histol Histopathol*- **vol. 17**, pág. 477-485.
39. Millán C. (2008) Las plantas: una opción saludable para el control de plagas, Impreso en I. Rosgal S.A., RAPAL-Uruguay (Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina), pág. 65.
40. Ariza L., Bonzani N. (1992) “El Mático de la Región de Cuyo (Argentina)”, *Rev. Acta Farm. Bonaerense* - **vol.11** N° 3, pág. 139-145.

41. Taylor L. (2006) Technical Data Report for Matico (*Piper aduncum*, *angustifolium*), Carson - California - Estados Unidos, pág. 1-26.
42. Flores E. (2006/7) Metabolitos secundarios bioactivos de especies del género *Piper* de la flora boliviana, Servicios de Publicaciones Universidad de La Laguna, pág. 21, 35.
43. El Matico o Cordoncillo *Piper angustifolium* - *Piper aduncum* (2009) Disponible en: http://www.oocities.org/fitoterapia_peru/matico.htm Accedido en: Febrero 2012.
44. Gonzales H. (2006) Evaluación del potencial de los productos forestales no maderables en el ámbito del Proyecto Bosques del Chinchipe, pág. 28.
45. Hermoso A., Jiménez I.A., Mamania Z.A., Bazzocchib I.L., Piñeroa J.E., Ravelob A., Valladares B. (2003) "Antileishmanial activities of dihydrochalcones from *Piper elongatum* and synthetic related compounds. Structural requirements for activity", *Rev. Bioorganic & Medicinal Chemistry*- **vol. 11** N° 18, pág. 3975–3980.
46. Masuoka Ch., Ono M., Ito Y., Nohara T. (1997) "Antioxidative Constituents from the Aerial Part of *Piper elongatum* VAHL.", *Rev. Food Sci. Technol. Int. Tokyo* - **vol. 3** N° 3, pág. 285-289.
47. Miranda M. (2001) "Evaluación de la Actividad Antiinflamatoria de *Piper elongatum* (Matico) Administrado por Vía Oral, Comparado con Indometacina en Cobayos", *Rev. SITUA Año 10 - N° 19*.
48. Cárdenas J., "Comprobación del Efecto Cicatrizante y Antiedematizante de *Baccharis crispa* (Carqueja), *Equisetum arvense* (Cola de Caballo) y *Piper angustifolium* (Matico) en Ratones Albinos", *Rev. Ciencia y*

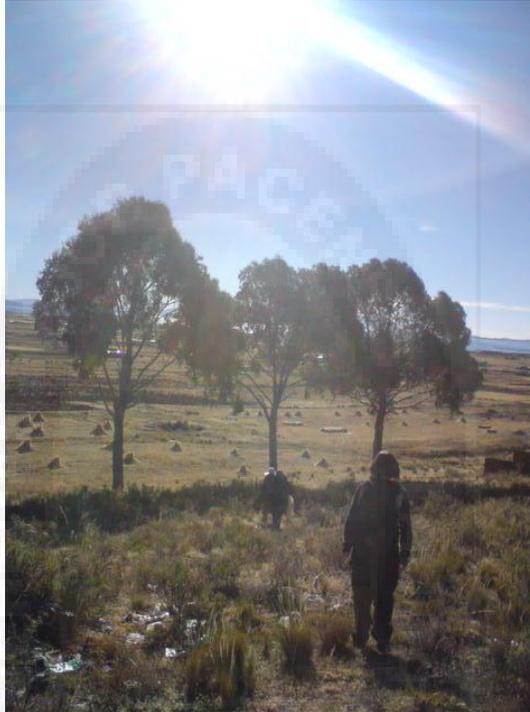
Tecnología – vol. 9, pág. 35-41.

49. Zegarra M. (2001) “Evaluación de la actividad antipirética de las especies medicinales: *Calceolaria sparsiflora*, *Piper elongatum*, *Cajophora contorta*, *Lupinus altimontanus*, *Cestrum parqui*. mediante modelos experimentales *in vivo*”, Tesis de Licenciatura, La Paz-Bolivia, Biblioteca Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas.
50. Claros M., Bilbao P., Damiani E., Gonzales E., Estensoro M., Alvarez M. T. (2007) “Actividad anti-*Helicobacter pylori* de *Plantago major*, *Clinopodium bolivianum*, *Caléndula officinalis* y *Piper angustifolium* por el método de difusión de disco”, *Rev. BIOFARBO* - vol. 15, pág. 37-42.
51. Flores E., Vargas F., Gimenez A., Jimenez A. (2001) “Aislamiento y caracterización de los principios antifúngicos y leishmanicidas del Matico-*Piper elongatum* Vahl”, *Rev. BIOFARBO* - vol. 9, pág. 45-50.
52. Jiménez A., Pillco A., Flores N., Gonzáles E., Bermejo P. (2011) “Evaluación genotóxica del aceite esencial y el extracto etanólico de *Piper elongatum* Vahl.”, *Rev. BIOFARBO* - vol. 19 N° 2, pág. 13-20.
53. Yassa H., Dawood W, Shehata M, Abdel-Hady R., Aal K. (2010) “Subchronic toxicity of cannabis leaves on male albino rats”, *Rev. Hum Exp Toxicol.* - vol. 29 N° 1, pág. 37-47.
54. Sanchez S., Pinzon R., Gupta M. (1995) Manual de Técnicas de Investigación. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, Subprograma X: Química Fina Farmacéutica, Proyecto X-1: Búsqueda de Principios Activos en Plantas de la Región, pág.11-26.

55. Lapa A.J. (2002) Métodos de Evaluación de la Actividad Farmacológica de Plantas Medicinales, CYTED/CNPq, Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo, RIVAPLAMED.
56. Real Decreto 17344,1201/2005, de 10 de octubre, sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos. Ministerio de la Presidencia- España, BOE núm. 252, 34367-34391.
57. Flórez J. (1997) Farmacología Humana, Ed. Masson, 3ª ed., Barcelona-España, pág. 454, 550.
58. Emmelin N., Feldberg W. (1947) "The Mechanism of the Sting of the Common Nettle (*Urtica urens*)", *Rev. J. Physiol.*- **vol. 6**, pág. 440-455.
59. Trease y Evans (1991) Farmacognosia, Ed. Mac Graw Hill, 13ª ed., México, pág. 590.

ANEXOS

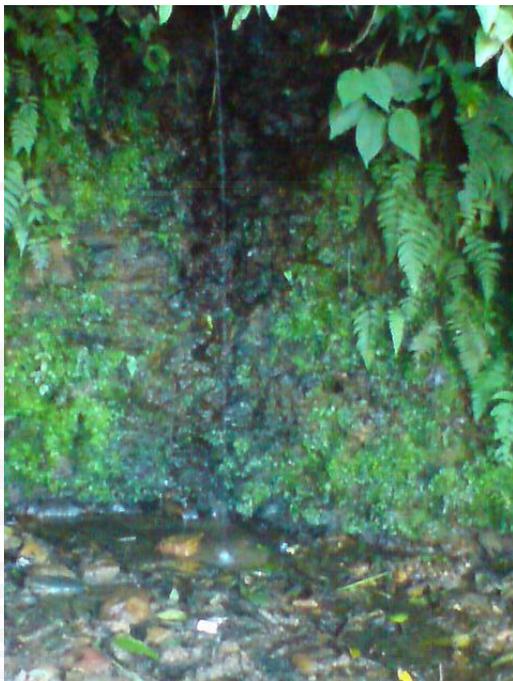
Anexo N°1. Lugar de recolección de la planta medicinal *Urtica urens* L. - Jesús de Machaca, Provincia Ingavi del Departamento de La Paz



Anexo N°2. Recolección de la planta medicinal *Urtica urens* L.



Anexo N°3. Lugar de recolección de la planta medicinal *Piper elongatum* Poir. - Localidad de Chulumani, Provincia Sud Yungas del Departamento de La Paz



Anexo N°4. Recolección de la planta medicinal *Piper elongatum* Poir.



Anexo N°5. Clasificación e identificación de las plantas medicinales *Urtica urens* L. y *Piper elongatum* Poir. por el Herbario Nacional de Bolivia, La Paz - Bolivia

URTICA URENS L.



PIPER ELONGATUM POIR



Anexo N°6. Maceración y obtención del extracto hidro-alcohólico líquido de las plantas estudiadas

MACERADO



FILTRADO



Anexo N°7. Equipos utilizados en la obtención del extracto hidro-alcohólico seco de las plantas estudiadas

ROTAEVAPORADOR

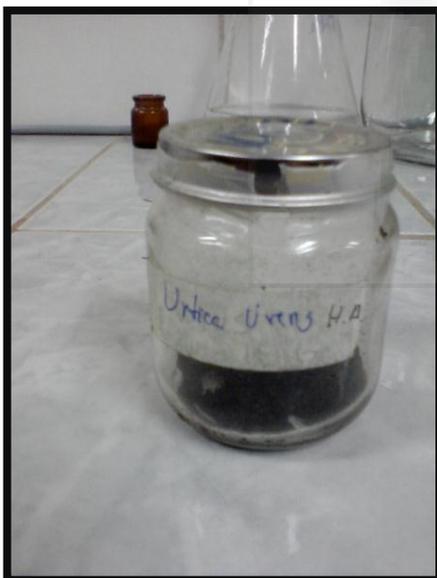


LIOFILIZADOR



Anexo N°8. Obtención del extracto hidro-alcohólico seco de las plantas estudiadas

URTICA URENS L.



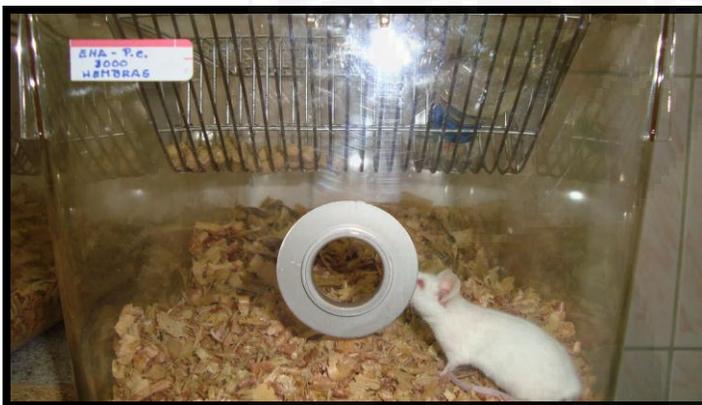
PIPER ELONGATUM POIR



Anexo Nº9. Ambientación y distribución en grupos de estudio de los animales en experimentación



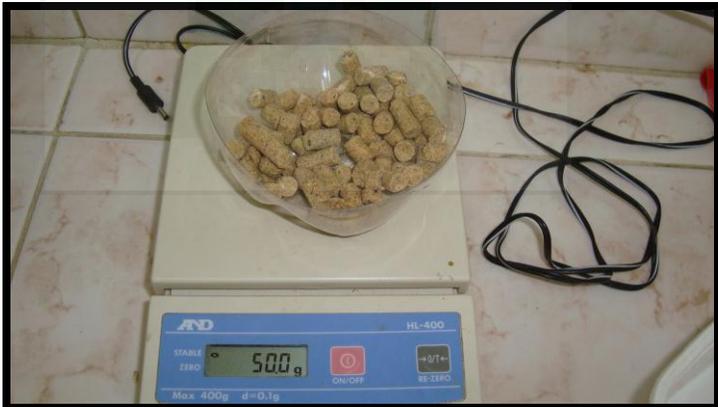
Anexo Nº10. Evaluación del comportamiento general de los animales en experimentación

A photograph of a large, detailed experimental data table. The table has multiple columns and rows, with various sections and sub-sections. The sections include "EFFECTOS GENERALES" and "EFFECTOS SUBJETIVOS". The table is filled with data points, likely representing the behavior and health of the animals during the experiment.

Anexo N°11. Evaluación del peso corporal de los animales en experimentación

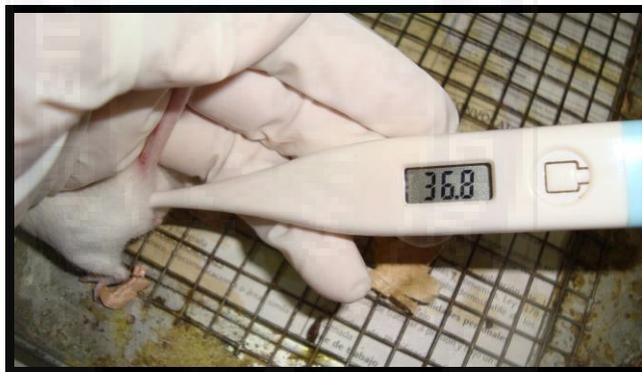


Anexo N°12. Evaluación del peso de comida y volumen de agua de los animales en experimentación





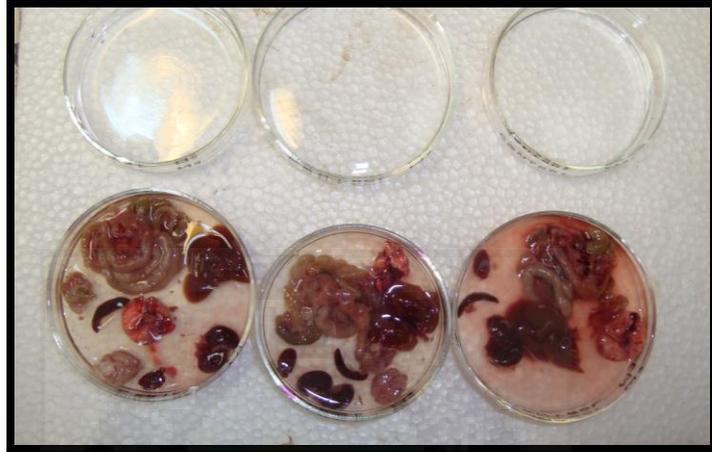
Anexo N°13. Evaluación de la temperatura corporal de los animales en experimentación



Anexo N°14. Disección de los animales en experimentación para obtención de órganos



Anexo N°15. Obtención de órganos de los animales en experimentación



Anexo N°16. Peso de cada uno de los órganos de los animales en experimentación



Anexo N°17. Obtención de muestra sanguínea de los animales en experimentación para las pruebas hematológicas y bioquímicas



Anexo N°18. Preparación de las muestras sanguíneas para análisis de las pruebas hematológicas de los animales de experimentación



Anexo N°19. Preparación de las muestras sanguíneas para análisis de las pruebas bioquímicas de los animales de experimentación



Anexo N°20. Tabla de evaluación de comportamiento general 24 horas

Nombre del evaluador: _____		
Animal COD: _____	Fecha: _____	Hora: _____
Sexo: _____	Peso: _____	
Solvente: _____	Nivel de dosis: _____	
Concentración: _____	Vía de adm.: _____	

	TIEMPO POST ADM									
	OBSERVACIONES	5	10	15	30	60	120	4h	8h	24h
	SNC									
1.-	Actividad motora									
2.-	Ataxia									
3.-	Perdida ref. enderezamiento									
4.-	Analgesia									
5.-	Anestesia									
6.-	Pérdida del reflejo corneal									
7.-	Perdida del reflejo pineal									
8.-	Parálisis de patas anteriores									
9.-	Parálisis de patas traseras									
10.-	Parálisis de la cabeza									
11.-	Actividad prensil: P.A									
12.-	Actividad prensil: P.T									
13.-	Reacción de alarma									
14.-	Actividad motora ↑									
15.-	Temblores finos del cuerpo									
16.-	Temblores fuertes del cuerpo									
17.-	Fasciculaciones									
18.-	Convulsiones clónicas									
19.-	Convulsiones tónicas									
20.-	Convulsiones mixtas									
	OJOS									
21.-	Ptois parpebral									
22	Nistagmus									
23	Lacrimación									
	OREJAS									
24	Palidez									
25	Hiperemia									
26	Cianosis									
	EFFECTOS GENERALES									
27	Salivación									
28	Erección de la cola									
29	Erección pilomotora									
30	Micción									
31	Diarrea									
32	Signo de Robichaud									
33	Movimiento circular									
34	Temperatura rectal °C									
	EFFECTOS SUBJETIVOS									
35	Agresivo									
36	Pasivo									
37	Temeroso									
38	Peso corporal									

Anexo N°21. Tabla de evaluación de comportamiento general 14 días

Nombre del evaluador: _____																			
Animal COD: _____				Fecha: _____				Hora: _____											
Sexo: _____				Peso: _____															
Solvente: _____				Nivel de dosis: _____															
Concentración: _____				Vía de adm.: _____															
	TIEMPO POST ADM	d/p	min	h	h	días													
	OBSERVACIONES	0	30	0,5-4	24	2°	3°	4°	5°	6°	7°	8°	9°	10°	11°	12°	13°	14°	
	SNC																		
1.-	Actividad motora T°																		
2.-	Ataxia																		
3.-	Perdida ref, enderezamiento																		
4.-	Analgesia																		
5.-	Anestesia																		
6.-	Pérdida del reflejo corneal																		
7.-	Perdida del reflejo pineal																		
8.-	Parálisis de patas anteriores																		
9.-	Parálisis de patas traseras																		
10.-	Parálisis de la cabeza																		
11.-	Actividad prensil: P.A																		
12.-	Actividad prensil: P.T																		
13.-	Reacción de alarma																		
14.-	Actividad motora I																		
15.-	Temblores finos del cuerpo																		
16.-	Temblores fuertes del cuerpo																		
17.-	Fasciculaciones																		
18.-	Convulsiones clónicas																		
19.-	Convulsiones tónicas																		
20.-	Convulsiones mixtas																		
	OJOS																		
21	Ptois parpebral																		
22	Nistagmus																		
23	Lacrimación																		
	OREJAS																		
24	Palidez																		
25	Hiperemia																		
26	Cianosis																		
	EFFECTOS GENERALES																		
27	Salivación																		
28	Erección de la cola																		
29	Erección pilomotor																		
30	Micción																		
31	Diarrea																		
32	Signo de Robichaud																		
33	Movimiento circular																		
34	Temperatura rectal °C																		
	EFFECTOS SUBJETIVOS																		
35	Agresivo																		
36	Pasivo																		
37	Temeroso																		
38	Peso corporal																		

Anexo N°22. Tabla de registro de peso de comida y volumen de agua

ACUTE TOXICITY (food and wáter)						
DATE	FEMA/ Day	VOLUME H2O	FOOD WEIGHT	MALE/Day	VOLUME H2O	FOOD WEIGHT
	0			0		
	1			1		
	2			2		
	3			3		
	4			4		
	5			5		
	6			6		
	7			7		
	8			8		
	9			9		
	10			10		
	11			11		
	12			12		
	13			13		
	14			14		

CODE:

Anexo N°23. Tabla de registro de peso de órganos

ACUTE TOXICITY (organ weight)									
N° Mouse	Brain,	Liver,	Kidney,	Spleen,	Stomach,	Intestines,	Heart,	Lungs	Comments
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									

CODE:

DATE:

Anexo N°24. Tabla de registro de parámetros hematológicos

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS

EVALUADOR.....

FECHA.....

TIPO DE EXTRACTO.....

CONCENTRACIÓN.....

Nº RATÓN	GR	HT	HB	GB	SEG	LINF	MONO	CAYADO	EOS	BASO	PLAQ	VES	VCM	HCM

NOTA.....

Anexo N°25. Tabla de registro de parámetros bioquímicos

PARÁMETROS BIOQUÍMICOS

EVALUADOR.....

FECHA.....

TIPO DE EXTRACTO.....

CONCENTRACIÓN.....

RATÓN	GLUCO	CREATINI	UREA	AC. URICO	FOSF. ALC.	CK-MB	GTP/AS	GGT	TRIGLIC	COLEST	BIL. IND.	BIL. DIR.	BIL. TOT

NOTA.....