

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**  
**DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN.**

**NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN.**

Toxicidad subaguda del extracto acuoso de hojas de chichipince *Hamelia patens* Jacq (Rubiaceae) en ratones cepa NIH de laboratorio.

**TITULO A OBTENER:** Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia.

<b>Nombres, Apellidos</b>	<b>Institución y dirección</b>	<b>Teléfono y E-mail</b>	<b>Firma</b>
Br. Denis Adonay Morales Peña	Calle el Calvario 26-14 La Libertad, La Libertad.	74209656 <a href="mailto:damp27@hotmail.com">damp27@hotmail.com</a> <a href="mailto:denismorales27@gmail.com">denismorales27@gmail.com</a>	
MVZ. Ramón Oviedo Zelaya (asesor interno)	Universidad de El Salvador, Final Avenida "Mártires Estudiantes del 30 De julio, San Salvador, El Salvador, América Central.	76604955 <a href="mailto:roviedo94@yahoo.es">roviedo94@yahoo.es</a>	
Lic. Miguel Ángel Moreno Mendoza (asesor externo)	Universidad de El Salvador, Final Avenida "Mártires Estudiantes del 30 De julio, San Salvador, El Salvador, América Central.	7741-7367 <a href="mailto:homeobox33@yahoo.es">homeobox33@yahoo.es</a>	

**VISTO BUENO.**

Coordinador General de Procesos de Graduación del Departamento:

MVZ. María José Vargas Artiga.

Firma:

Director General de Procesos de Gradación de la Facultad - Interino

Ing. Ricardo Ernesto Gómez Orellana

Firma:

Jefe del Departamento:

MVZ. Rosy Francis Alvarenga Artiga.

Firma:

Sello:

Lugar y fecha: Ciudad Universitaria 16 de noviembre de 2018

## **NOMBRE DE LA INVESTIGACIÓN.**

Toxicidad subaguda del extracto acuoso de hojas de chichipince *Hamelia patens Jacq* (Rubiaceae) en ratones cepa NIH de laboratorio.

**AUTORES.** Morales-Peña D.A<sup>1</sup>., Oviedo-Zelaya R<sup>2</sup>., Moreno-Mendoza M.A<sup>3</sup>.

## **RESUMEN.**

La investigación se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). Utilizándose 45 ratones albinos suizos machos y hembras de la cepa NIH provenientes del Laboratorio de Experimentación Animal (LEA), con peso entre 20 – 25 g, mantenidos a una temperatura y humedad relativa controlada de  $22 \pm 2$  °C y entre 50-60% respectivamente, con ciclo de luz - oscuridad de 12/12 horas. El extracto acuoso de hojas de *Hamelia patens Jacq* (chichipince) se preparó en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador y se evaluó mediante ensayos de toxicidad subaguda por 28 días por vía oral, utilizándose dos dosis de T1: 100 y T2: 200 mg/kg de peso vivo para ambos sexos, para evaluar si existe algún efecto toxico a estas dosis. Los métodos empleados fueron los descritos por la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OECD). Se evaluaron Parámetros Clínicos, donde no se observaron signos de toxicidad; Pesos corporales, se observaron aumentos significativos en ambos sexos; Hematología, parámetro Plaquetario en hembras presentó diferencias estadísticas significativas; Química Sanguínea, Bilirrubina total, Nitrógeno ureico y Transaminasa Glutámica Oxalacetica mostraron diferencias estadísticas significativas para grupos de hembras; Pesos y Tallas de órganos, se observaron diferencias estadísticas significativas en ambos sexos. Los resultados fueron analizados con el programa estadístico SPSS 21 mediante un análisis de T- student para muestras independientes y muestras relacionadas para los pesos corporales. Los resultados son presentados con sus Medias (X), Aumentos porcentuales para pesos vivos (%), Desviación estándar (XS), Significancia Bilateral (P valor) cuando ( $P < 0.05$ ). Concluyendo al final de la investigación, que el extracto acuoso de *H patens Jacq* a las dosis estudiadas no presentó efecto toxico en los ratones cepa NIH para ambos sexos.

**Palabras clave:** *Hamelia patens Jacq*, extracto acuoso, chichipince, dosis.

## **NAME OF RESEARCH.**

Subacute toxicity of the aqueous extract of chichipince leaves *Hamelia patens Jacq* (Rubiaceae) in mice strain NIH de laboratory.

**AUTHORS.** Morales-Peña D.A<sup>1</sup>, Oviedo-Zelaya R<sup>2</sup>, Moreno-Mendoza M.A<sup>3</sup>.

## **ABSTRACT.**

The research was conducted in the facilities of the Center for Research and Development in Health (CENSALUD). Using 45 male and female Swiss albino mice of NIH strain from the Laboratory of Animal Experimentation (LEA), weighing between 20-25 g, maintained at a controlled temperature and relative humidity of  $22 \pm 2$  ° C and between 50-60% respectively , with light-dark cycle of 12/12 hours. The aqueous extract of leaves of *Hamelia patens Jacq* (chichipince) was prepared in the Natural Products Research Laboratory of the Faculty of Chemistry and Pharmacy of the University of El Salvador and was evaluated by sub-acute toxicity tests for 28 days orally, using two doses of T1: 100 and T2: 200 mg / kg of live weight for both sexes, to evaluate if there is any toxic effect at these doses. The methods used were those described by the Organization for Economic Cooperation and Development (OECD). Clinical Parameters were evaluated, where signs of toxicity were not observed; Body weights, significant increases were observed in both sexes; Hematology, Plaquetario parameter in

<sup>1</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Medicina Veterinaria, Estudiante tesista

<sup>2</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Medicina Veterinaria, Docente director

<sup>3</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Docente asesor

females presented significant statistical differences; Blood chemistry, total bilirubin, urea nitrogen and Oxalacetic glutamic transaminase showed significant statistical differences for groups of females; Weights and sizes of organs, significant statistical differences were observed in both sexes. The results were analyzed with the statistical program SPSS 21 through a T-student analysis for independent samples and related samples for body weights. The results are presented with their Medias (X), Percentage increases for live weights (%), Standard deviation (XS), Bilateral significance (P value) when (P <0.05). Concluding at the end of the investigation, that the aqueous extract of *H patens Jacq* at the doses studied had no toxic effect on the animals.

**Key words:** *Hamelia patens Jacq*, aqueous extract, chichipince, doses.

<sup>1</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Medicina Veterinaria, Estudiante tesista

<sup>2</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas, Departamento de Medicina Veterinaria, Docente director

<sup>3</sup> Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemática, Docente asesor

## **1. INTRODUCCIÓN**

*Hamelia patens Jacq* (chichipince) es una planta utilizada en la medicina tradicional Salvadoreña a la que se le asocian propiedades antimicrobianas, analgésicas, antidepresiva, inmunoestimulante, cicatrizante, antitumorales y antiinflamatorias y ha sido considerada entre las especies de mayor uso medicinal en El Salvador (Raintree Nutrition 2004).

Las plantas medicinales al ser fuentes muy importantes de sustancias con actividades biológicas, deben ser investigadas para poder ser utilizadas con seguridad y racionalmente. La población las utiliza de forma indiscriminada basándose en la creencia de que las plantas carecen de efectos adversos y que no se necesita una dosificación exacta (Núñez 1982). Nos encontramos entonces, con el hecho que el chichipince (*H. patens Jacq*), siendo una especie químicamente dotada de compuestos ampliamente reportados por su actividad biológica en el tratamiento de múltiples trastornos, está también dotada de compuestos de grupos químicos con actividad toxicológica (Núñez 1982).

Por lo tanto, el chichipince debe de ser sujeto de estudios, siguiendo normas de investigación científica para determinar su potencial tóxico si estuviese presente por la vía oral donde la información acerca de ella es poca. De acuerdo a lo mencionado sobre el chichipince, especie botánica reportada entre las más usadas como medicina natural en El Salvador, se realizó el ensayo de toxicidad subaguda por 28 días por vía oral en ratones de laboratorio cepa NIH machos y hembras, donde se evaluaron dos dosis de 100 y 250 mg/kg, con el objetivo de determinar algún efecto tóxico por parte de dicha especie botánica. Se evaluaron exámenes clínicos a diario, pruebas de Hematología, Química sanguínea, necropsia y estudio macroscópico de órganos. Este tipo de estudio es de importancia para la Medicina Veterinaria ya que se usó un modelo animal de laboratorio para brindar bases científicas sobre esta planta que se sabe muy poco sobre su uso por vía oral en animales y así a futuro poderse utilizar como fitoterapia complementaria a tratamientos farmacológicos brindados por el Médico Veterinario.

## **2. MATERIALES Y METODOS**

### **2.1. Ubicación, Duración, Unidades experimentales**

El estudio se llevó a cabo en la Universidad de El Salvador, con coordenadas geográficas 13°43'6" N 89°12'11"O. Y ubicada en, Final Avenida "Mártires Estudiantes del 30 De julio, San Salvador, El Salvador, Centro América. Específicamente en las instalaciones del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), en el Laboratorio de Patología y Laboratorio de Experimentación Animal (LEA). Se contó también con el apoyo de la Facultad de Química y Farmacia mediante el Laboratorio de Investigación de Productos Botánicos. La investigación se realizó en los meses de mayo hasta noviembre 2015. Se utilizaron 45 ratones machos y hembras de la cepa NIH disponibles en (LEA - CENSALUD).

### **2.2. Metodología de Laboratorio**

#### **2.2.1. Actividades dentro del laboratorio de experimentación animal**

Se realizaron actividades a diario desde el inicio del estudio, se utilizaron animales vivos destinados para investigaciones. Se les proporcionó una alimentación con concentrado para roedores con nivel de proteína de 22%, agua de consumo potabilizada y filtrada, limpieza de las jaulas, se verificó funcionamiento del equipo de ventilación y extractor de aire, sistema de iluminación, medidores de la temperatura y limpieza de instalaciones.

### **2.2.2. Selección de animales experimentales (ratones NIH)**

Se utilizaron 45 ratones (20 machos y 25 hembras) de la cepa NIH, con un peso corporal entre 20 a 25 gramos, con 5 semanas de vida. Se mantuvieron a una temperatura controlada de  $22 \pm 2$  °C y entre 50-60% de humedad relativa, con un ciclo de luz-oscuridad 12/12 horas. Permaneciendo 4 animales por jaula en los grupos de machos y 5 animales por jaula para los grupos de hembras, marcados con ácido pícrico en diferentes partes del cuerpo.

### **2.2.3. Conformación de los tratamientos.**

Se evaluaron dos concentraciones de 100 y 250 mg/kg de peso vivo del extracto acuoso de hojas de *Hamelia patens Jacq* (chichipince). Los tratamientos quedaron agrupados y etiquetados de la siguiente manera: T0 (control): agua destilada, T1: 100 mg/kg de peso vivo de extracto acuoso, T2: 250 mg/kg de peso vivo de extracto acuoso. Cada animal recibió un volumen máximo de 0.2 ml de agua destilada y del extracto acuoso (tratamientos).

### **2.2.4. Recolección de hojas de *Hamelia patens Jacq*.**

Se recolectó las hojas dentro del campus Universitario, seleccionando árboles en buenas condiciones sin evidencias de plagas y enfermedades. Se secaron a claridad por una semana y luego en estufa para su secado completo en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia. Se molieron para obtener un pulverizado el cual se conservó en bolsas plásticas etiquetadas con el nombre científico y común de la planta y la fecha de elaboración.

### **2.2.5. Obtención del extracto seco de hojas de *Hamelia patens Jacq*.**

El método consistió en pesar 57 gramos del pulverizado de hojas, se calentó 1000 ml de agua destilada en un hot plate, se adicionó el pulverizado y se cocinó a 100 °C agitándola por 20 minutos, la decocción obtenida se coló con una manta de algodón y se filtró con papel filtro y se obtuvo un extracto fluído. El extracto fluído se colocó en tubos de vidrio especiales para altas revoluciones montados en un holders, se colocaron en (GENEVAC) aparato que centrifuga a altas revoluciones y a temperaturas variadas. Se centrifugaron a velocidad de 8000 rpm con temperatura de 40 °C por un tiempo de 9 a 10 horas, en el fondo del tubo quedó solamente el extracto seco colocándose en un desecador de sílica para eliminar humedad y luego se refrigeraron.

### **2.2.6. Preparación del extracto acuoso de hojas de *H. patens Jacq*.**

Fueron preparadas dos veces por semana ambas concentraciones, partiendo del peso promedio semanal en gramos de los grupos de animales. Se pesó la cantidad de extracto seco con balanza semianalítica digital, se colocó el extracto seco en un Beaker de 100 ml, se le añadió 5 ml de agua destilada caliente colocándose en un aparato sonificador por 20 minutos para disolver el extracto seco, luego se transfirió a un balón de vidrio graduado con capacidad de 10 ml y se aforó (línea de 10 ml en balón) con agua destilada hasta dicha marca, el extracto acuoso se refrigeró entre 2 a 7 °C para evitar contaminación.

### **2.2.7. Estudio de toxicidad subaguda por 28 días.**

El estudio de toxicidad se realizó según lo establecido en las guías para el cuidado y uso de los animales de experimentación del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCAC 1998) y lo establecido en las guías 408 y 420 de la Organization for Economic Co-operation and Development (OECD 1998, 2001).

### **2.2.8. Administración de sustancia de hojas de *H. patens Jacq*.**

La vía de administración del extracto acuoso fue por canulación intragástricas, con el ratón correctamente inmovilizado de manera que la cabeza quedara alineada con el cuerpo evitando

movimientos de cabeza. Se utilizó una jeringa de tuberculina de 1 cc y una cánula o aguja metálica calibre 19 modificada para no causar daño al introducirla, fue insertada empujando la cabeza hacia atrás hasta lograr alinear la boca y el esófago, para luego permitir que esta baje por gravedad sin empujar hasta alcanzar una profundidad aproximada de 2 cm, inmediatamente se vació el contenido de la jeringa que es de 0.2 ml de agua destilada o de la sustancia de *H. patens Jacq.*

#### **2.2.9. Observaciones clínicas.**

Se observaron los animales después de la canulación durante las primeras 4 horas, mayor énfasis los primeros 30 minutos. Se registraron los pesos corporales de cada animal una vez por semana anotándose en una tabla de registro, se evaluaron diferentes parámetros físicos – clínicos a diario en busca de signos de toxicidad registrados en fichas para cada grupo y cada individuo.

#### **2.2.10. Toma de muestra sanguínea.**

Finalizado los 28 días, se tomaron muestras de sangre para exámenes hematológicos y bioquímica clínica para cada animal, para determinar presencia de alteraciones fisiológicas o de toxicidad por la administración de la sustancia. La sangre se obtuvo de la zona retro orbital del plexo venoso con un micro capilar para realizar la punción, sujetando al animal del pliegue cutáneo de la zona cervical o cuello. Las muestras sanguíneas fueron procesadas en el Laboratorio Clínico del Hospital Rosales de San Salvador. NOTA: Un ratón adulto su volumen sanguíneo total ronda entre los 78-80 ml/kg de peso vivo. Aproximadamente un total de 2 a 2.5 ml (Timm 1989).

#### **2.2.11. Pruebas Hematológicas.**

Se obtuvo una cantidad de sangre de 0.25 a 0.30 ml, colectada en un tubo pequeño con anticoagulante (EDTA), se identificó según el número de registro de cada animal y grupo de tratamiento para machos y hembras. Se determinó la línea roja, plaquetas y línea blanca en busca de alguna alteración en el paquete celular sanguíneo.

#### **2.2.12. Pruebas de Bioquímica Sanguínea.**

La cantidad de sangre extraída fue de 0.50 ml y se colocó en un tubo colector (eppendorf) sin anticoagulante, rotulado de igual manera que los de hematología. Los tubos se centrifugaron por dos minutos a 4500 rpm, el suero se recolectó con micropipeta graduada y se colocó en otro tubo eppendorf para su posterior congelamiento a -20 °C. Se determinaron los valores de glucosa, nitrógeno ureico, creatinina, relación nitrógeno ureico/creatinina, colesterol total, triglicéridos, transaminasa glutámica pirúvica (TGP), transaminasa glutámica oxalacética (TGO), bilirrubina total.

#### **2.2.13. Necropsia y estudio macroscópico de órganos.**

Los animales fueron sacrificados por dislocación cervical evitando estrés y sufrimiento. A cada uno se le realizó observaciones post mortem donde se evaluaron diferentes parámetros macroscópicos a los órganos como: superficie del órgano (lisa, áspera, granular, arrugada), consistencia (firme, quebradizo, esponjoso), color (homogéneo, manchado), tamaño (mm) y su respectivo peso en gramos. Los órganos evaluados fueron: corazón, pulmón, hígado, bazo, estómago, riñones, intestino delgado e intestino grueso.

### **2.3. Metodología estadística.**

Los datos obtenidos fueron evaluados estadísticamente con el software SPSS 21 donde se compararon los resultados obtenidos entre el grupo control y los grupos tratamientos. Mediante un análisis de “T”- Student para muestras independientes y muestras relacionadas

para los pesos corporales. Se consideró que la diferencia entre los grupos tratados y el grupo control será significativa (\*) cuando  $p < 0,05$ . Los resultados son expresados como la Media  $\pm$  la Desviación Estándar de los grupos experimentales.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Observaciones clínicas

Zeinsteger *et al.* (2003), menciona que la sintomatología de la intoxicación se caracteriza por alteraciones en la locomoción, convulsiones, actitudes posturales anormales y consecuentes inanición y muerte. En este estudio la administración del extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq* (chichipince), no se evidenció la presencia de alteraciones clínicas en los animales para ambos sexos. Por lo tanto la sustancia en las concentraciones establecidas no presentó ningún signo de deterioro evidente en la salud a causa de un proceso de toxicidad como: ataxia, parálisis, pilo erección, problemas respiratorios, posturas anormales, diarrea, sangrado, temores (temblores) y convulsiones, ni muerte de los animales de experimentación. Lo que concuerda con el uso seguro de *H. patens Jacq* reportado recientemente por otros autores en un artículo de revisión (Ahmad *et al.* 2012).

#### 3.2. control de pesos semanales.

En los animales machos se observa una tendencia al aumento de peso en los promedios semanales para los grupos tratamientos T1 y T2 en relación al de su grupo control. Teniéndose al final un valor del aumento porcentual para el grupo control de 9.11%, para el grupo T1: 11.73%, y para el grupo T2: 12.67%. En la comparación de medias entre el grupo control y los grupos tratamientos se observaron diferencias estadísticas significativas, donde se obtiene una Significancia Bilateral (*P valor*) producto de esta comparación, para T1 un *P* valor de 0.00\* y T2 un *P* valor de 0.00\* (cuadro 1).

**Cuadro 1.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los pesos promedio y aumento porcentual en ratones machos NIH en dos dosis de T1: 100 y T2: 250 mg/kg.

Sexo	Machos						Aumento (%)	Sig. bilateral ( <i>P valor</i> )
Grupo	Inicio	sem 1	sem 2	sem 3	sem 4			
Control	25.87 $\pm$ 0.89	27.37 $\pm$ 0.56	27.92 $\pm$ 0.41	29.25 $\pm$ 0.84	27.90 $\pm$ 1.15	9.11		
T1	26.16 $\pm$ 1.18	27.37 $\pm$ 1.36	28.62 $\pm$ 1.70	29.16 $\pm$ 1.98	29.23 $\pm$ 1.70	11.73	0.00*	
T2	25.07 $\pm$ 0.68	26.38 $\pm$ 0.83	27.57 $\pm$ 1.36	28.26 $\pm$ 1.29	28.26 $\pm$ 1.44	12.67	0.00*	

Los valores se expresan con la Media  $\pm$  Desviación Estándar (DE), Aumento porcentual (%) y Sig. Bilateral (*P valor*), grupo control (agua destilada), T1 grupo tratamiento 100 mg y T2 grupo tratamiento 250 mg.

En cuanto a las hembras podemos observar un leve aumento del peso promedio semanal para los animales tratados con el extracto acuoso de *H. patens Jacq* durante el período de investigación, donde el grupo T1 tiene una leve disminución en la semana dos y grupo T2 una leve disminución en la semana uno, pero de igual manera siempre hubo una tendencia al aumento de peso corporal en las siguientes semanas. Teniéndose al final valores del aumento porcentual para el grupo control de 7.55%, grupo tratamiento T1 un valor de 5.84% y para el tratamiento T2 un valor de 5.72%. En la comparación de medias entre grupo control y grupos tratamientos se observa diferencia estadística significativa, donde se obtiene una Significancia Bilateral (*P valor*) producto de esta comparación, para T1 un *P* valor de 0.00\* y para T2 un *P* valor de 0.00\* (cuadro 2).

**Cuadro 2.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los pesos promedio y aumento porcentual en ratones hembras NIH en dos dosis de T1: 100 y T2: 250 mg/kg

Sexo	Hembras						Aumento (%)	Sig. Bil. (P valor)
Grupo	Inicio	sem 1	sem 2	sem 3	sem 4			
<b>Control</b>	23.04 ±0.19	23.36± 0.78	23.14± 0.18	24.64± 0.51	24.78± 0.52	7.55		
<b>T1</b>	25.30 ±0.77	25.49 ± 0.98	24.97 ± 0.71	26.17 ± 0.77	26.67 ± 1.06	5.84	0.01*	
<b>T2</b>	22.00± 0.74	21.94 ± 0.81	22.14± 0.99	23.07 ± 0.97	23.26± 1.03	5.72	0.03*	

Los valores se expresan con la Media ± Desviación Estándar (DE), Aumento porcentual (%) y Sig. Bilateral (P valor), grupo control (agua destilada), T1 grupo tratamiento 100 mg y T2 grupo tratamiento 250 mg.

Mancebo (2002); afirma que los datos referentes al peso corporal poseen una gran sensibilidad para detectar alteraciones debido a productos químicos, incluso aquellos de baja toxicidad; por lo que, la disminución de más del 10% del peso corporal es considerada un indicativo de efectos adversos a la salud.

Rodríguez, S. (1998) y Moreno *et al.* (2013); concuerdan que después de la administración de sustancias tóxicas se producen pérdidas de peso como consecuencia de la movilización de reservas energéticas del individuo para enfrentar la actividad metabólica incrementada que acompaña los procesos de desintoxicación.

Respecto al peso corporal como indicador de toxicidad la administración del extracto acuoso de hojas de *H. patens Jacq*, (chichipince) en dos diferentes concentraciones no afectó la ganancia diaria de pesos de los animales machos y hembras, los cuales tuvieron tendencia al incremento en sus promedios semanales. Según Pordomingo *et al.* (2004), los taninos son sustancias que estimulan el aumento de peso. Moreno *et al.* (2013) indica que este aumento podría estar relacionado a un mayor consumo de alimento debido a que la sustancia de estudio podría tener propiedades para la estimulación del apetito.

En cuanto a las respuestas entre machos y hembras se han relacionado con sus diferencias en una gran variedad de procesos fisiológicos, actividades enzimáticas, mecanismos de reparación genética y factores hormonales (Castro *et al.* 2004). Esto podría explicar el leve incremento de pesos promedios en los animales hembras que recibieron los tratamientos. Lo cual indicaría que en hembras haya una mayor susceptibilidad a cambios fisiológicos y movilización de mayores reservas energéticas para enfrentar la actividad metabólica incrementada.

### 3.3. Exámenes sanguíneos.

Los exámenes hematológicos y de bioquímica sanguínea son indicadores del alcance y la profundidad de los efectos adversos de una sustancia sobre un órgano específico (González *et al.* 2006). Además el estrés causado por la manipulación e inmovilización suele ocasionar una elevación del hematocrito y recuento de leucocitos así como variaciones en los valores de bioquímica sanguínea. (Ávila *et al.* 2013).

Los parámetros hematológicos en los grupos T1 y T2 tratados con las concentraciones del extracto acuoso de *H. patens Jacq*, muestran promedios similares a los observados en su grupo control en todos los componentes del hemograma para machos y hembras (Cuadro A-1). Sin embargo el parámetro de plaquetas en los grupos de hembras se observan incrementos en sus promedios en relación a los de su grupo control: 1302.60 10e3/μL, T1: 1458.90 10e3/μL y T2: 1430.60 10e3/μL y producto de la comparación entre grupos control y



tratamientos se presentan diferencias estadísticas significativas, donde se obtiene una Significancia Bilateral (*P* valor) para T1 un *P* valor 0.01\* y T2 un *P* valor de 0.03\*. (Cuadro 3)

**Cuadro 3.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en el parámetro de plaquetas en ratones NIH hembras con dos concentraciones T1: 100 mg y T2:250 mg.

Parámetro	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bilateral	Media	±	D.S	Sig. Bilateral
Plaquetas (10e3/μL)	Control	1463.25	±	35.45		1302.60	±	114.63	
	T1	1456.50	±	53.78	0.82	1458.90	±	82.70	0.01*
	T2	1458.50	±	57.34	0.88	1430.60	±	88.59	0.03*

Los valores se expresan con la Media ± Desviación Estándar (DE) y Sig. Bilateral (*p* valor) cuando *P* < 0.05

En cuanto a la presencia de diferencias estadísticas significativas en plaquetas para hembras T1 y T2, podrían tener relación al aumento en la actividad metabólica y no a un proceso de toxicidad y desde el punto de vista clínico estos valores obtenidos en grupos tratamientos guardan estrecha relación con los de su grupo control. Aunque Suckow *et al.* Sf, determina promedios de plaquetas en ratones de laboratorio en rangos de los 1084 – 1992 10e3/μL, por lo tanto, los valores obtenidos en la investigación para los grupos tratamientos están dentro de los rangos normales para esta especie animal.

En cuanto a los resultados de la Bioquímica sanguínea, en la mayoría de los parámetros evaluados se observan diferencias entre los valores promedios en ambos grupos tratamientos comparados con los de su grupo control (Cuadro A-2). Exceptuando los parámetros de Bilirrubina total, Nitrógeno ureico y Transaminasa glutámica oxalacética (TGO) únicamente para grupos hembras se observaron diferencias estadísticas significativas la comparación entre grupos tratamientos y su grupo control (Cuadro 4).

**Cuadro 4.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en parámetros de Bioquímica sanguínea en ratones NIH hembras.

Parámetro	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bilateral	Media	±	D.S	Sig. Bilateral
Bilirrubina total (mg/dL)	Control	0.17	±	0.00		0.09	±	0.01	
	T1	0.16	±	0.02	0.85	0.09	±	0.05	0.92
	T2	0.15	±	0.02	0.46	0.12	±	0.02	0.00*
Nitrógeno ureico (mg/dL)	Control	28.75	±	0.50		27.20	±	1.30	
	T1	30.25	±	2.31	0.24	24.85	±	1.77	0.03*
	T2	27.88	±	2.23	0.47	27.10	±	2.47	0.93
TGO (transaminasa glutámica oxalacética) (UI/L)	Control	79.00	±	16.99		79.00	±	8.00	
	T1	90.00	±	23.69	0.43	87.00	±	20.82	0.43
	T2	94.63	±	24.30	0.28	93.00	±	10.75	0.02*

Los valores se expresan con la Media ± Desviación Estándar (DE) y Significancia Bilateral (*P* valor) cuando *P* < 0.05

Para el parámetro de Bilirrubina total en el grupo de hembras se observa un leve aumento en el promedio para el grupo T2: 0.12 mg/dL con respecto al de su grupo control: 0.09 mg/dL, presentando diferencia estadística significativa la comparación entre estos dos grupos con un *P* valor de 0.00\*. Un aumento de la bilirrubina total en general y de la bilirrubina conjugada en particular, sugiere una obstrucción del conducto biliar. (Sánchez 2009). En Nitrógeno ureico para las hembras se observa una disminución únicamente en el promedio para el grupo T1: 24.85 mg/dL respecto a su control: 27.20 mg/dL, con diferencia estadística significativa con un *P* valor de valor 0.03\* producto de la comparación de grupo tratamiento T1 y su control. En cuanto a la urea, esta se sintetiza en el hígado, por lo que una disfunción hepática puede dar valores de BUN (Nitrógeno ureico en sangre) bajos. (Sánchez 2009). Mientras que en hembras TGO se observan aumentos en los promedios de los grupos tratamientos, donde grupo control: 79.00 UI/L y T1: 87.00 UI/L y T2: 93.00 UI/L, donde la

comparación entre grupos solo se observa diferencia estadística significativa el grupo T2 con un  $P$  valor de 0.02\*. TGO es una enzima muy sensible pero muy poco específica a la hora de determinar disfunciones hepáticas. Sin embargo, no es un marcador hepático muy específico, ya que se encuentra en considerables cantidades en el músculo estriado y cardíaco. También se eleva con cortico esteroides y fenobarbital. (Sánchez 2009).

Por lo tanto, estas leves variaciones en estos parámetros, podría confirmarse según Cai Yan, *et al.* 2003, que determina que las hembras son más susceptibles a la toxicidad de un compuesto. Pero desde el punto de vista clínico los valores obtenidos para Bioquímica Clínica con diferencias estadísticas significativas, guardan estrecha relación con los de su grupo control. Por lo tanto no podríamos atribuir un efecto tóxico por parte de la sustancia de ensayo.

### 3.4. Peso y talla de órganos.

Respecto a los pesos promedios de órganos se reportaron diferencias estadísticas significativas únicamente en hígados en hembras, pulmones, estómago e intestino delgado en machos (cuadro 5). En donde los hígados de grupos de hembras tenemos para grupo control un peso de: 1.24 gr, leve aumento para T1 de: 1.39 gr y para T2 leve disminución de: 1.11 gr. donde la comparación de grupos tratamientos con su grupo control presentaron diferencias estadísticas significativas, un  $P$  valor para T1 de 0.02\* y un  $P$  valor para T2 de: 0.01\* En pulmones de grupos de machos se obtuvieron pesos promedios para grupo control de: 0.15 gr, para T1: 0.17gr y para T2: 0.18gr. Únicamente T2 presenta diferencia estadística significativa con un  $P$  valor = 0.01\* producto de la comparación con su control.

Estomago en grupos de machos se obtuvieron pesos promedios para grupo control de: 0.45gr y aumentos para los grupos tratamientos para T1: 0.77gr y para T2: 0.68gr, donde T1 presentó diferencia estadística significativa la comparación con su grupo control con un  $P$  valor= 0.01\*. En cuanto a intestino delgado para grupos machos tenemos pesos promedios para grupo control de: 2.28 gr, para grupo T1: 2.10 gr y para grupo T2: 1.85 gr. donde la comparación entre grupos tratamientos y su control T2 presento diferencia estadística significativa con un  $P$  valor = 0.00\*. Para el resto de pesos de órganos se presentan en (Cuadro A- 3)

**Cuadro 5** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los pesos de órganos de ratones NIH machos y hembras.

Parámetro (gr)	Grupo	Machos			Hembras				
		Media	±	D.S	Sig. Bilateral	Media	±	D.S	Sig. Bilateral
Hígado	Control	1.47	±	0.13		1.24	±	0.08	
	T1	1.48	±	0.13	0.84	1.39	±	0.11	0.02*
	T2	1.40	±	0.08	0.29	1.11	±	0.08	0.01*
Pulmones	Control	0.15	±	0.01		0.18	±	0.02	
	T1	0.17	±	0.04	0.40	0.18	±	0.03	0.82
	T2	0.18	±	0.02	0.01*	0.18	±	0.02	0.86
Estomago	Control	0.45	±	0.08		0.59	±	0.12	
	T1	0.77	±	0.27	0.01*	0.73	±	0.17	0.14
	T2	0.68	±	0.37	0.25	0.64	±	0.13	0.46
Intestino Delgado	Control	2.28	±	0.09		2.00	±	0.26	
	T1	2.10	±	0.24	0.18	2.16	±	0.33	0.43
	T2	1.85	±	0.13	0.00*	1.91	±	0.26	0.54

En cuanto a la talla promedio de órganos se reportaron variaciones únicamente en riñón derecho en hembras, estómago e intestino grueso en machos (cuadro 6). En donde tenemos tallas para riñones de hembras de grupo control de: 1.02 mm, para grupo T1: 0.98 mm y para grupo T2: 0.89 mm. Únicamente T2 se observa diferencia estadística significativa con un  $P$  valor= 0.02\* producto de la comparación con su control. En estomago de machos tenemos tallas promedios para grupo control de: 1.43mm, para grupo T1: 1.83mm y para grupo T2: 1.64mm. Presentando diferencia estadística significativa la comparación entre grupo tratamiento y su control únicamente T1 con un  $P$  valor de: 0.01\*. En cuanto a intestino grueso en grupos de machos, tenemos tallas promedios para grupo control de: 8.43mm, para grupo T1: 9.71mm y para grupo T2: 9.05mm. Donde producto de la comparación entre grupos tratamientos con su grupo control se obtienen diferencia estadística significativa para T1 un  $P$  valor de: 0.01\* y para T2 un  $P$  valor de: 0.02\*. Para el resto de tallas de órganos se presentan en (Cuadro A-4).

**Cuadro 6** efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en la talla de órganos de ratones

Los valores se expresan con la Media  $\pm$  desviación estándar (D.S) y Significancia Bilateral ( $P$  valor) cuando  $P < 0.05$ . Los pesos para cada parámetro están dados en gramos (gr)

NIH machos y hembras.

Parámetro (mm)	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	$\pm$	D.S	Sig. Bil.	Media	$\pm$	D.S	Sig. Bil.
Riñón Der.	Control	1.10	$\pm$	0.00		1.02	$\pm$	0.04	
	T1	1.08	$\pm$	0.13	0.60	0.98	$\pm$	0.08	0.32
	T2	1.14	$\pm$	0.12	0.40	0.89	$\pm$	0.14	0.02*
Estomago	Control	1.43	$\pm$	0.10		1.72	$\pm$	0.04	
	T1	1.83	$\pm$	0.23	0.01*	1.82	$\pm$	0.18	0.12
	T2	1.64	$\pm$	0.37	0.29	1.63	$\pm$	0.24	0.27
Intestino Grueso	Control	8.43	$\pm$	0.15		9.10	$\pm$	1.02	
	T1	9.71	$\pm$	1.07	0.01*	9.76	$\pm$	1.27	0.33
	T2	9.05	$\pm$	0.58	0.02*	9.60	$\pm$	0.84	0.33

Los valores se expresan con la Media  $\pm$  desviación estándar (D.S) y Significancia Bilateral ( $P$  valor) cuando  $P < 0.05$ . Las tallas para cada parámetro están dadas en milímetros (mm)

Por otra parte, en relación a los órganos, los cambios en el tamaño, forma, superficie, color, consistencia y peso; determinan la presencia de daños toxicológicos (Höfle 2007).

Por su parte Dybing *et al* 2002 explica que el peso relativo de los órganos es fundamental para diagnosticar si el órgano fue expuesto a la lesión o no. El corazón, el hígado, el riñón, el bazo y los pulmones son los primeros órganos afectados por reacción metabólica causada por agente tóxico.

Igualmente, Kumar *et al* 2008 explica que la hinchazón celular es la primera manifestación de casi todas las formas de lesión en las células, y es más manifiesta considerando el órgano en su totalidad, pues cuando afecta a muchas células de este causa una cierta palidez, aumento de la turgencia y en el peso.

De esta manera se explicaría, los resultados obtenidos en los pesos y tallas de los órganos de ratones machos y hembras tratados con el extracto acuoso de *Hamelia patens jacq*, donde hubo diferencias estadísticas significativas en relación a su grupo control. Pero desde el punto de vista clínico en el estudio macroscópico no se evidenció presencia de alteraciones en tamaño, forma, consistencia, superficie y color de los órganos que nos indiquen un efecto toxico debido a la administración de la sustancia de estudio.

#### 4. CONCLUSIONES.

El estudio toxicológico con el extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq* por vía oral por 28 días en ratones de ambos sexo, no presentó signos de toxicidad ni disminución en el peso corporal en los ratones en ambos sexos.

Los resultados obtenidos para Hematología y Química Clínica en hembras, guardan estrecha relación con los de su grupo control, por lo tanto no son indicativos de un efecto de toxicidad causado por el extracto acuoso en las dosis utilizadas.

Las variaciones de promedios de pesos y tallas de órganos, no son indicativos de un efecto de toxicidad por parte de la sustancia, ya que, al estudio macroscópico de órganos no se evidenció lesiones o daño.

#### 5. RECOMENDACIONES.

Debido a que los animales tuvieron tendencia al incremento de peso significativamente en machos más que todo, se recomienda evaluar si el extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq* tiene algún efecto para el estímulo del apetito.

Se recomienda en futuras evaluaciones con el extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq*, se utilicen animales machos, debido que en hembras podrían existir más fuentes de variaciones fisiológicas y metabólicas que interfieran con los resultados, quedando a criterio de cada investigador y acorde a la investigación que se realice.

Se recomienda incluir un estudio Histopatológico en futuras evaluaciones con el extracto acuoso de *Hamelia patens Jacq*, para determinar la presencia de daño celular.

#### 6. BIBLIOGRAFIA

**Ahmad A, Pandurangan A, Singh N, Ananad P. 2012.** A mini review on chemistry and biology of *Hamelia Patens* (Rubiaceae). *Pharmacognosy Journal* 4(29):1-4.

**Avila Illanes, J.A. et al. 2013.** Determinación de valores de referencia hematológicos y bioquímicos en ratones albinos swiss criados y reproducidos en el bioterio de Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas. En línea, PDF. BO, La Paz. Disponible en: [http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rcfb/v1n1/v1n1\\_a09.pdf](http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/rcfb/v1n1/v1n1_a09.pdf)

**Cai Yan, Dai Tiane, Ao Yan, Konishtamiko I, Chuang Kuang-Hsiang, Lue Yanhe, Chang Chawnshang, Wan Andyu-Jui Yvonne. (2003).** Cytochrome P450 Genes Are Differentially Expressed in Female and Male Hepatocyte Retinoid X Receptor Deficient Mice. *Endocrinology* 144(6):2311–2318.

**Castro, V.; Da Costa, F.; Garcia-Pineros, A.; Kisiel, W. ; Klaas, C.; Merfort, I.; Murillo, R.; Rüngeler, P.; Schulte- Mönning, J. y Siedle, B. (2004).** Quantitative structure activity relationship of sesquiterpenelactones as inhibitors of the transcription factor NF-kappaB. *Journal of Medicinal Chemistry* , 47,6042-6054.

**CCAC. (1998).** Manual sobre el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación. Consejo Canadiense de Protección de los Animales. Manual vol. 1 (2nda edición) 322p.

**Dybing, E.; Doe, J.; Groten, J.; Kleiner, J.; O'Brien, J. (2002).** Hazard characterization of chemicals in food and diet: dose response, mechanism and extrapolation issues. *Food Chem. Toxicol.* 42, 237-282.

**González Y, Scull CI, Bada AM, Fuentes D, Gonzalez B, Argueta ME, et al. 2006.** Ensayo de toxicidad a dosis repetidas durante 28 días del extracto acuoso de *Cecropia peltata* L. (yagruma) en ratas Cenp: SPRD. Rev Cubana Plant Med 11(2).

**Höfle U. (2007).** Técnicas de Diagnóstico Post-Mortem: Necropsia y Toma de Muestras. España: Sevilla de la Jara. Disponible en: [http://encontroiberico.no.sapo.pt/docs/Necropsias\\_TomaMuestras\\_UHofle.pdf](http://encontroiberico.no.sapo.pt/docs/Necropsias_TomaMuestras_UHofle.pdf)

**Kumar, Vinay; Abbas, Abul K.; Fausto, Nelson; Mitchell, Richard N. (2008).** Robbins Patología humana 8ª edición. ElServier Sounders.

**Mancebo A, Scull I, González Y, Arteaga M, González B, Fuentes D. (2002).** Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. Rev Toxicol. 19:73 -8.

**Moreno Mendoza, M. A., Parada Palacios, E. A., Mejía Valencia, J.G., Espinoza Madrid, P. A. (2013).** Toxicología subcrónica de infusión de *Chenopodium ambrosioides* (epazote) por administración oral en ratones NIH. Revista Cubana de Plantas Medicinales 18(1) 157-170.

**Núñez, M.D. 1982.** Plantas medicinales de Costa Rica y su folclore, Editorial Universidad de Costa Rica. 318p.

**OECD. (1998).** Guideline for the testing of chemicals N° 408. Repeated dose 90-day oral toxicity study in rodents. Organization for Economic Cooperation and Development.

**OECD. (2001).** Guideline for Testing Of Chemicals N°420. Acute Oral Toxicity–Fixed Dose Procedure. Organization for Economic Cooperation and Development.

**Pordomingo, A., Volpi Lagreca, G., García Pilar T. & G. Grigioni. 2004.** Efecto del Agregado de Taninos en Dietas de Distinto Nivel de Grano en Vaquillonas para Carne Alimentadas en Confinamiento Sobre la Calidad de la Carne. Investigación en Producción Animal. Región Subhúmeda y Semiárida Pampeana, Boletín de Divulgación Técnica. EEA Anguil. No. 88 Pág. 72 -82.

**Raintree Nutrition. 2004.** Biological Activities for Extracts and compoends of Scarlet Bush (*Hamelia patens*). [www.rain-tree.com](http://www.rain-tree.com)

**Rodríguez, S. et al. 1998.** Toxicología de VA-DIFTET por aplicación a dosis única en ratones. Revista de Toxicología. 1998. (15)59-63

**Sánchez Visconti, G. 2009.** Función hepática y parámetros analíticos; Revista de la asociación Madrileña de veterinarios de animales de compañía. C/ Querol, 4. 28033-Madrid

**Suckow, M.A. et al sf. The Laboratory mouse- the book.**

**Timm, KI. 1989.** Orbital venous anatomy of the Mongolian Gerbil with comparison to the mouse, hamster and the rat. Laboratory Animal Science, **39**, 262-264.

**Zeinsteger P. A; Romero A; Montenegro M; Ríos E; Acosta de Pérez O. C & N.L Jorge. 2003.** Toxicidad de la planta *Ipomoea fistulosa* (aguapeí o mandiyurá) en ratones. Universidad Nacional Del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Resumen: V-018. SI

## 7. AGRADECIMIENTOS

A Dios Padre Celestial por brindarme salud y vida para poder culminar mis estudios e investigación. A mi padre Julio Morales Salazar y madre Paz Peña de Morales que desde el cielo han brindado su cariño y amor. Mis Hermanos Julio Norberto Morales Peña, Fernando Alonso Morales Peña y Mónica Tatiana Morales Peña que siempre he recibido todo su apoyo en mis estudios Universitarios. A todos mis amigos y compañeros de estudio que siempre mantuvimos buenas relaciones para salir adelante, Gracias. Agradecer también a todos los profesionales involucrados que brindaron sus conocimientos para la realización de esta investigación científica.

## 8. ANEXOS

**Cuadro A-1.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los parámetros hematológicos en ratones NIH en ambos sexos.

Parámetro	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bil.	Media	±	D.S	Sig. Bil.
Glóbulos rojos (10e6/ $\mu$ L)	Control	10.84	±	0.29		10.55	±	0.12	
	T1	10.69	±	0.29	0.44	10.42	±	0.42	0.40
	T2	10.65	±	0.30	0.32	10.38	±	0.45	0.30
Hemoglobina (g/dL)	Control	16.58	±	0.22		16.20	±	0.31	
	T1	16.33	±	0.42	0.29	16.00	±	0.63	0.52
	T2	16.39	±	0.41	0.41	16.20	±	0.42	1.00
Hematocrito (%)	Control	53.03	±	0.95		55.22	±	2.29	
	T1	52.46	±	1.13	0.41	56.55	±	3.39	0.45
	T2	52.28	±	1.11	0.27	55.27	±	2.08	0.97
MVC (fL)	Control	49.00	±	1.73		52.36	±	2.05	
	T1	49.14	±	0.87	0.85	54.24	±	1.54	0.07
	T2	49.10	±	0.82	0.89	53.31	±	2.45	0.47
MCH (pg)	Control	15.30	±	0.22		15.34	±	0.24	
	T1	15.28	±	0.30	0.88	15.36	±	0.24	0.88
	T2	15.41	±	0.34	0.56	15.63	±	0.39	0.16
MCHC (g/dL)	Control	31.25	±	0.68		29.38	±	0.86	
	T1	31.10	±	0.37	0.62	28.35	±	0.89	0.05
	T2	31.36	±	0.35	0.70	29.34	±	1.01	0.94
RDW.SD (fL)	Control	32.28	±	0.33		37.50	±	2.46	
	T1	32.33	±	0.99	0.92	38.74	±	1.86	0.29
	T2	32.04	±	0.93	<b>0.53</b>	37.86	±	1.96	0.76
Plaquetas (10e3/ $\mu$ L)	Control	1463.25	±	35.45		1302.60	±	114.63	
	T1	1456.50	±	53.78	0.82	<b>1458.90</b>	±	<b>82.70</b>	<b>0.01*</b>
	T2	1458.50	±	57.34	0.88	<b>1430.60</b>	±	<b>88.59</b>	<b>0.03*</b>
VPM (fL)	Control	6.93	±	0.34		7.56	±	0.11	
	T1	6.86	±	0.27	0.73	7.49	±	0.21	0.50
	T2	6.90	±	0.30	0.89	7.56	±	0.21	1.00
G. Blancos (10e3/ $\mu$ L)	Control	10.63	±	2.37		10.06	±	2.14	
	T1	8.36	±	1.51	0.07	11.57	±	1.79	0.17
	T2	8.79	±	1.83	0.16	11.18	±	1.62	0.28

Los valores se expresan con la Media  $\pm$  Desviación Estándar (DE) y Sig. Bilateral (*p* valor) cuando  $P < 0.05$



**Cuadro A-2.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los parámetros de Bioquímica sanguínea en ratones NIH en ambos sexos.

Parámetro	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bil.	Media	±	D.S	Sig. Bil.
Bilirrubina total (mg/dL)	Control	0.17	±	0.00		0.09	±	0.01	
	T1	0.16	±	0.02	0.85	0.09	±	0.05	0.92
	T2	0.15	±	0.02	0.46	<b>0.12</b>	±	<b>0.02</b>	<b>0.00*</b>
Glucosa (mg/dL)	Control	174.25	±	7.63		174.40	±	10.99	
	T1	178.25	±	19.43	0.71	158.38	±	28.67	0.26
	T2	197.50	±	30.39	0.17	182.70	±	32.12	0.47
Nitrógeno ureico (mg/dL)	Control	28.75	±	0.50		27.20	±	1.30	
	T1	30.25	±	2.31	0.24	<b>24.85</b>	±	<b>1.77</b>	<b>0.03*</b>
	T2	27.88	±	2.23	0.47	27.10	±	2.47	0.93
Creatinina (mg/dL)	Control	0.14	±	0.02		0.17	±	0.02	
	T1	0.14	±	0.02	0.46	0.15	±	0.05	0.35
	T2	0.14	±	0.01	0.80	0.18	±	0.02	0.62
Relación BUN/CREA	Control	215.46	±	27.02		161.72	±	22.39	
	T1	212.43	±	30.32	0.87	179.39	±	120.92	0.76
	T2	203.10	±	20.71	0.40	156.72	±	29.20	0.74
Colesterol total (mg/dL)	Control	119.75	±	12.28		85.00	±	17.56	
	T1	115.13	±	9.22	0.48	94.00	±	16.16	0.36
	T2	113.00	±	11.39	0.37	89.10	±	14.83	0.64
Triglicéridos (mg/dL)	Control	276.50	±	70.38		180.60	±	33.22	
	T1	220.63	±	80.62	0.27	153.13	±	80.45	0.49
	T2	197.38	±	24.32	0.14	181.88	±	68.58	0.97
TGO (transaminasa glutámica oxalacética) (UI/L)	Control	79.00	±	16.99		79.00	±	8.00	
	T1	90.00	±	23.69	0.43	87.00	±	20.82	0.43
	T2	94.63	±	24.30	0.28	<b>93.00</b>	±	<b>10.75</b>	<b>0.02*</b>
TGP (transaminasa glutámica pirúvica) (UI/L)	Control	61.25	±	14.66		48.20	±	8.07	
	T1	63.00	±	13.17	0.84	45.00	±	16.54	0.41
	T2	86.63	±	42.70	0.16	48.33	±	10.01	0.98

Los valores se expresan con la Media ± Desviación Estándar (DE) y Significancia Bilateral (*P* valor) cuando *P* < 0.05

**Cuadro A-3.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en los pesos de órganos de ratones NIH en ambos sexos.

Parámetro (gr)	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bil.	Media	±	D.S	Sig. Bil.
Hígado	Control	1.47	±	0.13		1.24	±	0.08	
	T1	1.48	±	0.13	0.84	<b>1.39</b>	±	<b>0.11</b>	<b>0.02*</b>
	T2	1.40	±	0.08	0.29	<b>1.11</b>	±	<b>0.08</b>	<b>0.01*</b>
Corazón	Control	0.12	±	0.01		0.11	±	0.02	
	T1	0.12	±	0.01	0.39	0.27	±	0.41	0.47
	T2	0.13	±	0.03	0.20	0.13	±	0.02	0.09
Pulmones	Control	0.15	±	0.01		0.18	±	0.02	
	T1	0.17	±	0.04	0.40	0.18	±	0.03	0.82
	T2	<b>0.18</b>	±	<b>0.02</b>	<b>0.01*</b>	0.18	±	0.02	0.86
Bazo	Control	0.18	±	0.05		0.24	±	0.01	
	T1	0.13	±	0.03	0.05	0.21	±	0.06	0.18
	T2	0.13	±	0.02	0.17	0.22	±	0.04	0.26
Riñón Izq.	Control	0.23	±	0.01		0.14	±	0.01	
	T1	0.24	±	0.02	0.64	0.17	±	0.02	0.07
	T2	0.23	±	0.02	1.96	0.15	±	0.02	0.42
Riñón Der.	Control	0.22	±	0.02		0.14	±	0.01	
	T1	0.24	±	0.03	0.41	0.16	±	0.01	0.05
	T2	0.26	±	0.04	0.14	0.14	±	0.02	0.87
Estomago	Control	0.45	±	0.08		0.59	±	0.12	
	T1	<b>0.77</b>	±	<b>0.27</b>	<b>0.01*</b>	0.73	±	0.17	0.14
	T2	0.68	±	0.37	0.25	0.64	±	0.13	0.46
Intestino Delgado	Control	2.28	±	0.09		2.00	±	0.26	
	T1	2.10	±	0.24	0.18	2.16	±	0.33	0.43
	T2	<b>1.85</b>	±	<b>0.13</b>	<b>0.00*</b>	1.91	±	0.26	0.54
Intestino Grueso	Control	0.86	±	0.09		0.80	±	0.06	
	T1	0.86	±	0.05	0.87	0.84	±	0.15	0.53
	T2	0.87	±	0.13	0.86	0.80	±	0.09	0.98

Los valores se expresan con la Media ± desviación estándar (D.S) y Significancia Bilateral (*P* valor) cuando *P* < 0.05. Los pesos para cada parámetro están dados en gramos (gr)



**Cuadro A-4.** Efecto del extracto acuoso de *H. patens Jacq* en las tallas de los órganos de ratones NIH en ambos sexos.

Parámetro (mm)	Grupo	Machos				Hembras			
		Media	±	D.S	Sig. Bil.	Media	±	D.S	Sig. Bil.
Hígado	Control	2.65	±	0.26		2.26	±	0.05	
	T1	2.41	±	0.29	0.19	2.36	±	0.21	0.19
	T2	2.34	±	0.21	0.05	2.17	±	0.21	0.22
Corazón	Control	0.88	±	0.10		0.78	±	0.08	
	T1	0.79	±	0.06	0.09	0.84	±	0.10	0.26
	T2	0.78	±	0.07	0.07	0.79	±	0.06	0.79
Pulmones	Control	1.18	±	0.10		1.16	±	0.18	
	T1	1.19	±	0.14	0.87	1.30	±	0.20	0.21
	T2	1.08	±	0.07	0.07	1.24	±	0.32	0.61
Bazo	Control	2.10	±	0.26		2.36	±	0.18	
	T1	2.06	±	0.20	0.79	2.23	±	0.22	0.27
	T2	2.00	±	0.12	0.37	2.23	±	0.18	0.21
Riñón Izq.	Control	1.15	±	0.06		1.00	±	0.07	
	T1	1.13	±	0.10	0.67	0.98	±	0.09	0.68
	T2	1.08	±	0.12	0.26	0.96	±	0.10	0.43
Riñón Der.	Control	1.10	±	0.00		1.02	±	0.04	
	T1	1.08	±	0.13	0.60	0.98	±	0.08	0.32
	T2	1.14	±	0.12	0.40	<b>0.89</b>	±	<b>0.14</b>	<b>0.02*</b>
Estomago	Control	1.43	±	0.10		1.72	±	0.04	
	T1	<b>1.83</b>	±	<b>0.23</b>	<b>0.01*</b>	1.82	±	0.18	0.12
	T2	1.64	±	0.37	0.29	1.63	±	0.24	0.27
Intestino Delgado	Control	46.88	±	1.44		42.40	±	4.34	
	T1	45.75	±	4.23	0.62	47.05	±	7.14	0.21
	T2	47.31	±	3.75	0.83	40.75	±	4.65	0.52
Intestino Grueso	Control	8.43	±	0.15		9.10	±	1.02	
	T1	<b>9.71</b>	±	<b>1.07</b>	<b>0.01*</b>	9.76	±	1.27	0.33
	T2	<b>9.05</b>	±	<b>0.58</b>	<b>0.02*</b>	9.60	±	0.84	0.33

Los valores se expresan con la Media ± desviación estándar (D.S) y Significancia Bilateral (*P* valor) cuando  $P < 0.05$ . Las tallas para cada parámetro están dadas en milímetros (mm)