

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PUNO PERÚ

2014

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA

**EFFECTO TOXICOLÓGICO DEL JINCHO JINCHO (*Heracium neoherrerae*),
ALTAMISA (*Ambrosia arborescens*), DIENTE DE LEÓN (*Taraxacum officinale*),
HUIRA HUIRA (*Pseudognaphalium spicatum*) Y MISHICO (*Bidens andicola*) EN
RATAS (*Wistar*)**

TESIS
PRESENTADO POR LA:
Br. FIORELA MACHACCA CONDORI
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE

:

Mg. Sc. Álvaro C. Sarmiento Mena

PRIMER MIEMBRO

:

Mg. Sc. Juan J. Pauro Roque

SEGUNDO MIEMBRO

:

Blgo. Diana F. Pastor Arias

DIRECTOR DE TESIS

:

Blgo. Félix Rodríguez Díaz

ASESOR

:

Mg. Sc. Buenaventura O. Carpio Vásquez

ASESOR

:

Ph. D. Bernardo Roque Huanca

DEDICATORIA



AGRADECIMIENTO

*Gracias Dios mío por haberme acompañado durante mi vida, se que
estuviste conmigo en todo momento.*

*Gracias a todos aquellos que se tomaron el tiempo de acompañarme
en esta vida. Agradezco a mis padres Samuel y Juana a mis
hermanitos Susan, Ruth y Jhoel agradecerlos por brindarme su
confianza necesaria durante esta etapa de mi vida; agradezco a mis
maestros que me brindaron sus conocimientos a mi director y
asesores por haberme apoyado en el proceso de esta tesis.*

*Finalmente agradezco a mis amigos que me acompañaron en las
buenas y en las malas*

Génesis 1:12

*Y la tierra produjo la HIERBA... cuya semilla estaba en sí misma, de acuerdo con su
especie, y Dios vio que era buena.*

ÍNDICE

| | |
|---|----------------------|
| RESUMEN | 1 |
| CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 3 |
| 2.1. Antecedentes | 3 |
| 2.2. Marco Teórico | 7 |
| 2.3. Marco Conceptual | 24 |
| CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS | 26 |
| 3.1. Ámbito de estudio | 26 |
| 3.2. Tipo de investigación | 26 |
| 3.3. Materiales y equipos | 26 |
| 3.4. Metodología | 29 |
| 3.5. Método estadístico | 34 |
| CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 36 |
| 4.1. Identificación de los metabolitos secundarios de las plantas medicinales en hojas y tallos..... | 36 36 |
| 4.2. Determinación de las manifestaciones toxicológicas a través de las concentraciones de dosis fijas únicas de las plantas en estudio..... | 37 37 37 |
| 4.3. Determinación de la toxicidad ocasionada por la aplicación de las dosis fijas únicas mediante las pruebas hematológicas (hematocrito, hemoglobina y leucograma), de las ratas | 41 41 41 41 |
| CONCLUSIONES | 53 |
| RECOMENDACIONES | 54 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 55 |
| ANEXOS | 61 |

LISTA DE GRÁFICOS

| | |
|--|----|
| Gráfico 1. Tipos de extractos | 30 |
| Gráfico 2. Métodos para la extracción de extractos | 31 |
| Gráfico 3. Método de Screening Fitoquímico | 31 |
| Grafico 4. Empleo de las dosis a las ratas | 33 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1. Valores referenciales para ratas | 23 |
| Tabla 2. Criterios para la evaluación del grado de toxicidad | 33 |

LISTA DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Ensayos fitoquímicos | 37 |
| Cuadro 2. Trastornos fisiológicos al administrarles los extractos | 38 |
| Cuadro 3. Determinación del peso corporal (extracto acuoso) | 41 |
| Cuadro 4. Determinación del peso corporal (extracto metanólico) | 42 |
| Cuadro 5. Valores de hematocrito | 43 |
| Cuadro 6. Valores de hematocrito contrastando con DUNNETT | 44 |
| Cuadro 7. Valores de hemoglobina | 44 |
| Cuadro 8. Valores de hemoglobina contrastando con DUNNETT | 45 |
| Cuadro 9. Análisis factorial para leucocitos diferenciales | 46 |
| Cuadro 10. Valores de leucocitos diferenciales | 47 |
| Cuadro 11. Análisis de varianza para leucocitos diferenciales | 47 |
| Cuadro 12. Prueba de DUNNETT para linfocitos y segmentados | 48 |
| Cuadro 13. Recuento de neutrófilos | 49 |
| Cuadro 14. Recuento de monocitos | 50 |
| Cuadro 15. Recuento de eosinófilos | 51 |
| Cuadro 16. Recuento de basófilos | 52 |
| Cuadro 17. Resumen de las pruebas hematológicas análisis de varianza | 53 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Frecuencia de observación de los trastornos fisiológicos | 37 |
| Figura 2. Observación del peso corporal (extracto acuoso) | 41 |
| Figura 3. Observación del peso corporal (extracto metanólico) | 42 |
| Figura 4. Valores de hematocrito | 43 |
| Figura 5. Valores de hemoglobina | 45 |
| Figura 6. Valores de leucocitos | 46 |
| Figura 7. Valores de linfocitos | 48 |
| Figura 8. Valores de neutrófilos | 49 |
| Figura 9. Valores de monocitos | 50 |
| Figura 10. Valores de eosinófilos | 51 |
| Figura 11. Valores de basófilos | 53 |

RESUMEN

La investigación del efecto toxicológico de “mishico” (*Bidens andicola*), “diente de león” (*Taraxacum officinale*), “huira huira” (*Pseudognaphalium spicatum*), “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*) y “altamisa” (*Ambrosia arborescens*) de la familia Asterácea en ratas wistar, se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Biológicas y Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, durante 3 meses evaluando la toxicidad subcrónica con 5 mg del substrato en polvo de cada planta en las ratas. Los objetivos fueron: identificar los metabolitos secundarios de las plantas en estudio, determinar las manifestaciones tóxicas, aplicando una dosis fija en función del tiempo y determinar la toxicidad mediante pruebas hematológicas (hematocrito, hemoglobina y leucograma) en las ratas. Métodos se colectaron las plantas de la zona de Ilave y Puno, durante los meses de diciembre, enero y febrero del año 2013, para el material biológico se usaron 24 ratas (4 ratas por planta) y un grupo control de 4 ratas. Se realizó la identificación de los metabolitos secundarios de las plantas en el Laboratorio de Facultad Ciencias Biológicas usando las hojas y tallos, por el método de Screening Fitoquímico en pruebas cualitativas donde el color era la reacción resultante, en los extractos. Se realizó un estudio de toxicidad subcrónica en el Bioterio de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia por vía oral en ratas Wistar. Se conformaron un grupo control y 5 grupos tratados donde se aplicó 5mg/kg/d/3 meses por vía oral, se realizaron observaciones clínicas diarias y el peso corporal. Cada 30 días se realizaron exámenes hematológicos. Al concluir los 3 meses se sacrificaron todos los animales por dislocación cervical. Resultados: durante el estudio se sacrificó a una rata administrada con el extracto de “altamisa” debido al prolapso uterino que presentó, con las dosis fijas aplicadas (5 mg), el resto de los animales alcanzó el final del estudio con buen estado. Los signos clínicos descritos estuvieron distribuidos por todos los grupos resultando lo siguiente: las ratas tratadas con “altamisa” ocasionó prolapso uterino, orquitis deficiencia en los peso, con “mishico” ocasionó somnolencia, con “huira huira” irritación del ojo, “diente de león” irritación nasal, “jincho jincho” edema en la zona del cuello. El consumo de agua se incrementó en los animales tratados con más síntomas, el consumo de alimento no se vio afectado. En los parámetros hematológicos las lecturas del leucograma, como resultado hubo diferencia significativa, en la hemoglobina que fue menor en las ratas tratadas con “altamisa” (*Ambrosia arborescens*). Conclusión: la administración oral de los tres meses por los extractos de las plantas medicinales produjo toxicidad solo por la planta “altamisa” (*Ambrosia arborescens*) calificándose tóxica.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El uso de plantas medicinales se ha dado desde tiempos prehistóricos hasta los tiempos actuales; el hombre utilizó los elementos que la naturaleza le brindaba para curar sus enfermedades y las de sus animales, este conocimiento se transmitió de generación en generación y fue perfeccionándose con la experiencia. La investigación en plantas medicinales, así como la utilización de recursos del medio ambiente bajo condiciones de racionalidad, se ha convertido, actualmente en una premisa fundamental que debe ser considerada para orientar la incorporación sistemática de los conocimientos científicos y tecnológicos a las actividades económicas, sociales y culturales. Pues, si bien el uso popular es un indicador importante, no es de garantía de la actividad terapéutica, existiendo, además factores muy importante como son las variaciones ecológicas, por las cuales una misma especie puede presentar concentraciones diferentes de los mismo principios activos, sin embargo, estas sustancias pueden tener también efectos tóxicos, por la cual es necesario realizar investigaciones con el objeto de determinar su actividad farmacológica y su toxicidad. Por eso resulta atractivo estudiar las plantas tóxicas como fuente de intoxicación hacia los consumidores.

Las plantas medicinales se usan como una opción o alternativa en la medicina natural, por ello no se tiene mucha información científica en cuanto a sus desventajas el hecho de que sea naturales no significa que sea totalmente beneficioso o apto para el consumo con toda la información recopilada se pudo saber que hay factores como los metabolitos secundarios, el modo de preparación, las dosis empleadas y otros que contribuyen a que las plantas medicinales sean algunas de ellas no sean beneficiosas para el hombre y por consecuencia produzcan efectos toxicológicos a futuro.

La organización de la salud estima que en muchos países desarrollados el 70 – 80 % de la población ha usado de alguna forma la medicina tradicional; además, en algunos países asiáticos y africanos el 80 % de la población depende de la medicina tradicional para la atención primaria de la salud (OMS, 2008; Calderón, 2011).

El estudio de las sustancias de origen natural poseen una virtud medicinal se conoce como farmacognosia, y el efecto que ocasionan esas sustancias en el organismo se estudia en farmacología. La fitoquímica permite detectar y posteriormente identificar los principios activos responsables de las propiedades atribuidas a las plantas (Torres *et al.*, 2008).

Por lo tanto se propuso estos objetivos: 1. Identificar los metabolitos secundarios de: "jincho jincho" (*Heracium neoherrerae*), "altamisa" (*Ambrosia arborescens*), "diente de león" (*Taraxacum officinale*), "huira huira" (*Pseudogmaphalium spicatum*) y "mishico" (*Bidens andicola*); que generan toxicidad. 2. Determinar las manifestaciones toxicológicas, en concentraciones de dosis fijas de las plantas en estudio, que causen la muerte en las ratas en función del tiempo. 3. Determinar la toxicidad ocasionada por la aplicación de las dosis fijas mediante pruebas hematológicas (hematocrito, hemoglobina y leucograma), en ratas de laboratorio.



CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes

Lagarto *et al.* (1999), evaluaron la toxicidad de las plantas, en el centro de investigación y desarrollo de medicamentos, realizado en Cuba. La toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales, usaron las plantas de la flora Cubana se encuentra *Mentha spicata*, *Mentha arvensis*, *Mentha citrata*, *Plantago major*, *Mentha piperita* y *Ocinum gratissimum*. Para el estudio de la toxicidad oral aguda en ratones se evaluaron 3 dosis del extracto fluido y del vehículo hidroalcohólico, determinando que la dosis letal era DL₅₀. Se encontró dañino a *Mentha citrata* (220 – 2000 mg/kg) y el resto de los extractos como no tóxicos (valores mayor de 2000 mg/kg). En la autopsia realizada no se encontraron evidencias de alteraciones patológicas en los órganos analizados.

Lagarto & Guerra (2000), determinaron la toxicidad en el departamento de investigaciones biológicas y desarrollo de medicamentos hecho en Cuba, el estudio de la toxicidad aguda oral de 3 formas farmacéuticas a partir de *Cassia grandis L.*, popularmente conocida como Cañandonga. Se elaboraron 3 formas farmacéuticas las cuales se nombraron Ferrocassia droga seca, polvo para infusión en enstaferross. Con el objetivo de avalar su posterior uso en humanos. La evaluación se llevó a cabo en un ensayo de prueba límite a una dosis de 2000 mg/kg de peso corporal en ratas Wistar de ambos sexos por vía oral. El estudio agudo realizado demostró que las 3 formulaciones ensayadas pueden clasificar como no tóxicas ya que no se evidenció toxicidad alguna a las dosis administradas.

Bonilla & Pareja (2001), investigaron sobre “pinco pinco” planta obtenida de la provincia Calca, Cusco Perú. Habiéndose desarrollado en la Facultad de Biología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Titulado: Determinación de flavonoides de *Ephedra americana*, acción biológica sobre el sistema inmune. Con las muestra en polvo, se realizó la marcha fitoquímica, determinándose la presencia de alcaloides, compuestos fenolíticos tipo flavonoides, taninos, glucósidos, etc. Mediante ensayos de solubilidad se observó que los metabolitos secundarios eran de mediana y alta polaridad, confirmándose por cromatografía en capa fina. Estos flavonoides de conocida actividad antioxidante, denominado: Hesperidinas; Crisina; en extracto etanólico se determinó actividad inmuno estimulante, efecto antioxidante, acción tóxica sobre *Artemia salina*, acción antiulcerosa, acción sobre la

motilidad intestinal, actividad antiinflamatoria, su toxicidad (*in vivo*) y actividad antimicrobiana.

Chávez, (2005), investigó la Propagación y Micro propagación de *Agave marmorata* Roehl. (Agavaceae), la determinación de sus metabolitos secundarios y su uso planta medicinal. En la universidad Autónoma Metropolitana de México. Se advirtió que presenta en los extractos polares (acuoso y etanol-agua) saponinas, triterpenos y alcaloides como constituyentes, mientras que en el extracto menos polar contiene solo triterpenos. El extracto acuoso de *A. marmorata* presenta un efecto de la proliferación inespecífico ante células de médula ósea mientras que en células de bazo solo presenta una concentración alta (200 µg/ml). Extracto etanol-agua presenta un efecto inductor de la proliferación de células de médula ósea a la concentración de 2,5 µg/ml. Por último, el extracto diclorometano-etanol también evidencia un efecto solo a baja concentración (2,5 µg/ml) sobre células de médula ósea y a una concentración alta (100 µg/ml) sobre células de bazo.

Bermúdez *et al.* (2007), manifiestan que sus estudio lo hicieron en la Unidad de toxicología Experimental del Instituto Superior de Ciencias Médicas de Villa Clara en Cuba, en su estudio experimental que la administración de una dosis límite de 2000 mg/kg de masa corporal no provocó muertes de los animales o síntomas indicativos de toxicidad, solo en el grupo tratado *Justicia pectoralis* se manifestaron síntomas de somnolencia y sedación en los dos primeros días post administración, observándose una rápida recuperación de los animales. Solo advertencia de no exceder su uso por más de 30 días consecutivos. Los estudios anatómopatológicos macroscópicos no mostraron ninguna alteración en los órganos estudiados. La DL₅₀ de los extractos de estudio se encuentra por encima de 2000 mg/kg de masa corporal calificándose como no tóxica.

Arteta (2008), investigó plantas con propiedades tóxicas en el centro poblado de Llachón – Capachica en la provincia de Puno, habiéndose investigándose en la Universidad San Agustín, Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. Encontrándose plantas medicinales con alcaloides, glucósidos, taninos, esencias y resina. Tenemos plantas con propiedades tóxicas especies que llegan a causar daño al ganado, provocándoles afecciones fuertes y en muchos casos la muerte. Estas plantas no tienen efectos sobre el hombre, en esta categoría la especie que produce más daño es (*Astragalus gasrbancillo*) garbanzo.

Osorio (2009), realizó el tamizaje farmacológico y toxicológico, con una técnica observacional, cualitativo y semi cualitativo, en la cual se utilizan los resultados verificados como patrón de actividad, uso ratones o ratas, donde se observan los animales que reciben la droga y los animales que sirven como control. Las vías de administración más comunes son la oral y la intraperitoneal. Se observó el estado consciente y la disposición de la actividad y la incoordinación del sistema motor. Se corrobora o identifica la acción farmacológica principal de la planta bajo estudio se determinan las acciones principales y los efectos secundarios que pueden ser deseables o indeseables.

Pereida *et al.* (2009), elaboraron el tamizaje fitoquímico en la Universidad de Granma de Cuba, con el objetivo de determinar la presencia de determinados metabolitos secundarios, en dependencia de sus características estructurales y solubilidad de cada uno de ellos, que permitan su identificación en uno u otro solvente (agua, alcohol y éter). Se muestra los resultados a los extractos etéreos, alcohólicos y acuosos en *Trichilia hirta L.*; destacándose alcaloides, cumarinas, saponinas, flavonoides, azúcares reductores, triterpenos, esteroides, antacianidinas y quinonas. Se confirmó la presencia de alcaloides que es el principio activo al cual se le atribuye la propiedad como repelente para diferentes ácaros probados en estudios realizados para evaluar dicha actividad.

Pérez *et al.* (2009), con el fin de validar los hallazgos obtenidos previamente en estudios etnofarmacológicos, evaluaron los efectos en el hemograma de ratas hembras Wistar de los extractos acuoso y metanólico de las hojas de *Phenax rugosus* (Poir.). Estudio realizado en la Universidad de Calda. Los extractos se administraron diariamente en ayunas mediante sondas orogástricas durante 10 días consecutivos a una dosis de 1 g/kg de peso, como vehículo una mezcla de glicerina propilenglicol, solución salina normal. El número de eosinófilos disminuyó a niveles con significancia estadística ($p = 0,03$) cuando se compara el grupo que recibió el extracto acuoso con el grupo control. La administración de los extractos, no indujo cambios en los diferentes parámetros del hemograma que tuviera significancia estadística.

Rojas & Díaz (2009), hicieron la evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. Trabajo realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima. Durante el periodo de exposición de 28 días, no se observó síntomas tóxicos a la dosis administrada, tanto a nivel físico general como del comportamiento; tampoco se presentó mortalidad de los animales ni disminución del peso

corporal. No se observó alteraciones en la fórmula leucocitaria, observándose en todo momento células maduras acorde con su desarrollo, correspondiente con un comportamiento normal. Los valores obtenidos en los indicadores hematológicos no mostraron alteraciones importantes; las variaciones encontradas se encuentran dentro del rango establecido por el grupo control y por la literatura especializada.

Rodón *et al.* (2010), experimentaron el estudio fitoquímico en la Universidad de Granma de Cuba, en extractos alcohólicos, etéreos y acuosos de hojas y flores de la *Turnera ulmifolia* L., conocida como Marilope con la intención de contribuir a un mayor conocimiento, con base científica con la posible elaboración de productos farmacéuticos. Para realizar el tamizaje fitoquímico se emplearon técnicas simples, rápidas y selectivas, que requieren un mínimo de equipamiento y de reactivos para la determinación de cada compuesto. Se comprobó los metabolitos secundarios presentes en *Turnera ulmifolia* L., entre ellos alcaloides, coumarinas, saponinas, azúcares reductores, triterpenos y esteroides, lo que fundamenta su empleo en la cura de diversas afecciones.



2.2. Marco Teórico:

2.2.1. Plantas medicinales:

Una planta medicinal se define como cualquier especie vegetal que contiene sustancias que pueden ser empleadas para propósitos terapéuticos o cuyos principios activos puedan servir de precursores para la hemisíntesis de nuevos fármacos (OMS, 2008). Plantas medicinales, son aquellos vegetales que elaboran unos metabolitos secundarios, llamados “principios activos”, sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad primordial, a veces específicos, es servir como droga o medicamento que alivie las enfermedades o restablezca la salud perdida.

2.2.2. Familia Asterácea según del Vitto & Petenatti, (2009)

Las Asteráceas incluyen gran cantidad de especies útiles (medicinales, agrícolas, industriales, etc.). Algunas han sido domesticadas y cultivadas desde la antigüedad y otras conforman extensiones de vegetación natural, determinando la fisonomía de número de paisajes. Su uso etnobotánica ha ayudado a sustentar numeroso pueblos. Hoy, unos 40 géneros de Asteráceas son relevantes en alimentación humana y animal, fuentes de aceites fijos, aceite esencial, forraje, miel y polen, edulcorantes, especias, colorantes, insecticidas, caucho, madera, leña o celulosa. Otras son importantes malezas y/o plantas tóxicas para el hombre y el ganado, algunas causan alergia y otras resultan ornamentales. En terapéutica son usados gran número de metabolitos secundarios sintetizados por Asteráceas. Se ofrece una síntesis de las asteráceas útiles y dañinas, taxonómicamente actualizadas, considerando usos etnobotánicos y propiedades fitoquímicas y farmacológicas.

La composición química y su importancia en el aprovechamiento: El conocimiento bioquímico del grupo ha aportado datos relevantes a la taxonomía y ha explicado o facilitado el empleo de las mismas en las actividades económicas. En general, el grupo está caracterizado por la presencia de ácidos iso – clorogénicos, isoflavonoides, lactonas sesquiterpenicos, alcoholes triterpenicos pentacíclicos, aceites esenciales (con predominio de terpenoides), alcoholes (especialmente pirrozidínicos) y diversos derivados acetilénicos, mientras que carece de taninos verdaderos y de iridoides. La acumulación de ciertos metabolitos primarios y secundarios determina la utilidad o aplicación de las plantas. La síntesis de glucósidos en último término conduce a la formación de fructanos del tipo inulina acumulados en órganos subterráneos y semillas; son la principal reserva hidrocarbonada, de

gran digestibilidad y reemplazan el almidón. La síntesis de ciclitoles también caracteriza a las Asteráceas, especialmente L-inositol y su isómero esciloinositol.

Los metabolitos secundarios aislados de Asteráceas son muy variados. Algunos flavonoides y aceites volátiles (con diterpenos y triterpenos) son comunes a casi todas las especies y 2 grupos de sustancias son “marcadores quimiotaxonómicas”. En general estas plantas carecen de alcaloides, salvo los de núcleo pirroizidínico. Finalmente, es llamativa la ausencia de iridoideas, aminoácidos no proteicos y taninos verdaderos.

2.2.3. Información de las plantas medicinales en estudio según Mostacero *et al.* (2011):

Posición taxonómica del “jincho jincho”:

| | |
|--------------|--|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Sub Clase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteráceas |
| Sub Familia: | Cichorioideae |
| Género: | <i>Hieracium</i> |
| Especie: | <i>neoherreræ</i> |
| | Nombre Binomial: <i>Hieracium neoherreræ</i> Zahn. |
| | Nombre común: “jincho jincho”, “taruca ninri” |

Descripción del “jincho jincho”: Hierbas perennes con savia lechosa; tallos erectos, con tricomas glandulares largos. Hojas basales o caulinares, elípticos – lanceoladas, oblanceoladas u oblongas, enteras o dentadas. Capitulescencia cimosa o tirosoides; capitulo ligulados; filarias en 3 – numerosas series, gradualmente imbricadas, las exteriores cortas, las internas subiguales; receptáculo planos; flósculo perfectos, corolas 5 – dentadas, amarillas, a veces blancas, anaranjadas o rojas; aquenios columnares adelgazados en la base, en general atenuados hacia el ápice, casi siempre 10 – acostillados, café – rojizo a negros; vilano de numerosas cerdas pajizas en una serie.

Principios activos: contiene umbeliferona, flavonoides, inulina de las raíces (Guerrero *et al.*, 2006).

Posición taxonómica del “altamisa”:

| | |
|-----------|---------------|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |

| | |
|---|--------------------|
| Clase: | Magnoliopsida |
| Sub Clase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteráceas |
| Sub Familia; | Cichorioideae |
| Género: | <i>Ambrosia</i> |
| Especie: | <i>arborescens</i> |
| Nombre Binomial: <i>Ambrosia arborescens</i> Miller. | |
| Nombre común: “altamisa”, “marco”, “hierba de san juan” | |

Descripción de la “altamisa”: usos: abortivos, no recomendable la ingestión en gestantes, puede producir casos de abortos, es recomendado en el momento del parto ya que facilita el proceso expulsivo del feto. Biocida: el cocimiento de toda la planta, se debe realizar fumigaciones cuando la planta recién está brotando. Medicinal: en casos de cefáleas, es usado como antidiarreico. Los baños de vapor son realizados en caso de resfríos y dolores reumáticos, de preferencia por las noches (Arteta, 2008).

En la dosificación debe de usarse en dosis muy bajas puesto que puede causar síntomas de envenenamiento. Contiene alcaloides, encontrado principalmente en las flores femeninas (Cruz, 2009).

Principios activos: contiene sus principales componentes son las tuyonas alfa y beta y un aceite vegetal. Es rica en cineol y pinenos, flavonoides, quercetinas, luteolina, lactonas, sesquiterpenos, artemisinina, ácido artemisinico, alcaloides, felandreno, codinenos, etc. En la esencia se encuentra el principio amargo la absintina de color pardusco amarillo, insoluble en agua y soluble en alcohol. Sus hojas tienen sabor amargo y toda la planta es ligeramente aromática (Quert, 1985).

Posición taxonómica del “diente de león”:

| | |
|---|-------------------|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Sub Clase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteráceas |
| Sub Familia; | Cichorioideae |
| Género: | <i>Taraxacum</i> |
| Especie: | <i>officinale</i> |
| Nombre Binomial: <i>Taraxacum officinale</i> Wiggers | |
| Nombre común: “diente de león”, “amargón” y “kanacho” | |

Descripción del diente de león: el extracto de las hojas es usado condicionalmente para aliviar enfermedades hepáticas y renales, además de los malestares producidos por la segregación excesiva de la vesícula biliar (colerina), para lo cual debe de beberse en ayunas, esta misma preparación es usada en el tratamiento contra la tuberculosis. La infusión de las hojas, es usado en infecciones o fiebre puerperales (sobrepardo), para regular la menstruación (emenagogo) (Arteta, 2008).

Principios activos: las hojas contienen alcohol cíclico llamado Inosita, así como asparagina, azúcar reducido (levulosa), un principio amargo saponina, tirosinasa, la composición química de la raíz es compleja, como producto de reserva acumula inulina 40 %. Contiene también el alcaloide taraxina. Otros investigadores han encontrado en la raíz ácido p – oxifenilacetico, así como el 3,4 – oxicinámico (glucósido), una resina la asparagina, diversos hidratos de carbono que dan la galactosa y arabinosa. El látex, muy blanco y de sabor amargo contiene caucho, lactuceral alfa y beta, inosita, azúcares reductores (Quert, 1985).

Posición taxonómica del “huira huira”:

| | |
|--|-------------------------|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Sub Clase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteráceas |
| Sub Familia: | Cichorioideae |
| Género: | <i>Pseudogmaphalium</i> |
| Especie: | <i>spicatum</i> |
| Nombre Binomial: <i>Pseudogmaphalium spicatum</i> | |
| Nombre común: “huira huira”, “cketo cketo”, “mula kketto kketto” | |

Descripción del “huira huira”: En la actualidad la población aimara que habita en la precordillera y altiplano utiliza las flores de *pseudogmaphalium*. Tiene resultados en el tratamiento de problemas bronquiales. Popularmente, a las flores de esta planta se le atribuyen propiedades expectorales, sudoríficas y febrífugas; se emplean en infusión como tratamiento de diversas afecciones respiratorias: asma, tos, bronquitis. También como mate para la tos; se menciona que el extracto acuoso de *Pseudogmaphalium* sp. Se administra en el tratamiento de enfermedades urinarias.

Principios activos: contiene epigenina, quercetina, de sus flores se obtiene flavonoides (Guerrero *et al.*, 2006).

Posición taxonómica del “mishico”:

| | |
|------------------|--|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Plantae |
| División: | Magnoliophyta |
| Clase: | Magnoliopsida |
| Sub Clase: | Asteridae |
| Orden: | Asterales |
| Familia: | Asteráceae |
| Sub Familia: | Cichorioideae |
| Género: | <i>Bidens</i> |
| Especie: | <i>andicola</i> |
| Nombre Binomial: | <i>Bidens andicola</i> Humbolt, Bompland y Kunth |
| Nombre común: | “mishico”, “pirca” y “amor seco” |

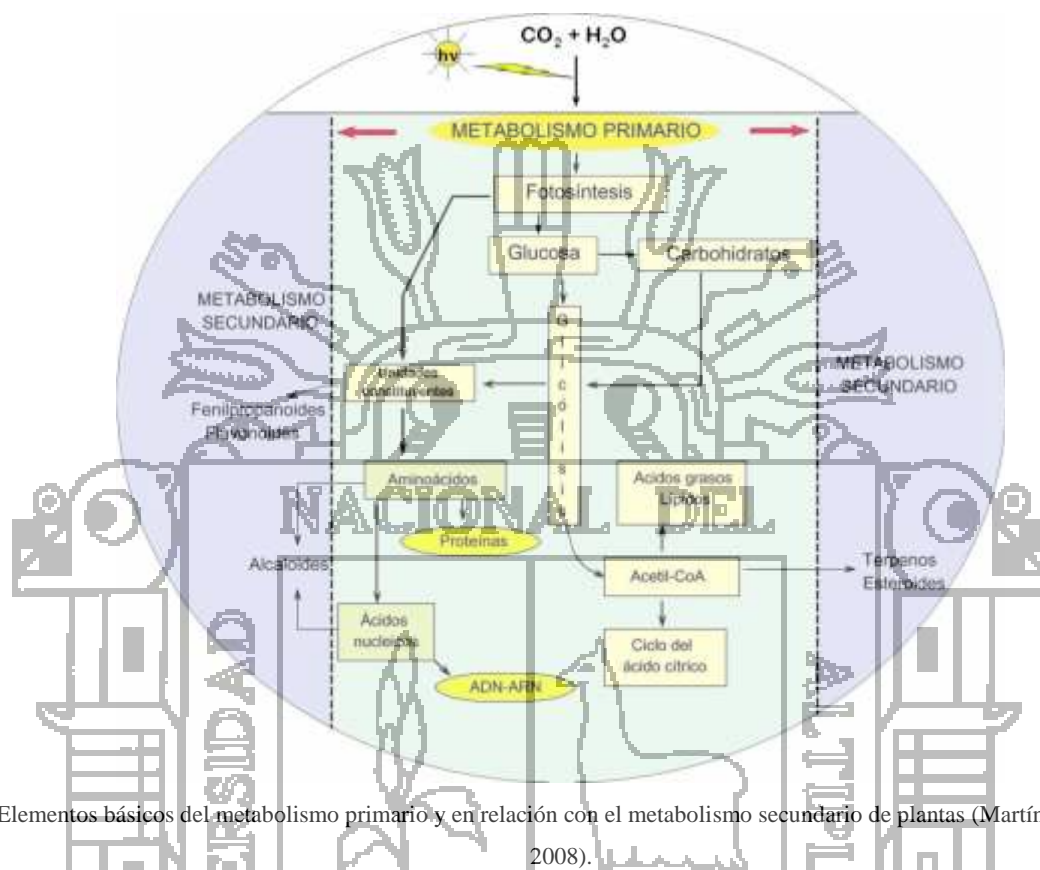
Descripción del “mishico”: usos abortivo, no es recomendable la ingestión en gestantes, por lo que puede producir en muchos casos abortos, sin embargo es recomendado en el momento del parto ya que facilita el proceso expulsivo del feto. Colorante, las flores son hervidas, produciendo un líquido amarillo al cual son introducidos lana de ovino antes de hilarla y bayeta, dando una coloración amarilla, cuya intensidad varía dependiendo al tiempo que se encuentra sumergido. Medicinal, el cocimiento de esta especie, es usado como carminativo, antidiarreico y para aliviar malestares producidos por la excesiva segregación de bilis por la vesícula biliar (colerina) y para regular la menstruación (emenagogo), se debe tomar tres veces al día hasta que el malestar cese. Los baños con el cocimiento de esta especie, son usadas como febrífugo de preferencia por las noches. En caso de conjuntivitis, se realizan lavados con la infusión de las hojas, de preferencia en la mañana y noches (Arteta, 2008).

Principios activos: contiene flavonoides, compuestos poliacetilínico y chalconas, ácido tánico, ácido nicotínico, fitosterina, ácido p – cumárico y glucósido de aurona, ácido silícico, ácido ascórbico, taninos, limonenos, timol felandreno, sales de potasio, calcio y fósforo. Las semilla contienen glucósidos amorfos, aceite, sacarosa y nitratos (Guerrero *et al.*, 2006).

2.3. Fitoquímica de las plantas medicinales:**Reconocimiento de Metabolitos:**

El metabolismo es el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Las plantas, organismos autótrofos, además del

metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios (Avalos, 2009).



Elementos básicos del metabolismo primario y en relación con el metabolismo secundario de plantas (Martínez *et al.*, 2008).

El reconocimiento de metabolitos secundarios se realiza por medio de pruebas fitoquímicas preliminares, las cuales son una prueba química de caracterización consistente en una reacción química que produce alteración rápida en la estructura molecular de un compuesto, por ejemplo, la modificación de un grupo funcional, la apertura de un sistema anular, la formación de un aducto o un complejo, lo cual da por resultado una manifestación sensible como el cambio de un color, la formación de un precipitado o el desprendimiento de un gas, dándonos indicios de la presencia o ausencia de un metabolito secundario en particular (Martínez *et al.*, 2008).

Muchos son los metabolitos secundarios de los cuales por lo menos 12,000 han sido aislados, un número estimado menor en un 10 % del total. En numerosos casos estas sustancias sirven como mecanismos de defensa de las plantas contra la predación por microorganismos, insectos y herbívoros. Muchos componentes son así mismo responsables

del sabor de las plantas (el terpenoide capsaicinaen del ají), y algunas de las hierbas y especies usados por los humanos para sazonar los alimentos producen compuestos medicinales útiles (Tapia, 2011).

Las sustancias tóxicas que puedan tener las plantas medicinales son los metabolitos secundarios, están presentes en ciertas cantidades mayores y menores estas son:

Reconocimiento de Alcaloides:

Los alcaloides son sustancias básicas que contienen nitrógeno en un anillo heterocíclico, son derivados de aminoácidos, presentan distribución taxonómica limitada y se encuentran en plantas superiores como sales de un ácido orgánico. Atendiendo a su solubilidad, propiedad empleada para extraerlos y purificarlos, la base del alcaloide es soluble en solventes orgánicos y pueden formar sales solubles en solventes polares cuando se encuentra en ácidos minerales diluidos.

Se ha descrito que tiene actividad microbicida (por ejemplo, sobre *Giardia* y *Entamoeba*), pero se cree que su acción antidiarreica probablemente se deba a sus efectos sobre el tiempo de tránsito del bolo alimenticio en el intestino delgado (Mora *et al.*, 2012).

Reconocimiento de Taninos:

Los taninos son productos de excreción de muchas plantas, involucradas en mecanismo de defensas de las mismas, contra organismos parásitos. Se encuentran más comúnmente en hojas, ramas y debajo de la corteza. Químicamente los taninos son polímeros de polifenoles, sustancias con alto peso molecular (comprendiendo entre 500 a 3000), se clasifican en:

- Taninos Hidrosolubles o Pirogalicos: Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general una glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácido fenólicos (ácido gálico o su dímero, el ácido elágico). Son comunes de observar en plantas Dicotiledóneas.
- Taninos no Hidrosolubles o Condensado: Tienen una estructura química similar a la de los flavonoides. Por hidrolisis dan azúcar y ácido elágico, algunos taninos condensados son conocidos como pro – anticianidinas porque por hidrolisis ácida producen antocinidas y leucoanticinidinas (Mora *et al.* 2012).

Reconocimiento de Fenoles:

Los compuestos fenólicos de las plantas son un grupo heterogéneo de productos con más de 10,000 compuestos. Algunos son solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o

ácidos carboxílicos y por lo tanto solubles en agua, y otros son polímeros muy grandes e insolubles. Este grupo también juega una variedad muy heterogénea de roles en las plantas, roles que son atribuidos en general a los productos secundarios de las plantas; muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos, otros proveen soporte mecánico a la planta, otros atraen polinizadores o dispersores de frutos, algunos de ellos absorben la radiación ultravioleta, o actúan como agentes alelopáticos (por ejemplo reducen el crecimiento de plantas competidoras que estén cerca) (Calatayud, 2010).

Reconocimiento de Fenolftaleínas:

Son colorantes, es decir como sintéticos, aunque no se emplea como tinte, la fenolftaleína es el representante más importante de este grupo. Se usa como indicador de reacciones de ácido – base; usando terapéuticamente se utiliza como laxante catártico y tiene un efecto estimulante del peristaltismo intestinal (Grateron, 2006).

Reconocimiento de Carbohidratos:

Son las reservas energéticas de los vegetales formadas a partir de las reacciones fotosintéticas que se acumulan en forma de almidón que luego, al ser ingeridas por los animales y combinándolos con oxígeno obtienen la energía necesaria para sus procesos vitales y emitiendo dióxido de carbono a la atmósfera las reservas energéticas de los vegetales formadas a partir de las reacciones fotosintéticas que se acumulan en forma de almidón que luego, al ser ingeridas por los animales y combinándolos con oxígeno obtienen la energía necesaria para sus procesos vitales y emitiendo dióxido de carbono a la atmósfera. Se mencionan algunos de ellos como los azúcares reductores, que son compuestos por un solo monómero como la glucosa y la fructosa denominados monosacáridos, por dos como la lactosa y la sacarosa llamados disacáridos o grandes cadenas polimerizadas en los que están comprendidos el almidón, la celulosa y otros compuestos conocidos como polisacáridos. (Martínez *et al.*, 2012).

2.4. Toxicidad de las plantas medicinales según Osorio (2009):

La posibilidad de una intoxicación con plantas medicinales es prácticamente inexistente si se respetan las indicaciones del fabricante o si se evitan aquellas hierbas tóxicas en pequeñas cantidades. Los síntomas de una intoxicación consisten en irritación de la garganta, náuseas y vómito, convulsiones, dolor de cabeza, visión borrosa, dificultad en los movimientos.

Estudios de la toxicidad, según Osorio (2009), los estudios toxicológicos ofrecen a los investigadores información sobre la dosis a partir de las cuales los efectos tóxicos comienzan a aparecer. Es imprescindible establecer los efectos de las drogas y sus principios activos y para ello realizan estudio de toxicidad aguda, sub aguda y crónica.

- **Toxicidad aguda:** Son ensayos que se realizan a corto plazo de forma prácticamente inmediata, generalmente por la administración de unas dosis animales de experimentación. Se puede determinar el parámetro de dosis letal 50 (DL₅₀) cantidad necesaria para producir la muerte de la mitad de los animales en experimentación, sirve como orientación para los cálculos de las dosis efectivas 50 (DE₅₀).
- **Toxicidad sub aguda o sub crónica:** Son ensayos que se realizan a medio plazo generalmente a 30 días (un mes) a 90 días, se administran dosis terapéuticas y transcurrido el periodo de tiempo se evalúa los posibles casos de intoxicación.
- **Toxicidad crónica:** Son ensayos que se realizan a largo plazo desde varios meses hasta de 1 a 2 años, para evaluar posibles efectos teratógenos, efectos carcinógenos.

2.4.1. Factores que contribuyen a la aparición de efectos según Umaña (2003):

1. **Sobre dosificación:** Droga vegetal o principios activos no son tóxicos en dosis adecuadas.
2. **Presencia de sustancias tóxicas:** En baja concentración o por inhibición de otras sustancias no causan efectos tóxicos. Concentración y purificación de ciertas presentaciones puede llevar a la aparición de efectos que estaban ocultos. Confusión de la especie vegetal.
3. **Contaminación de preparado fitoterápico:** Medicamento sintético, metales pesados, microorganismos, pesticidas, etc.
4. Interacciones con medicamentos.
5. **Componentes galénicos:** Solvente no adecuado para el consumo humano.
6. **Edad, estado fisiológico y etnia del paciente:** Toxicidad se presenta la edad y salud de las personas. Ejemplo: neurotoxicidad y hepatotoxicidad en niños por consumo elevado de aceite esenciales de clavo (*Eugenia caryophyta*) o de menta poleo (*Mentha pulegium*).
7. **Uso no tradicional de plantas tradicionales:** Pueden causar efectos adversos previamente desapercibidos. En Taiwan la ingesta de *Sauropus androgymus* planta que

se cocina y come como verdura, se asocia con el brote de bronquiolitis, al tomar el jugo de la hoja cruda como método para adelgazar.

2.4.2. Efectos tóxicos causados por las plantas según Umaña (2003):

- 1. Acción emenagoga y estimulación uterina:** Muchas plantas pueden inducir el aborto son citotóxicas y teratógenos (daños al sistema nervioso del feto). Mecanismo de acción endocrino, nervioso periférico, cardiovascular o gastrointestinal. Se conoce la acción de algunos principios activos. La pulegona del aceite esencial poleo – menta (*Mentha pulegium*) estimula las concentraciones uterinas. Estimulantes uterinos de acción indirecta (por estimulación de receptores histamínicos) son el fruto y la flor de catarino (*Carthamus tinctorius*) y la hoja de agripalma (*Leonurus cardiaca*).
- 2. Estimulación del sistema nervioso:** Principios que potencian actividad de algunos centro neuronales, aumentando la capacidad de concentración y el estado de vigilia. Los alcaloides de la sumidad de efedra (*Ephedra sinica*) y la cafeína. La toxicidad de la cafeína es muy baja, sin embargo el consumo regular de bebidas con esta (café, té, hierbas y mates) puede elevar la concentración sérica de hemocisteínas (factor etiogénico de enfermedades cardiovascular).
- 3. Fotosensibilización:** Sustancias que reaccionan ante la exposición de la luz ultravioleta y causan hiperpigmentación, aumento de la sudoración, irritación cutánea. Puede ocurrir fototoxicidad por exposición de furanocumarinas o psoralenos a quemaduras de segundo grado. Fototoxicidad causada por la raíz de angélica o don quai (*Angelica arcangelica*), la semilla del apio (*Apium graveolans*), el pericarpio de la naranja amarga (*Citrus aurantium*), la sumidad florida del hipérico (*Hypericum perforatum*) y las hojas y sumidades de la ruda (*Ruta graveolans*).
- 4. Hepatotoxicidad:** Se han presentado casos últimamente por el uso de plantas medicinales chinas responsables de la hepatitis aguda y del rizoma kava kava (*Piper methysticum*). Tenemos la hepatitis fulminante, casos como la kava kava chaparral (*Larrea tridentada*) y encinilla o cascarilla (*Teurcrium chamaedrys*), y la insuficiencia hepática grave, por uso de kava kava sen, celidonia, menta poleo y el aceite esencial de clavo. En muchos casos, el paciente se recupera al discontinuar el uso.

- 5. Shock anafiláctico:** Reacciones alérgicas a nivel tópico o interno. La mayoría de reacciones alérgicas son efectos secundarios. El shock anafiláctico se considera un efecto tóxico.
- 6. Insuficiencia renal:** Por efecto directo tóxico (ejemplo randidiolisis). Nefrotoxicidad directa puede ser irreversible causando carcinoma urotelial o fibrosis renal intersticial. Uso de plantas del ácido aristolóquico es el causante. La especie *Aristolochia atia* es grave y severa con enfermedad renal terminal.
- 7. Rbdomiólisis:** Síndrome causado por daño directo causado por músculo esquelético, causando la liberación del contenido de las células musculares al plasma sanguíneo. Se presenta sensibilidad muscular al plasma sanguíneo, calambres, rigidez, debilidad, pérdida de la función, edema muscular duro y orina oscuro. El uso prolongado de medicamentos y toronja o grape fruit (*Citrus* por ácido glicirrico y gliciretínico de las raíces de *Paradisi*) medicamento y los polifenoles del zumo de toronja causan de la 11 meta – hidroxiesteroide – deshidrogenasa tipo 2, ocasionando un exceso de mineralocorticoides.

3. Animal de laboratorio con fines experimentales según Carrillo (2011):

3.1. Clasificación taxonómica del animal de laboratorio:

| | |
|------------------|-----------------------------|
| Dominio: | Eucariota |
| Reino: | Animalie |
| Filo: | Chordata |
| Clase: | Mamalia |
| Orden: | Rodentia |
| Familia: | Muricidae |
| Género: | <i>Rattus</i> |
| Especie: | <i>novergicus</i> |
| Nombre Binomial: | <i>Rattus novergicus</i> |
| Nombre común: | Rata de laboratorio Wistar. |

3.2. Rata de laboratorio:

Las ratas de laboratorio pertenecen a las especie *Rattus novergicus* a la variedad Wistar. Esta variedad fue desarrollada en el mismo instituto Wistar en 1906 para su uso en la investigación biológica y médica, y es la primera cepa de ratas desarrolladas para servir como un organismo modelo en un momento en que los laboratorios utilizaban principalmente *Mus musculus*, o el ratón común de las casas. Las ratas Wistar es

actualmente una de las cepas más populares utilizadas para la investigación de laboratorio, con una buena tasa de crecimiento, con una vida media larga que hace especialmente útil en estudio de supervivencia dócil y fácil de manipular. Se caracteriza por su cabeza ancha, oreja largas y con una longitud de la cola que es siempre inferior a la longitud del cuerpo.

3.3. Manipulación de las ratas:

Existen diferentes formas de sujetar a la rata:

1. Tomar al animal por la cola, teniendo cuidado. Apoyar la palma de la mano sobre el lomo del animal, colocar los dedos índices y medio a ambos lados de la mandíbula de forma que la cabeza de la rata quede entre dichos dedos impidiendo su movimiento, con la otra mano tome parte posterior del cuerpo. Así puede levantarla sujetándola firmemente.
2. Tomar la rata apoyando la mano alrededor del tórax, quedando una de las patas entre sus dedos índice y medio y la otra sobre su dedo pulgar (con el dedo índice realice una presión leve sobre la mandíbula de la rata, para prevenir mordeduras). Con la otra mano, tome la parte posterior del cuerpo y levántela, sujetándola firmemente.
3. Tomar el animal por la piel del cuello con el dedo pulgar e índice pro detrás de las orejas y con los otros dedos de la mano sujetar la piel de todo el lomo de la rata. Levántela, sujetando firmemente.

3.4. Vías de administración para el experimento:

Vía oral

Por esta vía se administra soluciones de una sonda de pequeño calibre (una sonda adecuada debe tener un diámetro de 15 a 16 g y de 10 a 12 cm de largo) que permite la introducción del fármaco a la cámara gástrica por el hocico del animal; se debe sumergir la sonda en agua para verificar que la zona está en el estómago y no en los pulmones. El animal se sujeta firmemente por la piel del cuello y espalda asegurándose que la cabeza y el cuello queden extendidos formando una línea con la espalda. Se introduce la sonda por el espacio interdental y rotándola lentamente se llega al esófago y el estómago si es necesario. Esta técnica se aplica en ratas, ratones y conejos.

Vía intravenosa

Para esta vía de administración se utiliza las venas laterales de las cola previamente dilatada con calor, en los animales jóvenes son más fáciles de visualizar que en los adultos. Se

utiliza agujas de calibre < 23 g el volumen máximo, es de 0,5 ml y debe realizarse lentamente.

Vía intraperitoneal

Tomando en cuenta la rápida absorción por esta vía y el fácil acceso a esta a la misma, es una de las vías más utilizadas en el laboratorio. Se toma al animal por el dorso, se vuelve hacia atrás presentándola la región abdominal, se sujeta firmemente de las patas posteriores y se inyecta en la parte alta del cuadrante inferior izquierdo del área abdominal. La guja es de 27 x 6 mm de volumen de administración está entre 5 a 10 ml.

Vía intramuscular

Esta vía se presenta en el dorso del animal y el fármaco se deposita con aguja de 27 x 13 mm en la parte posterior de los cuartos traseros. El lugar de elección son los cuádriceps y tríceps. La inoculación debe realizarse en pequeños volúmenes de 0,3 ml.

3.5. Vías de extracción de sangre en animales de experimento:

Seno orbital:

Esta técnica muy usada, pero no recomendada y requiere una particular justificación dado lo agresivo de la misma. Implica picar el seno orbital del globo del ojo. En manos expertas puede ser útil para obtener volúmenes mayores de los que se puede obtener de la vena de la cola. Es una técnica que puede tener severas consecuencias en el animal por lo que no se recomienda el uso del sangrado del seno orbital con recuperación del animal más que en circunstancias excepcionales cuando no haya ningún otro método disponible.

Venas y arterias caudales:

La vena de la cola es la más usada, la vena debe localizarse claramente y la punción debe ser llevada a cabo decididamente mejor el corte de la misma es algo inaceptable como método de muestreo, los cortes repetidos puede llegar a causar granulomas, lo que da lugar a la formación de una masa de tejidos en la extremidad de la cola, como también puede eliminar la capacidad natural del animal para controlar su equilibrio y temperatura.

Se usa la cola ya que no posee pelo sujeción y punción debido a que los vasos sanguíneos recorren toda la longitud de la cola.

Vía intracardiaca:

Mediante esta técnica se puede obtener grandes volúmenes de sangre debe estar anestesiado y se recomienda utilizar esta técnica únicamente como procedimiento terminal.

Se coloca la rata bien apoyada sobre el dorso, se ubica la apófisis xifoides y se inserta la aguja perpendicular a la columna vertebral. Con una leve presión digital se localiza el ventrículo, al punzar el corazón se siente el choque cardiaco. El volumen extraído de sangre dependerá del peso de la rata. Las agujas son de 20 a 25 g.

4. Pruebas hematológicas según Encarta & Del Carpio, 2008:

Hematocrito:

La determinación del hematocrito es uno de los métodos más sencillos, más exactos y valiosos en la hemoglobina. Es mucho más útil y de confianza que el recuento de eritrocitos. Así mismo, por medio de él, la medición de la hemoglobina y el recuento de eritrocitos adecuados, pueden calcularse las constantes corpusculares. Denominación de hematocrito: volumen de glóbulos centrifugados VGC.

Hemoglobina:

Pigmento especial que predomina en la sangre cuya función es el transporte de oxígeno. Está presente en todos los animales, excepto en algunos grupos de animales inferiores. Participa en el proceso por el que la sangre lleva los nutrientes necesarios hasta las células, hasta los tejidos del cuerpo. Cuando está saturada de oxígeno se llama oxihemoglobina. Después de liberar esta molécula en los tejidos orgánicos, invierte su función y recoger el principal producto de la respiración celular o dióxido de carbono. La hemoglobina transporta esta molécula hasta los pulmones para su respiración, y en esta se denomina carboxihemoglobina.

4.1. Leucograma:

Leucocitos: (glóbulos blancos), valores superiores pueden indicar leucocitosis ($> 10,000/\text{mm}^3$). Valores inferiores pueden indicar leucopenia (< 5000) elementos sanguíneos implicados en la fagocitosis de elementos patógenos y en las respuestas inmunológicas e inflamatorias. Las células o glóbulos blancos de la sangre son de dos tipos los granulados, con núcleos multilobulados y los no granulados, que tienen un núcleo redondeado.

Los leucocitos se clasifican en dos grupos principales, tomando como base la presencia o ausencia de gránulos citoplasmáticos específicos. Los que contienen gránulos citoplasmáticos son los granulocitos y lo que carecen de ellos son los agranulocitos.

4.2. Granulocitos:

Los tres tipos de granulocitos se designan de acuerdo con la reacción tintorial de sus gránulos específicos:

- los eosinófilos tienen gránulos acidófilos claros (se tiñen de rojo con la eosina).
- Los basófilos poseen gránulos basófilos (púrpuras) marcados.
- Los neutrófilos tienen gránulos que no son ni acidófilos ni basófilos.

Frecuentemente, los neutrófilos, reciben el nombre de leucocitos polimorfonucleares (PMN), como consecuencia de la variada configuración de los núcleos.

Neutrófilos:

El neutrófilo maduro es de aproximadamente 10 – 12 μm de diámetro, tiene granulaciones finas en el citoplasma y un núcleo lobulado. La cromatina nuclear es densa, aglomerada y en grumo. Las células viejas tienen más lóbulos nucleares que las jóvenes. Por ello, los neutrófilos con núcleo en forma de V, U o de S sin constricciones se consideran como inmaduras y se designan como células en bandas o asegmentadas. Enfermedades bacterianas determinan generalmente un incremento en el número de neutrófilos circulantes. Es importante que un indicio de que la médula ósea está liberando nuevas células para combatir la infección. Clínicamente, este incremento de células jóvenes recibe el nombre de desviación a la izquierda y es un signo pronóstico favorable. Por el contrario, una cantidad anormal de neutrófilos con hiperpigmentación nuclear se conoce como desviación a la derecha y puede ser signo de pronóstico desfavorable o un síntoma de infección crónica. La función de los neutrófilos es fagocitar y destruir bacterias mediante el contenido de sus diversos gránulos.

Eosinófilos:

Los eosinófilos tienen un tamaño similar al de los neutrófilos (12 μm) y se encuentran en menor cantidad. El citoplasma es ligeramente basófilos, pero en general no podemos observarlo debido a la presencia de gran cantidad de granulaciones gruesas que lo cubren totalmente, dejando libre el núcleo. Los eosinófilos tienen actividad fagocítica. Modulan y regulan las reacciones alérgicas. Los eosinófilos interactúan con otras células por la expresión de múltiples receptores en su superficie. Los eosinófilos son células fagocitarias que demuestran especial afinidad por los complejos antígeno – anticuerpo, por lo que la

mayoría de los eosinófilos son atraídos por quimiotaxis. También los eosinófilos pueden ser atraídos por sustancias liberadas de los basófilos como la histamina.

Los eosinófilos pueden regular la respuesta alérgica y las reacciones de hipersensibilidad mediante la neutralización de la histamina por la histaminasa y a su vez producir un factor inhibidor derivado de los eosinófilos para inhibir la degranulación de las células cebadas o de los basófilos que contienen sustancias vasoactivas.

Basófilos:

El último tipo de leucocitos polimorfonuclear es el basófilos, es el menos abundante. Son algo más pequeños que los anteriores, con un diámetro de 8 – 10 μm . su citoplasma es acidófilo y está cubierto por granulaciones grandes, irregulares, de color negro purpuro que cubren también el núcleo. Por esta causa no es posible observar claramente su forma. Poseen gránulos de heparina e histamina. Estas sustancias son mediadoras químicas que modulan la inflamación. Tienen función en estado alérgicos en la hipersensibilidad retardada. La liberación masiva del contenido de estos gránulos puede causar shock anafiláctico que puede llegar a la muerte del animal si no es controlado.

4.3. A granulocitos:

Linfocitos:

Son leucocitos agranulocitos que juegan un rol fundamental en la respuesta inmune. Los linfocitos son células de alta jerarquía en el sistema inmune, principalmente encargadas de la inmunidad específica o adquirida. Estas células se localizan fundamentalmente en los órganos linfoides. Tienen receptores para antígenos específicos y por lo tanto, pueden reconocer y responder al que se les presente. Por último, los linfocitos se encargan de la producción de anticuerpos y de la destrucción de células anormales. Estas respuestas ocurren en el interior de los órganos linfoides, los cuales, para tal propósito, deben suministrar un entorno que permita la interacción eficiente entre linfocitos, macrófagos y antígeno extraño.

Los linfocitos pequeños son los que se encuentran más comúnmente y su diámetro es aproximadamente igual o ligeramente mayor al de un hematíe. El núcleo es redondo, basófilo, puede presentar agregados de cromatina y una pequeña escotadura en su contorno. El citoplasma se limita a una estrecha franja que rodea al núcleo de color azul – celeste; en general no se observa granulaciones en él. Aunque estructuralmente iguales, mediante marcadores citoquímicos es posible distinguir 3 tipos de linfocitos: linfocitos B, T y nulos.

Según la variedad de linfocitos de que se trate su vida media celular pueden variar entre unos pocos días hasta meses y años. Cumple un rol fundamental en la respuesta inmune. Relaciones complejas entre linfocitos B, linfocitos T y células presentadoras de antígeno generan las respuestas de defensa inmune humoral y celular. A su vez, los linfocitos nulos participan en los mecanismos de defensa dando origen a células asesinas.

Monocitos:

El monocito es el mayor de todos los leucocitos de 12 – 20 μm de diámetro. Hay dificultad considerable en la identificación de algunos monocitos, porque son formas de transición entre los linfocitos pequeños y grandes, lo que en conjunto se parecen entre sí. La exposición que sigue se refiere a las formas más típicas. El citoplasma de los monocitos es bastante más abundante que el de los linfocitos y es de color azul grisáceo pálido, con frecuencia con un aspecto “granuloso”. En muchos casos hay presentes gránulos azurófilos pulverulentos. El núcleo puede ser oval, en forma de riñón o de herradura, la cromatina nuclear se tiñe más débilmente que en el linfocito. Existe uno o más nucleólos, pero no son visibles en las extensiones teñidas. El citoplasma, de color azul gris, es abundante y tiene generalmente vacuolas agrupadas pero no son frecuentes los gránulos azurófilos.

Cualquier acumulo de monocitos en el interior de los tejidos refleja condiciones de cronicidad. Los monocitos son células con gran capacidad bactericida. Ante estímulos fagocitosis aumenta de tamaño y puede fijarse a los tejidos del bazo, hígado, pulmón dando lugar a los macrófagos tisulares que forman el sistema retículo endotelial encargado de remover el material extraño que circula en la sangre.

Valores normales del leucograma en ratas:

| PARÁMETROS | www.sertlab.com | Rojas & Díaz (2009) | Gonzales et al. 2003 | Lagarto et al. 2005 |
|---|-----------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| Hematocrito (%) | 35 – 45 | | 34,1 – 38,7 | 37,28 – 46,60 |
| Hemoglobina (g/dl) | 10 – 20 | | 13,4 – 14,3 | 6,97 – 9,81 |
| Leucocitos (10^3 células/ μl) | 10 – 14 | 3, 4 – 5,6 | 2,8 – 5,6 | 3559,49 – 9661,35 |
| Linfocitos (10^3 células/ μl) | 55 – 95 | 70,5 – 75,8 | 70,8 – 75,8 | 69,83 – 87,22 |
| Neutrófilos (10^3 células/ μl) | 0 – 1 | 22,8 – 28,3 | 21,1 – 28,3 | 12,97 – 25,03 |
| Monocitos (10^3 células/ μl) | 1 – 4 | 0 – 4 | 0 | 0 |
| Eosinófilos (10^3 células/ μl) | 0 – 4 | 0 – 4 | 0 | 0 |
| Basófilos (10^3 células/ μl) | 0 | 0 – 1 | 0 | 0 |

Tabla 1. Valores referenciales para las ratas.

4.4. Marco Conceptual:

Alcaloides: Son compuestos que contienen nitrógeno gusto amargo. Grupo de productos naturales de mayor interés en la farmacognosia. Dentro de este grupo se encuentran sustancias tóxicas incluso a bajas dosis.

Animal de laboratorio: Es aquel que manteniendo bajo determinadas condiciones controladas es utilizado como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico como instrumento de medida en experimentación científica, desarrollo tecnológico e innovación.

Bioensayos: Procedimientos para evaluar la actividad biológica, la presencia o la cantidad de una sustancia (tóxico, toxina, hormona, antibiótico, etc.) mediante la medida de sus efectos sobre un organismo o cultivo celular en comparación con una preparación estándar apropiada.

Dosis: Cantidad de sustancia administrada o absorbida por un individuo en proporción a su peso o volumen corporal, ordinariamente en 24 horas. Se suele expresar en mg/kg.

Dosis letal: Dosis precisa para producir la muerte tras una sola absorción, es decir, originar una intoxicación aguda letal. Se calcula por experimentación con animales. DL mínima: que mata a un solo individuo. DL – 50: media letal para el 50 % que cause la muerte de la población. DL – 100: que mata a todos los individuos al 100 %.

Dosis tóxicas: Proporción de una sustancia que produce intoxicación sin que llegue a ser letal.

Extracto acuoso: Preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular.

Extracto metanólico: Son mezclas heterogéneas de alérgenos y material no alérgicos. Se pueden presentar en solución o liofilizados, es decir, en polvo para reconstituir antes de su administración.

Farmacognosia: Ciencia que se ocupa de las drogas y las sustancias medicamentosas de origen natural, vegetal microbiano (hongos y bacterias) y animal. Con propiedades tóxicas, excipientes u otras de interés farmacéutico.

Liofilización: Proceso por el cual una sustancia para por una extrema evaporización solo extrayéndole el agua, sin dañar la sustancia que se está procesando.

Metabolitos secundarios: Son subproductos de rutas metabólicas normales que ocurren en ciertas especies, siendo particulares dentro de un grupo taxonómico, estado de vida o tejido presentando una distribución restringido dentro del reino vegetal dando origen a la quimiotaxonomía.

Planta medicinal: Son aquellos vegetales que elaboran unos metabolitos secundarios, llamados “principios activos”, sustancia que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo.

Propiedades medicinales: Son todas aquellas que se determinan para curar enfermedades que padece el hombre.

Sintomatología: Descripción general de los signos y síntomas que experimenta un enfermo.

Taninos: Son sustancias complejas que no es posible clasificar dentro de una estructura química única. Son sustancias polifenólicas hidrosolubles no nitrogenadas, de origen vegetal. Son de tipos hidrolizables y condensados.

Tamizaje fitoquímico: Es una de las etapas intermedias de la investigación fitoquímica, que permite cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta, para la extracción de extractos de mayor interés.

Toxicología: Es la ciencia que estudia los tóxicos y las intoxicaciones, comprende origen y propiedades, mecanismos de acción, consecuencia de sus efectos lesivos, métodos analíticos, cualitativos y cuantitativos, prevención, medidas profilácticas y tratamiento general.

Toxicidad: La intoxicación puede producir aumento de la tensión, además, debilidad muscular, calambres, poliuria con hipercaliuria e hipocalcemia.

Toxicidad subcrónica: Efectos adversos ocasionados por administración o exposición repetida de una sustancia un corto periodo de tiempo, usualmente el 10 % de la vida (al menos 90 días en animales experimentales).

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ámbito de estudio:

Ubicación:

- Para la recolección de plantas se seleccionó el lugar llave, por tener más consumo de estas plantas. Ubicada a 3820 msnm a 20 km de la ciudad de Puno y algunas de las plantas fueron colectadas de la misma ciudad de Puno.
- Para la preparación del extracto acuoso y metanólico, se realizó en la Facultad de Biología, en el Laboratorio de Microbiología.
- Para las pruebas toxicológicas se realizó en el Bioterio de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Para las pruebas de las lecturas de los hemogramas se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Biología.

3.2. Tipo de Investigación:

El estudio fue experimental, para evidenciar la toxicidad de las plantas en estudios en animales vivos, y analíticas para el tamizaje fitoquímico.

3.3. Materiales y equipos:

Material Vegetal:

Se colectó las plantas de mayor uso y consumo, que sean del Altiplano de Puno de la zona de llave; a través de encuestas a los pobladores y comerciantes de plantas medicinales, tomando en cuenta que lo usan para aliviar sus enfermedades que padecen como infecciones respiratorias, enfermedades digestivas, etc. Estas plantas son:

1. “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*)
2. “altamisa” (*Ambrosia arborescen*)

3. “diente de león” (*Taraxacum officinale*)
4. “huira huira” (*Pseudoglyphalium spicatum*)
5. “mishico” (*Bidens andicola*)

Material Biológico:

Se seleccionó a ratas Wistar de laboratorio. Se usó 24 ratas de laboratorio de ambos sexos, seleccionados aleatoriamente. Peso de 200 g en promedio y de 8 a 12 semanas de edad. Serán divididos aleatoriamente en 1 grupo control y 5 grupos tratados, estarán a una temperatura de 20° C con luminosidad de 12 horas diarias y 12 horas de oscuridad, se le administró por sonda esofágica los extractos y para el grupo control agua destilada (Isaza *et al.*, 2005).

Se distribuyó de la siguiente manera:

1. Grupo control: 4 ratas
2. “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*): 4 ratas
3. “altamisa” (*Ambrosia arborescen*): 4 ratas
4. “diente de león” (*Taraxacum officinale*): 4 ratas
5. “huira huira” (*Pseudoglyphalium spicatum*): 4 ratas
6. “mishico” (*Bidens andicola*): 4 ratas

Equipos y materiales:

- Bolsa recolectora.
- Cámara fotográfica.
- Marcador.
- Agua destilada para el lavado.
- Para el sacado estufa (marca Binder) por 72 horas.
- Para la trituración morteros de diferentes tamaños.
- Poner en botellas de vidrio (Pírex) los 250g de cada planta triturada con agua destilada.
- Rotavapor para solo obtener materia seca final.
- Balanza analítica electrónica (marca Satorius).
- Tubos pírex (50 tubos).
- Marcador.
- Gradillas (3 gradillas).
- Agua destilada para el lavado.
- Pipetas (pírex).

- Pisetas.
- Baño María.
- Mechero.
- Cuaderno de apuntes.
- Cánula gástrica en punta de oliva.
- Vaselina sólida.
- Mascarillas, guantes y mandil.
- Baguetas para los estímulos.
- Jeringas (5 ml) para emplear las dosis.
- Lancetas.
- Tubos con heparina (minicolet).
- Porta objetos.
- Tubos para hematocrito.
- Centrífuga (Haematokrit 24).
- Reactivo Wright.
- Reactivo de Turk.
- Microscopio.
- Cámara de New Beubauer.
- Contador manual de hemograma.
- Aceite de inmersión.
- Algodón.
- Alimento para su dieta (semilla de girasol, comida de gato, zanahoria, arrocillo).

Reactivos:

Preparación de los reactivos para las pruebas fitoquímicas:

- Reactivo de Dragendorff: Solución a. disolver 1,7 g de nitrato básico de bismuto en 20 g de ácido tartárico en 80 ml de agua. Solución b. disolver 16 g de yoduro de potasio en 40 ml de agua. Solución de reserva, mezclar volúmenes iguales de las soluciones a y b. conservar en refrigeración.
- Reactivo de Mayer: Solución a. 13,5 g de cloruro de mercurio (II) y 49,8 de yoduro de potasio, se disuelve cada uno en 20 ml de agua, se mezcla y se completa a 100 ml agregar a la mezcla 15 ml de ácido clorhídrico en solución acuosa al 17 %. Solución b. 5 g de cloruro de zinc (II en 80 ml de ácido clorhídrico 37 %). Solución c. solución amoniacal al 15 %.

- Reactivo de Wagner: Disolver 1 g de yodo y 10 g de yoduro de potasio en 50 ml de agua, acidificar con 2 ml de ácido glacial, completar con agua a 100 ml.
- Reactivo de cloruro férrico: 1,25 g cloruro férrico en 25 ml de agua y aforar a 50 ml con alcohol metílico.
- Reactivo de ácido ftálico: 2 ml de ácido ftálico más hidróxido de sodio al 5 % en 100 ml de agua.
- Reactivo de Fehling: Solución a. 35 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ en 500 ml de agua. Solución b. 175 g de sal de Rochelle más 50 g de NaOH en 500 ml de agua. Reserva será la mezcla de la solución a y b.

3.4. Metodología:

Preparación de la muestra

- Para el extracto y metanólico la que se menciona en el procedimiento fitoquímico.



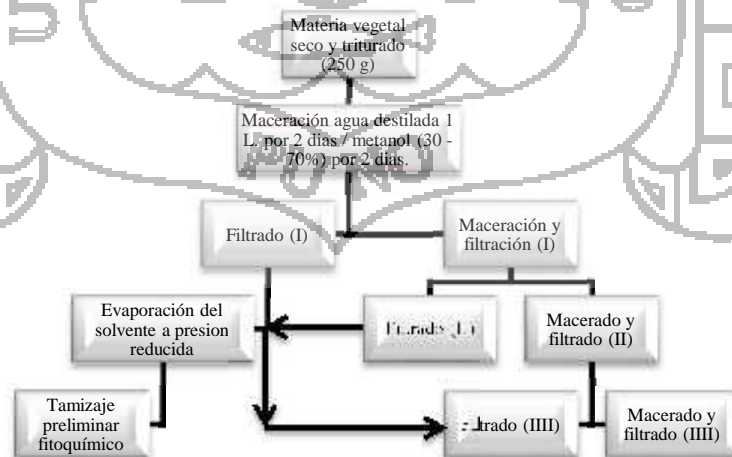
- El material vegetal (tallos y hojas) se secó a 60° C durante 72 horas en una estufa (Binder) luego fueron pesadas y pulverizadas; el polvo fue dejado con agua destilada por 24 horas para obtener el extracto acuoso, el cual fue filtrado y liofilizado. Y para el extracto metanólico se obtuvieron por maceración hidroalcohólica (30 – 70 %) de 5 días, luego se filtró y se repitió la extracción dos veces más en esos días. Los filtrados reunidos se concentraron en rotavapor y se liofilizaron.
- El proceso de extracción se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Biológicas. Cada extracto liofilizado se disolvió en agua destilada a temperatura ambiente (García *et al.*, 2007).



Grafica 2. Método para la extracción de los extractos.

- La proporción fue de 250 g materia seca por 1 litro de agua destilada para el extracto acuoso. Y para el extracto metanólico de la misma forma 250 g de materia seca con 700 ml de agua y 300 ml de metanol. Para finalmente obtener mediante las filtraciones y ponerlas en rotavapor para obtener una materia seca de 5 g por cada extracto según el método descrito a continuación:

Método de Screening Fitoquímico según Espitia (2011):



Grafica 3. Esquema para la obtención del extracto acuoso y metanólico de las plantas medicinales en estudio (Espitia *et al.*, 2011)

3.4.1. Preparación para las pruebas fitoquímicas:

Identificación de los metabolitos secundarios (cualitativamente) de las plantas medicinales en estudio en hojas y tallo según Medina (1997):

1. Identificación de alcaloides:

- **Reactivo de Dragendorff:** En un tubo se colocó 5 mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, se homogenizó y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado café rojizo.
- **Reactivo de Mayer:** En un tubo se colocó 5 mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Mayer, se homogenizó y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado amarillo pálido.
- **Reactivo de Wagner:** En un tubo se colocó 5 mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Wagner, se homogenizó y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado naranja oscuro.

2. Identificación de fenoles:

- **Reactivo con cloruro férrico:** En un tubo se colocó 2 ml de cloruro férrico al 5 % y 5 mg del extracto a investigar, se homogenizó y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado verde oscuro.

3. Identificación de fenoltaleínas:

En un tubo se colocó 2 ml del ácido ftálico concentrado e hidróxido de sodio al 5 % y 5 mg del extracto a investigar, se homogenizó y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado marrón.

4. Identificación de taninos:

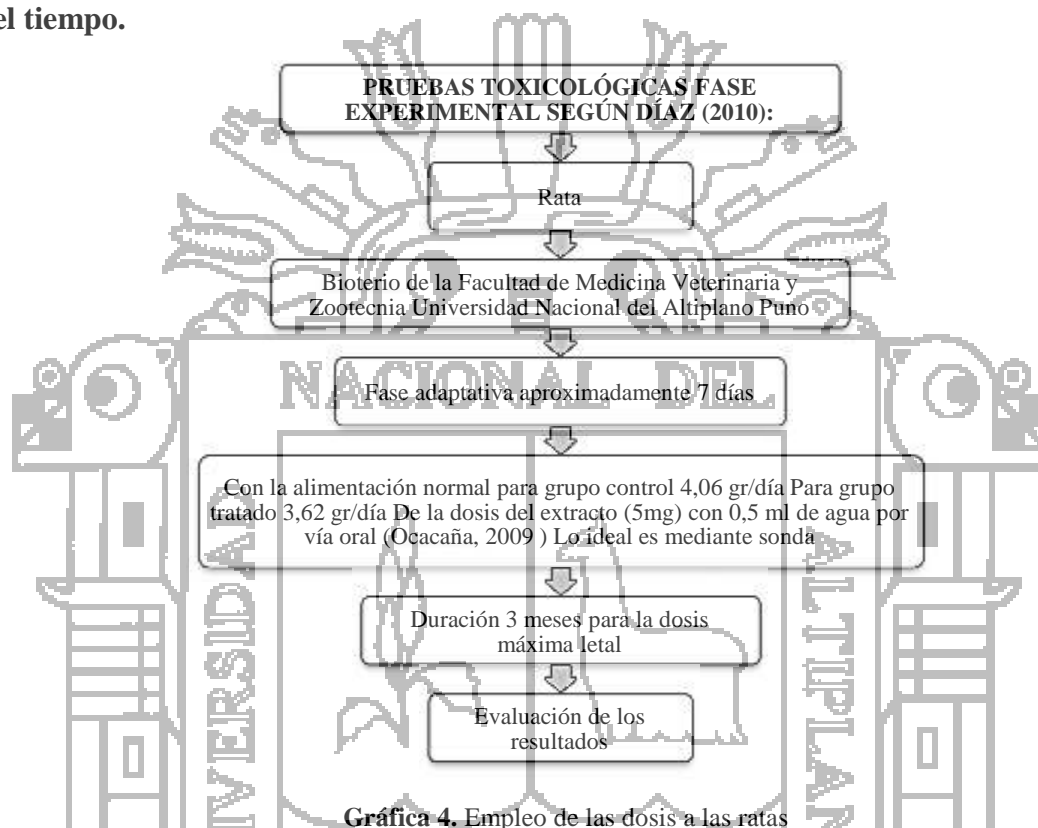
- **Reactivo de gelatina sal:** A una solución se agregó 5 mg del extracto a investigar al que se le agregó 2 ml del reactivo de Dragendorff, se homogenizó y se procedió a la lectura.
- **Reactivo con FeCl_3 :** Al estrato inicial se agregó una solución de FeCl_3 al 5 %, luego se homogenizó y se lee. Debe formar un precipitado verde para ver azúcares reductores.

5. Identificación de carbohidratos:

- **Reactivo de Fehling:** En un tubo se agregó unas gotas del reactivo de Fehling y 5 mg del extracto a investigar al que se le llevara a baño María por 5 minutos y se procedió a la lectura, debe formar un precipitado rojo.

3.4.2. Pruebas toxicológicas

Determinación de las manifestaciones toxicológicas y muerte en ratas de laboratorio, a través de las concentraciones de dosis fijas únicas de las plantas en estudio, en función del tiempo.



Al iniciar con las dosis, las ratas estuvieron que estar sin alimento durante 12 horas antes de la administración, y después de ello esperar por lo menos 1 a 2 horas para ver sus efectos. Según Ocacaña (2009). Las pruebas toxicológicas, se aplicó los extractos acuosos y metanólico de las plantas seleccionadas, para darles en dosis por vía oral. Administración del tratamiento: 0,05 ml de agua / 5 mg / kg del extracto acuoso (para 2 ratas) y metanólico (para 2 ratas).

CRITERIOS PARA LA CALIFICACIÓN DE LA DL50, SE TIENE:

| | | | | |
|-------------------------|------|---|---|-------------|
| Extremadamente toxico | DL50 | ≤ | a | 1 mg/kg |
| Altamente toxico | DL50 | ≤ | a | 50 mg/kg |
| Moderadamente toxico | DL50 | ≤ | a | 500 mg/kg |
| Ligeramente toxico | DL50 | ≤ | a | 5000 mg/kg |
| Prácticamente no toxico | DL50 | ≤ | a | 15000 mg/kg |
| Relativamente inocuo | DL50 | ≤ | a | 15000 mg/kg |

(Fuente: OECD, 2000)

Tabla 2. Criterios para la evaluación del grado de toxicidad.

Método de evaluación de la toxicidad:

Se le hace después de la aplicación de las dosis fijas de 5 mg/kg, durante 1 o 2 horas.

Observaciones clínicas:

- Estado de vigilia.
- Cambios en la piel.
- Si habrá irritación en las membranas mucosas.
- Comportamientos extraños.
- El peso como indicador de anemia, etc.

3.4.3. Pruebas hematológicas

Determinación de la toxicidad ocasionada por la aplicación de las dosis fijas únicas mediante las pruebas hematológicas (hematocrito, hemoglobina y leucograma), en ratas de laboratorio.

Procedimiento:

Se realizaron exámenes hematológicos tomando en cuenta lo siguiente:

- Hematocrito.
- Hemoglobina.
- Lectura de leucograma: conteo de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos y basófilos.

Procedimiento para la toma de muestra:

Para iniciar la toma de muestra de sangre se inicio con previo ayuno de 12 horas. Y para la toma de muestra durante los tres meses se realizó cada 30 días desde el día 0, día 30, días 60 y día 90.

Obtención de la sangre de la cola de la rata:

Se realizó los procedimientos recomendados por Carrillo (2011) las cuales se detallan a continuación: se sujetó firmemente la cola para su desinfección y se incoó el extremo de la misma presionando hasta que se forme una gota para el hematocrito y otra para el frotis. Se usó la técnica de punción de los vasos de la cola para evitar la vía seno retro orbital que produce estrés al animal, muchas veces acarrea varios pinchazos hasta obtener la cantidad de sangre deseada y en ocasiones produce pérdidas oculares y el consecuente sacrificio del animal. De igual forma mediante esta técnica se evitó la exposición al anestésico tanto del material biológico como su manipulador.

Para la determinación del hematocrito y hemoglobina:

Se recolectó la sangre en tubos hematocrito, recepcionando la cantidad adecuada, luego se centrifugó en la centrífuga (Haematokrit 24) a 4500 rpm (revoluciones por minuto).

Para el recuento de leucocitos, se usó el diluyente de Turk 0,95 ml en un tubo y 0,05 ml de sangre mezclar bien durante 5 minutos y se puso 2 gotas a la cámara de New Beubauer y se procederá a la lectura; se lee los 4 cuadrantes de los extremos se suma y se multiplica x 50 y se da el resultado.

Para hacer el frotis del leucograma:

- Se realizó el frotis y se dejó secar al aire sobre una rejilla.
- Se cubrió completamente con coloración Wright gota a gota por 5 a 8 minutos para fijar los glóbulos sanguíneos.
- Se lavó con agua a chorro cuidadosamente.
- Secar al aire y observar con el microscopio agregando aceite de inmersión.
- Se observaron: linfocitos, células con núcleo grande; neutrófilos, con 2 a 3 núcleos; monocitos, células grandes con núcleos arriñonados; eosinófilos, células rosadas, agranuladas y basófilos, células color púrpura con granulaciones.

4. Tipo de análisis estadístico usado

- Para las pruebas fitoquímicas para cada planta se usó cuadros de doble entrada, para mostrar resultados en forma cualitativa. Donde se da la relación de dos variables:

$$a(b + c) = a + a$$

- Para las pruebas de los efectos toxicológicos se usó histogramas donde se muestra los síntomas más evidentes a causa de las dosis administradas.
- Un histograma, consiste en un conjunto de rectángulos que tienen:

- a) Sus bases en el eje X horizontal, sus centros en la marca de clase y longitudes iguales a los tamaños de los intervalos de clase.
- b) Áreas proporcionales a las frecuencias de clase.

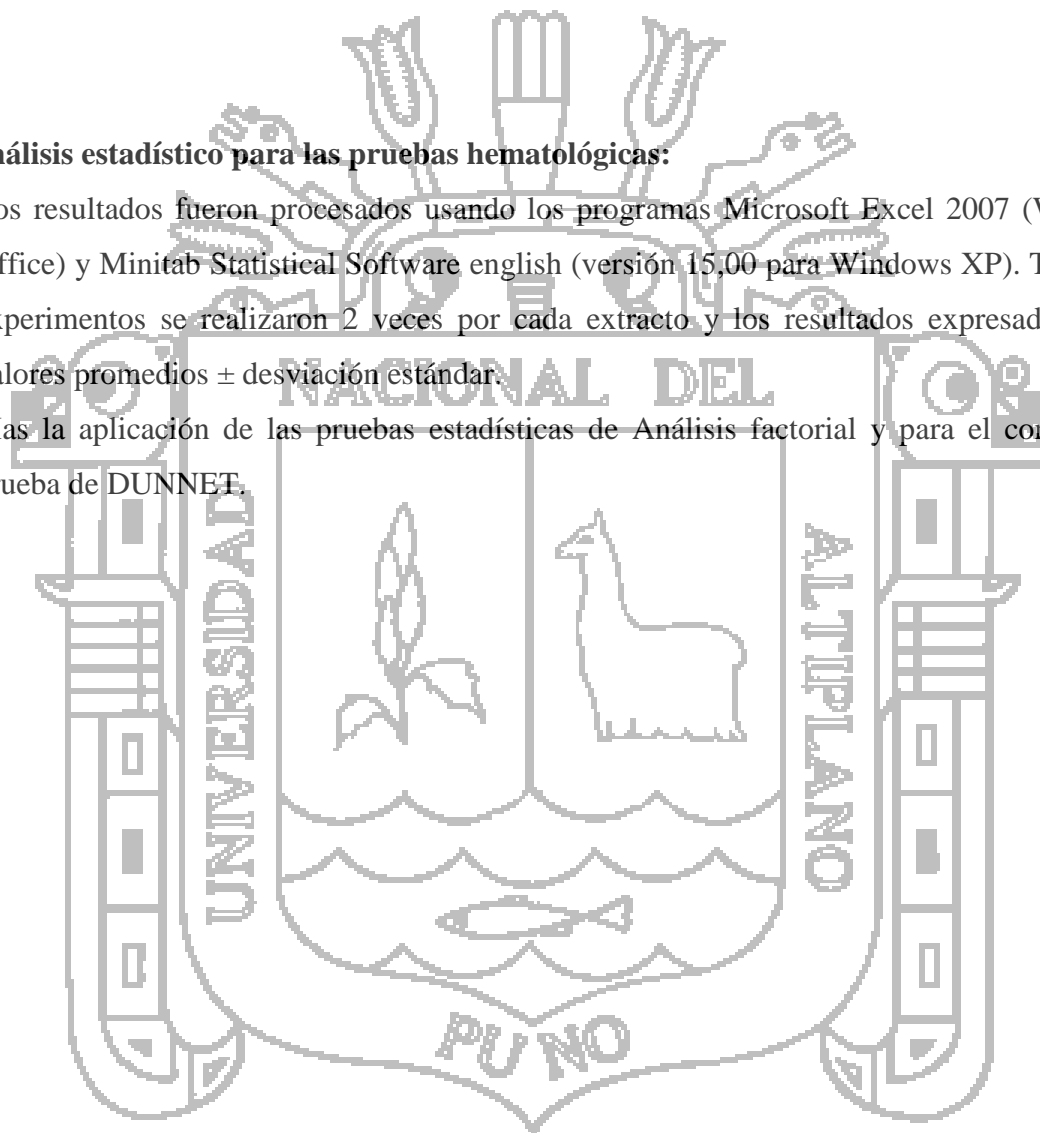
Método de evaluación para la toxicidad:

La **toxicidad** subcrónica a dosis únicas se evaluó el método alternativo de Procedimiento de Dosis Fijas, internacionalmente validados y aceptado (Bermúdez *et al.*, 2007)

Análisis estadístico para las pruebas hematológicas:

Los resultados fueron procesados usando los programas Microsoft Excel 2007 (Windows Office) y Minitab Statistical Software english (versión 15,00 para Windows XP). Todos los experimentos se realizaron 2 veces por cada extracto y los resultados expresados como valores promedios \pm desviación estándar.

Más la aplicación de las pruebas estadísticas de Análisis factorial y para el contraste la prueba de DUNNET.



CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación de los metabolitos secundarios (cualitativamente) de las plantas en estudio en hojas y tallos:

Mediante la fitoquímica se muestra los resultados de los metabolitos secundarios en cada extracto de las plantas en estudio, se presenta en el cuadro 1.

Cuadro 1. Donde se muestran los resultados obtenidos en los ensayos de las plantas en estudio.

| FITOQUÍMICAS | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|------------------|------------|------|------|------|------|------|---------|--------|----------------|-----------|-----------|--------|-----------|--------|---------------|------|------|
| METABOLITOS | ALCALOIDES | | | | | | FENOLES | | FENOLFTALEÍNAS | | TANINOS | | | | CARBOHIDRATOS | | |
| | E.A. | R. | R. | R. | E.M. | R.W. | E.A. | E.M. | E.A. | E.M. | E.A. | R. | R.CINa | E.M. | R. | E.A. | E.M. |
| Reactivo | R.D. | R.M. | R.W. | R.D. | R.M. | R.W. | R.C.F. | R.C.F. | A.ftálico | A.ftálico | R.CINa 5% | R.FeCl | R.CINa 5% | R.FeCl | R.F. | R.F. | R.F. |
| "mishico" | + | + | + | + | + | + | - | + | ++ | ++ | - | + | - | + | + | + | + |
| "diente de león" | + | + | - | + | + | + | + | - | + | + | + | + | + | + | - | - | + |
| "huira huira" | + | - | + | + | - | + | + | + | + | + | - | - | + | + | ++ | ++ | ++ |
| "jincho jincho" | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | + | + | + | ++ |
| "altamisa" | + | + | + | - | + | ++ | + | + | + | + | ++ | ++ | ++ | ++ | + | + | + |

+++ = abundante ++ = moderado + = leve - = no detectado

E.A. = extracto acuoso. E.M. = extracto metanólico. R.D. = reactivo de Dragendorff. R.M. = reactivo de Mayer. R.W. = reactivo de Wagner. R.C.F. = reactivo Cloruro férrico. A. FTÁLICO = Acido ftálico. R.CINa 5% = reactivo Cloruro de sodio al 5%. R. FeCl = reactivo Cloruro férrico. R. F. = reactivo de Fheling

En el cuadro 1, la determinación de las pruebas fitoquímicas, evidenció la presencia de los metabolitos en las plantas en estudio, donde los alcaloides están presentes en todas las plantas; pero con menor proporción en "jincho jincho". Los fenoles están presentes en todas las plantas excepto en "mishico" del extracto acuoso. Las fenolftaleínas presentes en todas las plantas pero no en "jincho jincho". Los taninos presentes en "diente de león", "altamisa", pero en menor proporción están en "jincho jincho", "huira huira" y "mishico". Y los carbohidratos presentes en todas las plantas excepto en "diente de león" que está en menor proporción.

Los alcaloides demuestran su presencia en "altamisa" como también en el "diente de león", los carbohidratos están presentes en "diente de león", para los taninos también se demostró que están presentes en "mishico", como lo afirma Guerrero *et al.* (2006), lo cual coincide con los metabolitos secundarios detectados en este trabajo experimental para dichas especies.

La presencia de alcaloides tienen efectos tóxicos, por ser así lo usan como repelentes para distintos ectoparásitos como los ácaros (Pereida *et al.*, 2009) y también como microbicida (Mora *et al.*, 2012). Estos alcaloides se concentran en determinadas partes de la planta y forman parte de su mecanismo de defensa ya que por su sabor amargo y su acción tóxica sobre el organismo evitan la acción depredadora de los herbívoros (Arteta, 2008)

Sin embargo Rodón *et al.* (2010), apoya a que los metabolitos secundarios entre ellos los alcaloides, azúcares reductores, taninos y otros, fundamenta su empleo para diversas afecciones. Como ya se menciona con los resultados de la sintomatología que muestran las ratas en el experimento. Versión que confirma Macías (2009) en sentido que la toxicidad de las plantas es causada por los metabolitos secundarios.

4.2. Determinación de las manifestaciones toxicológicas y muerte en ratas de laboratorio, a través de las concentraciones de dosis fijas únicas de las plantas en estudio, en función del tiempo.

La administración de una dosis fija única de 5 mg/kg de masa corporal, no provocó la muerte de los animales, solo en grupo de “altamisa”, que se tuvo que sacrificar por el prolapso uterino que sufrió. Manifestaron síntomas de somnolencia, irritación de las membranas mucosas, edemas y otros.

Cuadro 2. Trastornos fisiológicos observados más frecuentes en las ratas luego de administrarle el extracto acuoso y metanólico de las plantas medicinales.

| Efectos colaterales | Abreviatura | “mishico” | | “diente de león” | | “huira huira” | | “jincho jincho” | | “altamisa” | |
|------------------------|-------------|-----------|------|------------------|------|---------------|------|-----------------|------|------------|------|
| | | E.A. | E.M. | E.A. | E.M. | E.A. | E.M. | E.A. | E.M. | E.A. | E.M. |
| Vigilia | VIG | 1 | 0 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Somnolencia | SOM | 24 | 1 | 1 | 1 | 4 | 4 | 1 | 6 | - | - |
| Irritación nasal | INA | 4 | 1 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Lagañas | LAG | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 0 | 4 |
| Edema bucal | EDE | 1 | 0 | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Irritación ocular | IOC | - | - | 1 | 0 | 8 | 3 | 0 | 1 | - | - |
| Erizamiento de la piel | ERIZ | - | - | - | - | 1 | 0 | - | - | 2 | 1 |
| Absceso cervical | HACER | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 | - | - |
| Prolapso cervical | PROL | - | - | - | - | - | - | - | - | 1 | 0 |
| Orquitis | ORQ | - | - | - | - | - | - | - | - | 0 | 4 |

E.A. = Extracto Acuoso. E.M. = Extracto Metanólico.

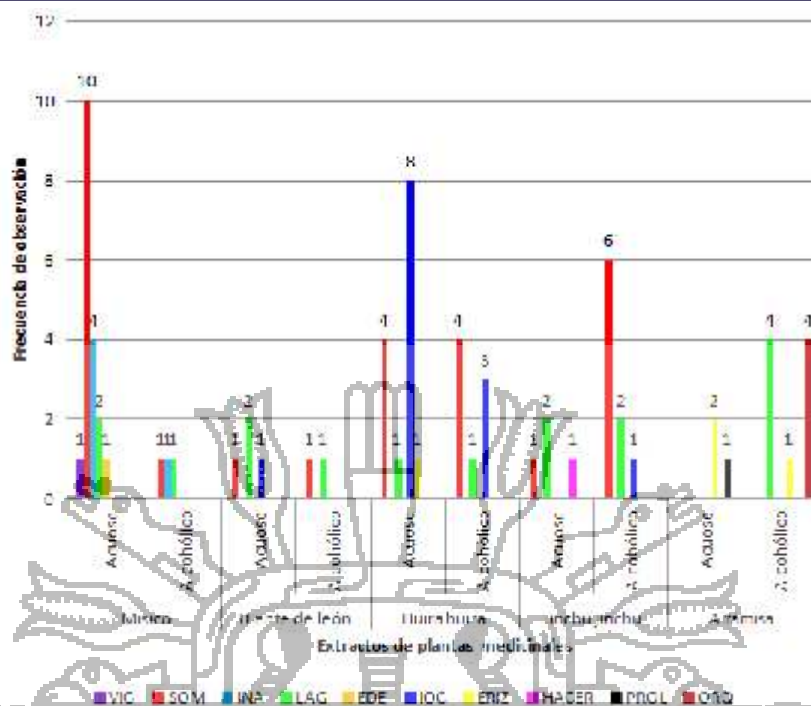


Figura 1. Frecuencia de observación de trastornos fisiológicos observados en las ratas luego de administrarles los extractos acuosos y alcohólicos de las plantas medicinales. Los significados de las abreviaturas de los trastornos se encuentran en el cuadro 2.

En la figura 1 se da con más frecuencia en las ratas son: la somnolencia ocasionada por el “mishico” y más en el extracto acuoso también se muestra la irritación ocular del ojo ocasionado por el “huira huira” del extracto acuoso; las lagañas ocasionados por casi todas las plantas, el edema bucal ocasionado por “jincho jincho”, el erizamiento de la piel ocasionado por “huira huira” y “altamisa”, la irritación ocular producido por ‘diente de león’; en cuanto a los problemas del aparato reproductor femenino que son ocasionado por “altamisa” en ratas donde hay prolapso cervical y orquitis, como también lo corrobora Umaña (2003) que algunas plantas sí hacen estimulaciones uterinas serveras, evidencias que son síntomas clínicos encontrados durante el experimento.

La “altamisa”, usada como planta abortiva y como biocida versión que confirma Arteta (2008), durante la fase de experimentación se mostró que una de las ratas tuvo prolapso cervical, son evidencia de abortos, como también se menciona a “mishico” con propiedades abortivas pero no se mostró este resultado con esta planta durante el experimento.

Bonilla & Pareja (2001), mencionan que mediante ensayos de solubilidad se observó que los metabolitos secundarios, tienen actividad inmunoestimulante, esto sobre todo en el extracto etanolico, lo demuestra sus estudios. En nuestro estudio sería el caso del extracto acuoso, donde se muestra más sintomatología que en el extracto metanólico.

La actividad inmunoestimulante va de la mano con el sistema inmune debe de considerarse como órgano sensorial encargado de la captación de estímulo no cognoscitivo, el sistema inmune convierte dicho estímulo en información química, en forma de hormonas peptídicas, neurotransmisores y citoquinas que se dirigen al sistema neuroendocrino provocando cambios fisiológicos y psicológicos ocasionado por los metabolitos (López, 2000).

Mencionado a los metabolitos los alcaloides estos producen agitación, cianosis, contracciones musculares por la planta “Clarín”, los taninos producen deshidratación ocasionado por la planta “Adelfa”, sustancias reductoras ocasionando somnolencia producida por la planta “Curbaná”, según los estudios de Macías (2009) y por la planta *Justicia pectoralis* por Bermúdez *et al.* (2007); se tiene mucha relación con los resultados encontrados en los síntomas de las ratas demostrando que algunas de estas plantas si producen estos síntomas.

Larraine & Dreisbach (2003) en sus estudios, nos indican la presencia de estos síntomas, la irritación de las membranas mucosas, causado por el lirio de agua, y la irritación nasal causada por el yutex. Estos son evidencia de síntomas tóxicos.

Síntomas encontrados durante el experimento y las plantas causantes:

La vigilia, causada por «mishico».

Somnolencia, causada por «mishico».

Irritación nasal, causada por «mishico».

Legaña, causada por todas las plantas.

Edema zona del cuello, causada por «jincho jincho».

Orzuelo, irritación del ojo, causada por «huira huira».

Erizamiento de la piel o piloerección, causada por «altamisa».

Prolapso genital, causada por «altamisa».

Orquitis, causada por «altamisa».

Peso, esta noción menciona a la cantidad de masa que alberga el cuerpo de una persona. A partir de esta cifra, es posible estimar ciertas características acerca de las condiciones de salud de un individuo, aunque el peso corporal no es un dato concluyente.

Cuadro 3. Determinación del peso corporal durante los 90 días de experimentación: Para evidenciar si el organismo de las ratas sufrieron algún tipo de anemia o anomalía:

| Tiempo de tratamiento | Acuoso | | | | | |
|-----------------------|-------------|---------------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------|
| | Control (g) | “mishico” (g) | “diente de león” (g) | “huira huira” (g) | “jincho jincho” (g) | “altamisa” (g) |
| Inicio | 117,55 | 187,25 | 166,05 | 151,95 | 166,80 | 155,35 |
| 30 días | 142,35 | 214,40 | 166,40 | 168,15 | 165,20 | 146,65 |
| 60 días | 150,50 | 241,50 | 190,20 | 200,40 | 148,80 | 116,50 |
| 90 días | 193,50 | 228,85 | 215,65 | 223,65 | 156,90 | 166,50 |
| Promedio | 150,97 | 218,00 | 184,57 | 186,03 | 159,42 | 146,25 |

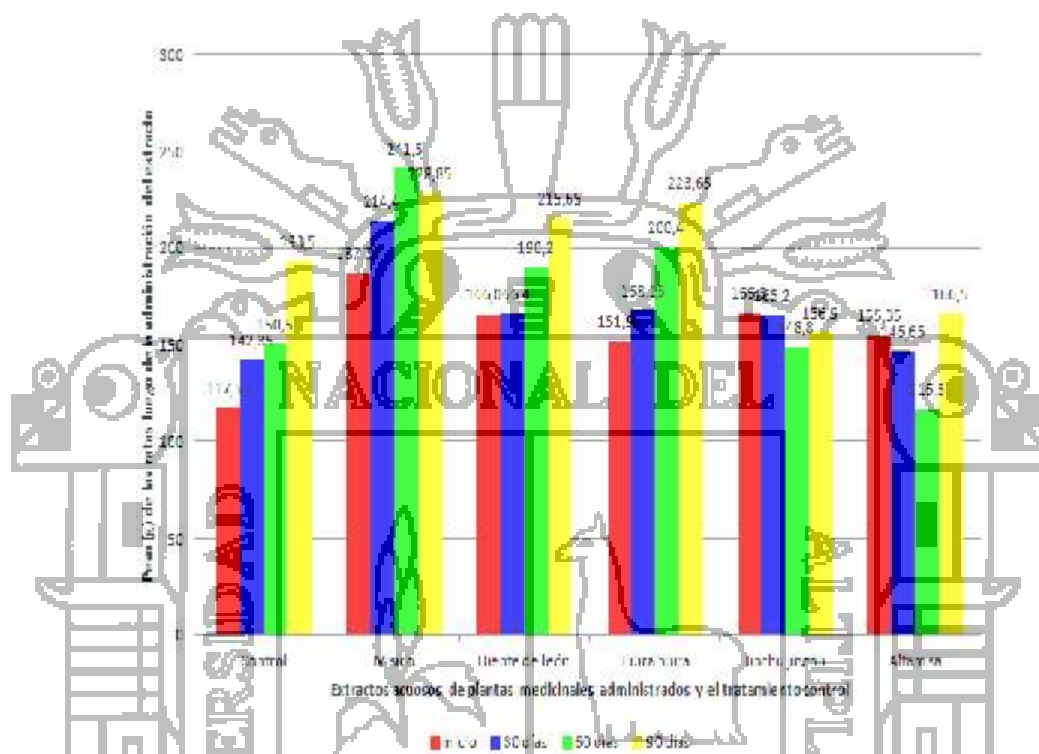


Figura 2. Peso corporal de las ratas aplicando el extracto acuoso.

En la figura 2, el peso corporal en las ratas administrado el consumo del extracto acuoso de las plantas en estudio comparando con el grupo control hubo incremento de peso en las ratas tratadas con “mishico” (*Bidens andicola*), seguido por “huira huira” (*Pseudogmalium spicatum*), “diente de león” (*Taraxacum officinalis*), “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerai*) y una deficiencia en ratas tratadas con “altamisa” (*Ambrosia arborescens*).

Cuadro 4. Determinación del peso corporal durante los 90 días de experimentación:

| Tiempo de tratamiento | Alcohólico | | | | | |
|-----------------------|-------------|---------------|----------------------|-------------------|---------------------|----------------|
| | Control (g) | “mishico” (g) | “diente de león” (g) | “huira huira” (g) | “jincho jincho” (g) | “altamisa” (g) |
| Inicio | 129,30 | 111,65 | 157,60 | 178,90 | 135,45 | 185,90 |
| 30 días | 139,75 | 154,00 | 177,05 | 147,75 | 152,65 | 212,65 |
| 60 días | 148,95 | 203,20 | 212,45 | 201,25 | 163,70 | 241,10 |
| 90 días | 171,00 | 230,95 | 241,10 | 225,10 | 188,50 | 267,50 |
| Promedio | 147,25 | 174,95 | 197,05 | 188,25 | 160,07 | 226,78 |

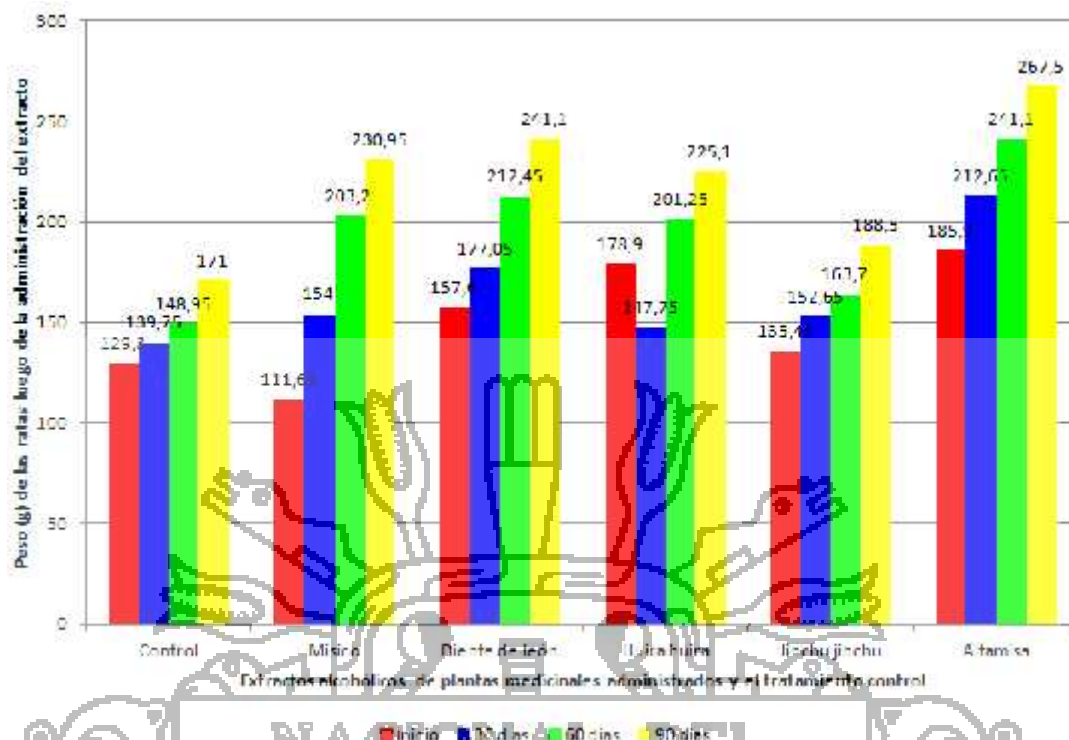


Figura 3. Peso corporal de las ratas aplicando el extracto metanólico.

En la figura 3, en el extracto metanólico comparando con el grupo control hubo incremento del peso en las ratas tratadas con “altamisa” (*Ambrosia arborescens*), seguida por “diente de león” (*Taraxacum officinales*), “mishico” (*Bidens andicola*), “huira huira” (*Pseudognaphalium spicatum*), y deficiencia en el peso con las ratas tratadas con “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*).

4.3. Determinación de la toxicidad ocasionada por la aplicación de las dosis fijas únicas mediante las pruebas hematológicas (hematoerito, hemoglobina y leucograma), en ratas de laboratorio.

Para los exámenes hematológicos se tuvieron que obtener sangre por cada 30 días, para la evaluación y observación en la lámina porta objeto.

Cuadro 5. Análisis factorial para la determinación de los valores de hematocrito (%) según cada planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 371,9 | 4 | 92,975 | 3,38 | 0,0155 |
| B: Extractos | 284,033 | 2 | 142,017 | 5,17 | 0,0089 |
| RESIDUOS | 1457,05 | 53 | 27,4915 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 2112,98 | 59 | | | |

En el cuadro 5, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio plantas medicinales, se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) para los valores de hematocrito, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presentan un efecto diferente en los valores de hematocrito. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) se encontró diferencia estadística ($P < 0,05$), lo que determina que los valores de hematocrito no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.



Figura 4. Valores de Hematocrito (%) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

En la figura 4, se muestra en comparación del grupo control, las ratas tratadas con “mishico” (*Bidens andicola*) y “huirá huirá” (*Pseudognaphalium spicatum*) el hematocrito se halla por encima de los valores del grupo control; por lo que se estaría expresando aumento del hematocrito. Mientras que “diente de león” (*Taraxacum officinalis*) se encuentra levemente bajo, y tanto como “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*) y “altamisa” (*Ambrosia arboresens*) se encuentran por debajo de los valores del grupo control indicando una deficiencia del hematocrito causado por algún tipo de anomalía mencionado anteriormente; así como prolapso cervical y la orquitis.

En cuanto a los tipos de extractos se muestra que en el extracto acuoso hay deficiencia del hematocrito en comparación del grupo control.

Cuadro 6. Prueba de Dunnett para valores de Hematocrito (%) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

| Comparaciones | Diferencia entre promedios | Significancia $r = 0,05$ |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| “mishico” – Control | 2,750 | N.S |
| “huira huira” – Control | 1,000 | N.S |
| “diente de león” – Control | -1,750 | N.S |
| “jincho jincho” – Control | -3,750 | N.S |
| “altamisa” – Control | -7,583 | * |

* Diferencia significativa

En el cuadro 6, la prueba de Dunnett comparó las plantas medicinales con el control, respecto a los valores de hematocrito, se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0.05$) para el contraste de la “altamisa” y el control, lo que señala que la administración oral de extracto de esta planta medicinal, disminuye los valores de hematocrito.

Cuadro 7. Análisis factorial para la determinación de los valores de hemoglobina (mg/dl) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 40,5667 | 4 | 10,1417 | 3,48 | 0,0135 |
| B: Extractos | 34,3 | 2 | 17,15 | 5,88 | 0,0049 |
| RESIDUOS | 154,533 | 53 | 2,91572 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 229,4 | 59 | | | |

En el cuadro 7, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de las plantas medicinales, se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) para los valores de hemoglobina, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presentan un efecto diferente en los valores de hematocrito. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) se encontró diferencia significativa estadística ($P < 0,05$), lo que determina que los valores de hemoglobina no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extractos administrado a las ratas.

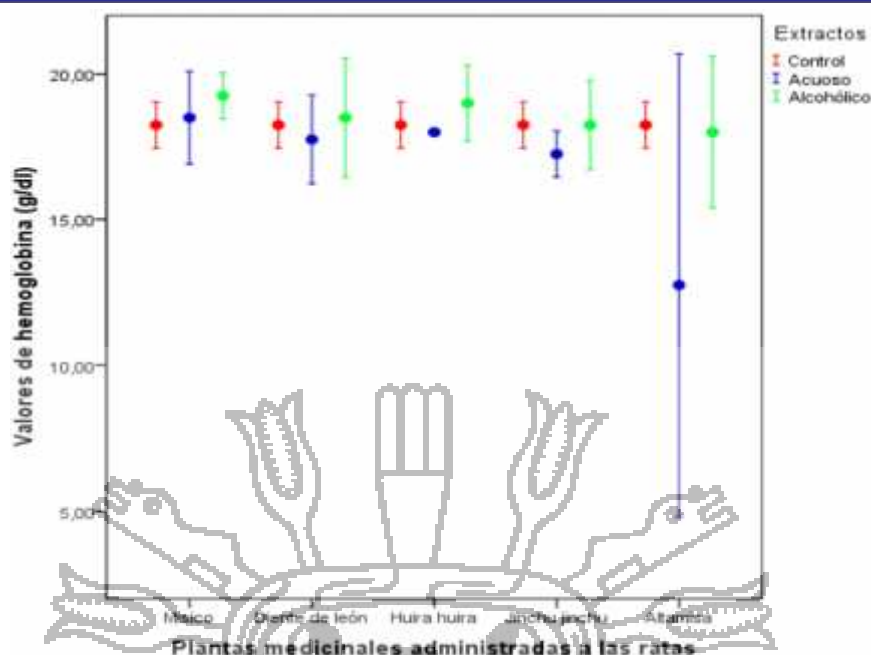


Figura 5. Valores de Hemoglobina (g/dl) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

En la figura 5, se muestra en comparación del grupo control, las ratas tratadas con “mishico” y “huira huira” la hemoglobina está ligeramente por encima de los valores del grupo control; se estaría expresando aumento de la hemoglobina. Mientras que “diente de león” está ligeramente por debajo de los valores del grupo control, en cuanto “jincho jincho” y “altamisa” está por muy debajo de los valores del grupo control indicando un deficiencia de la hemoglobina causado por algún tipo de anomalía mencionado anteriormente en los síntomas encontrados como prolapso cervical y la orquitis.

En cuanto a los tipos de extractos administradas a las ratas, se muestra que en el extracto acuoso hay más deficiencia para la lectura de la hemoglobina, mientras en el extracto metanólico esta de acorde con el grupo control.

Cuadro 8. Prueba de Dunnett para valores de Hemoglobina (mg/dl) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

| Comparaciones | Diferencia entre promedios | Significancia $r = 0,05$ |
|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| “mishico” – Control | 1.1500 | N.S |
| “huira huira” – Control | 0.3500 | N.S |
| “diente de león” – Control | -1.0750 | N.S |
| “jincho jincho” – Control | -1.1750 | N.S |
| “altamisa” – Control | -2.4917 | * |

* Diferencia significativa

En el cuadro 8, la prueba de Dunnett comparó las plantas medicinales con el control, respecto a los valores de hemoglobina, se encontró diferencia estadística significativa ($P <$

0.05) para el contraste de la “altamisa” (*Ambrosia arborescen*) y el control, lo que señala que la administración oral de extracto de esta planta medicinal, disminuye los valores de hemoglobina.

Cuadro 9. Análisis factorial para leucocitos (10^3 células/ μ l) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 6,92772E6 | 4 | 1,73193E6 | 1,20 | 0,3225 |
| B: Extractos | 8,60406E6 | 2 | 4,30203E6 | 2,98 | 0,0596 |
| RESIDUOS | 7,66151E7 | 53 | 1,44557E6 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 9,21469E7 | 59 | | | |

En el cuadro 9, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de plantas medicinales, no se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$) para los valores de leucocitos, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presentan un efecto diferente en los valores de leucocitos. Para el tipo de extractos (acuoso y metanólico) se encontró diferencia significativa ($P > 0,05$), lo que determina que los valores de leucocitos no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.

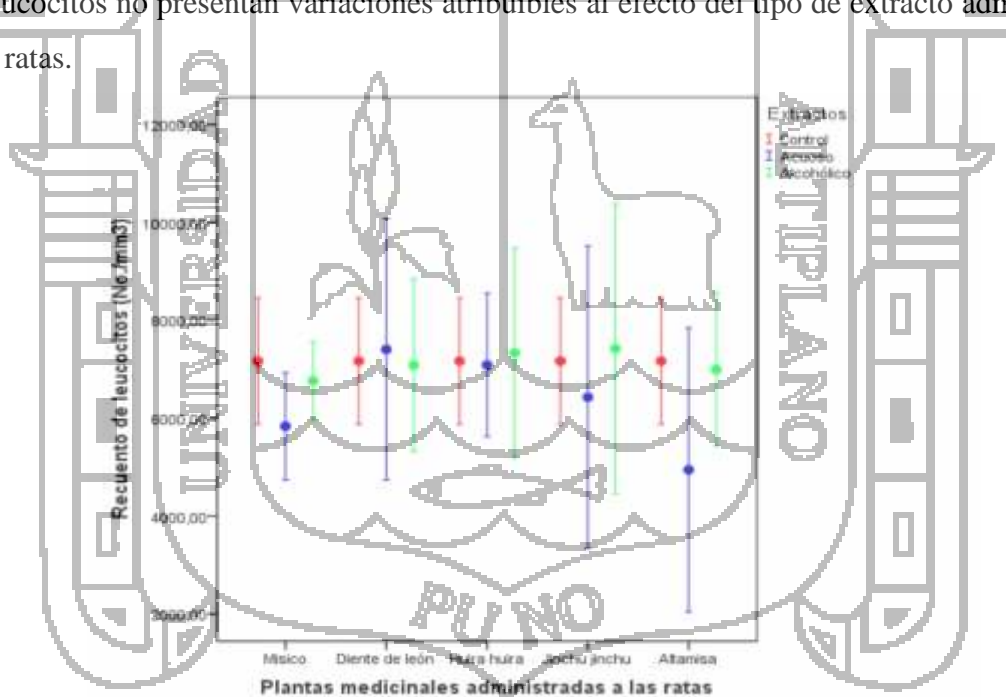


Figura 6. Valores de Leucocitos (No/mm^3) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

En la figura 6, se muestra el recuento de leucocitos indica que si hay aumento baja la probabilidad de que el organismo este sufriendo algún tipo de infección mientras la deficiencia es leucopenia causada por algún tipo de respuesta inmunológica e inflamación. En el cuadro se muestra que las ratas tratadas con, “diente de león” (*Taraxacum officinalis*)

y “huira huira” (*Pseudoglyphium spicatum*) se encuentra conforme al grupo control, mientras las ratas en los grupos tratados con “mishico” (*Bidens andicola*), “jincho jincho” (*Hieracium neoherrerae*) y “altamisa” (*Ambrosia arborescens*) hay deficiencia de leucocitos indicando una leucopenia debido a los síntomas tóxicos se encontró una respuesta inflamatoria. En comparación al tipo de extracto se mostró que el extracto metanólico mostro un ligero aumento que el extracto acuoso donde hay una deficiencia.

Cuadro 10. Valores de leucograma (%) según cada planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| Planta | Control | | “mishico” | | “diente de león” | | “huira huira” | | “jincho jincho” | | “altamisa” | |
|--------|-----------|-----------|-----------|-----------|------------------|----------|---------------|-----------|-----------------|-----------|------------|-----------|
| | AC | ME | AC | ME | AC | ME | AC | ME | AC | ME | AC | ME |
| LIN | 49,5±0,71 | 52,5±0,71 | 52±1,41 | 54,5±0,71 | 49,5±0,71 | 48±0,00 | 55±1,41 | 57,5±2,12 | 49±1,41 | 48±0,00 | 54±0,00 | 56,5±2,12 |
| SEG | 47±1,41 | 41,5±3,54 | 44±1,41 | 39±1,41 | 43,5±0,71 | 45±7,07 | 40±0,00 | 36±2,83 | 45±1,41 | 46,5±3,54 | 39±0,00 | 39,5±0,71 |
| ABA | 0,5±0,71 | 0±0,00 | 0±0,00 | 1±1,41 | 1,5±0,71 | 1±1,41 | 0±0,00 | 0,5±0,71 | 1,5±0,71 | 0,5±0,71 | 1±0,00 | 1±1,41 |
| MON | 0,5±0,71 | 3±1,41 | 1±0,00 | 3±1,41 | 0,5±0,71 | 2±2,83 | 3±1,41 | 3,5±0,71 | 1±0,00 | 1,5±0,71 | 1±0,00 | 1±1,41 |
| EOS | 2±0,00 | 2±0,00 | 2±0,00 | 1±1,41 | 4±0,00 | 2,5±2,12 | 1,5±0,71 | 2,5±0,71 | 3±4,24 | 3,5±3,54 | 1±0,00 | 1±1,41 |
| BAS | 0,5±0,71 | 1±1,41 | 1±0,00 | 1,5±0,71 | 1±0,00 | 1,5±0,71 | 0,5±0,71 | 0±0,00 | 0,5±0,71 | 0±0,00 | 1±0,00 | 1±0,00 |

Extr: extracto. LIN: linfocitos. SEG: segmentados. ABA: abastionados. MON: monocitos. EOS: eosinófilos. BAS: basófilos. AC: extracto acuoso. ME: extracto metanólico

Cuadro 11. Análisis factorial para valores de leucocitos diferenciales (%) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| FUENTE DE VARIACIÓN | G.L. | Linfocitos | Segmentados | Abastionados | Monocitos | Eosinófilos | Basófilos |
|---------------------|------|---------------|-------------|--------------|------------|-------------|------------|
| PLANTAS MEDICINALES | 5 | 0,01272921*** | 0,01590191* | 0,02121955 | 0,05846112 | 0,04691234 | 0,02579123 |
| TIPO DE EXTRACTO | 1 | 0,00247327 | 0,01133671 | 0,00178421 | 0,17224671 | 0,00372859 | 0,00042206 |
| ERROR EXPERIMENTAL | 16 | 0,00068663 | 0,00392278 | 0,02020814 | 0,02946532 | 0,050347 | 0,01026571 |

*Diferencia significativa

En el cuadro 11, los análisis de varianza indica que para el factor en estudio de plantas medicinales, se encontró diferencia estadística significativa para linfocitos y segmentados ($P < 0,05$), para el estudio de leucocitos diferenciales no se encontró diferencia estadística.

Cuadro 12. Prueba de Dunnett para valores de linfocitos y segmentados (%) según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

| Comparaciones | Linfocitos | | Leucocitos | |
|----------------------------|----------------------------|----------------------|----------------------------|----------------------|
| | Diferencia entre promedios | Significancia = 0,05 | Diferencia entre promedios | Significancia = 0,05 |
| “mishico” – control | 0,03947 | N.S | - 0,05676 | N.S |
| “huira huira” – control | 0,08959 | * | - 0,13501 | * |
| “diente de león” – control | - 0,04073 | N.S | - 0,00028 | N.S |
| “jincho jincho” – control | - 0,04540 | N.S | 0,03158 | N.S |
| “altamisa” – control | 0,08005 | * | - 0,10285 | N.S |

En el cuadro 12, la prueba de Dunnett para linfocitos, indica la existencia de diferencia estadística significativa ($P < 0,005$), para las plantas medicinales “huira huira” y “altamisa”, la administración oral por 90 días de extracto de estas plantas provoca el incremento de estos leucocitos en ratas Wistar.

Para segmentados, la prueba de Dunnett indica la existencia de diferencia estadística significativa para “huira huira” ($P < 0,05$), los valores de segmentados disminuyen con la administración oral de dicha planta (figura 7).

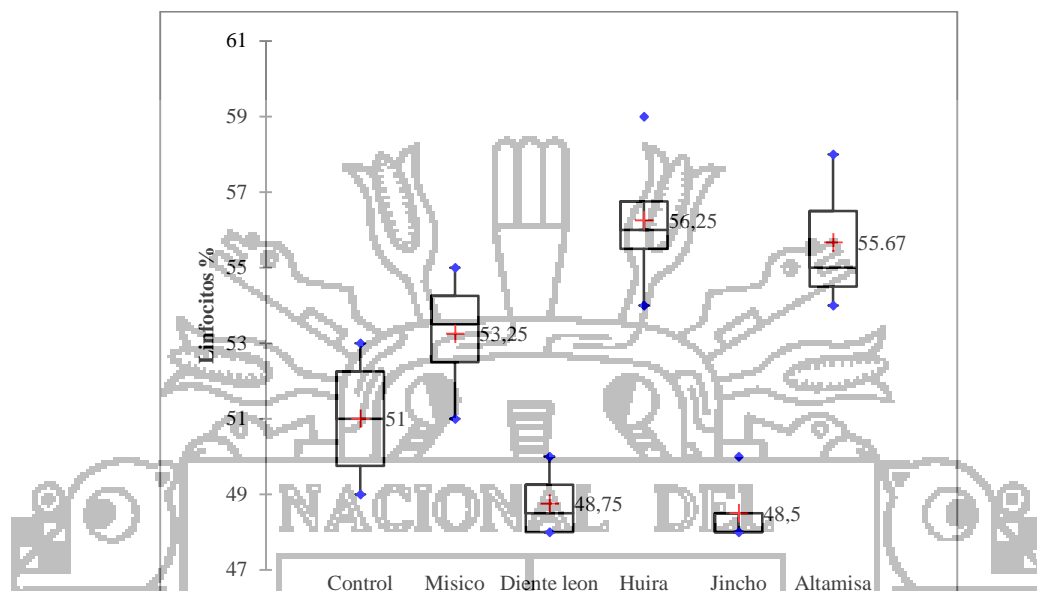


Figura 7. Valores de Linfocitos (%) según planta medicinal administrada vía oral por 90 días a ratas Wistar.

En la figura 7, se muestra el conteo de linfocito, donde hay un aumento de linfocitos en las ratas tratadas con “mishico”, “huira huira” y aún más en “altamisa”, evidencia que es por el proceso de infección que se estuvo iniciando en su organismo. Para las ratas tratadas con “diente de león” y “jincho jincho” hay una deficiencia, indicando que podrían estar recuperándose de una infección.

Cuadro 13. Análisis factorial para recuento de neutrófilos analizando según el tipo de planta y tipo de extracto.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 156,333 | 4 | 39,0833 | 1,36 | 0,2605 |
| B: Extractos | 35,2333 | 2 | 17,6167 | 0,61 | 0,5457 |
| RESIDUOS | 1523,77 | 53 | 28,7503 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 1715,33 | 59 | | | |

En el cuadro 13, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de las plantas medicinales, no se encontró diferencias significativas ($P > 0,05$) para los valores de neutrófilos, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presenta un efecto diferente en los valores de neutrófilos. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) no se encontró diferencia estadística ($P > 0,05$), lo que determina que

los valores de neutrófilos no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.

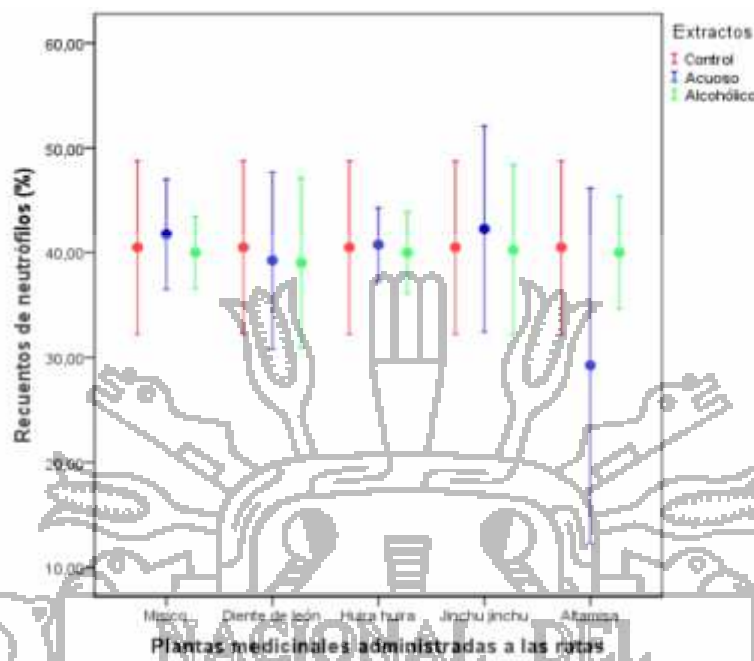


Figura 8. Valores de Neutrófilos % según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

En la figura 8 muestra el recuento de neutrófilos indica que si hay aumento es porque el organismo se está recuperando de una enfermedad o algún tipo de daño causado. En el cuadro se muestra que las ratas tratadas con “mishico” (*Bidens andicola*), “diente de león” (*Taraxacum officinalis*), “huira huira” (*Pseudognaphalium spicatum*) y “jincho jincho” (*Hieracium neoherreare*) los neutrófilos se encuentra conforme al grupo control, mientras que el grupo tratado con “altamisa” (*Ambrosia arborescens*) hay una deficiencia de los neutrófilos indicando una infección, debido a los síntomas encontrados durante el experimento. En comparación al tipo de extracto se mostró que el extracto metanólico mostro un ligero aumento, mientras en el extracto acuoso hay una deficiencia.

Cuadro 14. Análisis factorial para el recuento de monocitos según el tipo de planta y tipo de extracto.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 1,56667 | 4 | 0,391667 | 0,49 | 0,7415 |
| B: Extractos | 5,23333 | 2 | 2,61667 | 3,29 | 0,0451 |
| RESIDUOS | 42,1833 | 53 | 0,795912 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 48,9833 | 59 | | | |

En el cuadro 14, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de plantas medicinales, no se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$), para los valores de monocitos, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas

Wistar, presenta un efecto diferente en los valores de monocitos. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$), lo que determina que los valores de monocitos no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.



Figura 9. Valores de Monocitos % según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

En la figura 9. Para el recuento de monocito nos indica que si hay aumento es porque hay una infección bacteriana, son como los fagocitos del organismo que nos defiende que cualquier microorganismo extraño que nos invada, encontramos que en el grupo tratado con “hura hura”, “altamisa” y “misico” hay presencia con un ligero aumento de estos monocitos, y los grupos tratados con “diente de león” y “jincho jincho” están coinciden con los valores del grupo control.

Cuadro 15. Análisis factorial para recuento de eosinófilos según el tipo de planta y el tipo de extracto.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|-----------------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A: Plantas | 0,147779 | 4 | 0,0369447 | 0,48 | 0,7478 |
| B: Extractos | 0,442555 | 2 | 0,221278 | 2,90 | 0,0641 |
| RESIDUOS | 4,05062 | 53 | 0,0764267 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 4,64095 | 59 | | | |

En el cuadro 15, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de plantas medicinales, no se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$), para los valores de eosinófilos, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presenta un efecto diferente en los valores de eosinófilos. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$), lo que determina que

los valores de eosinófilos no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.

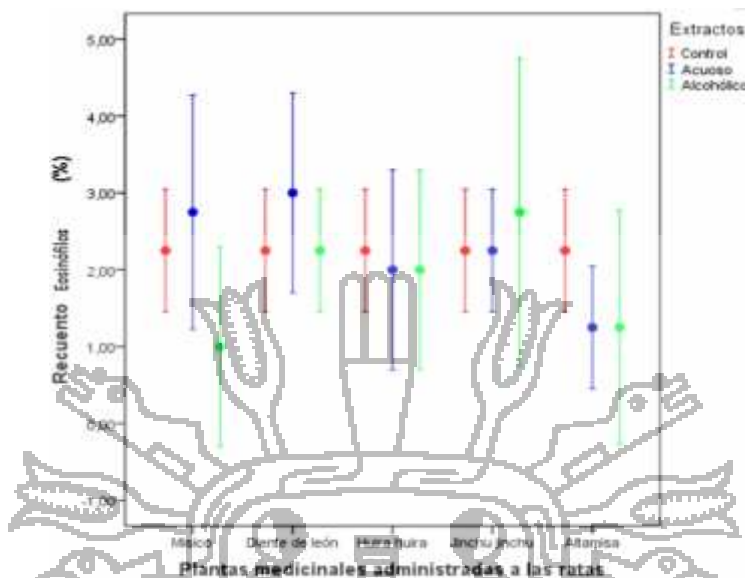


Figura 10. Valores de Eosinófilos % según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013.

En la figura 10, el recuento de eosinófilos nos indica que si hay aumento es porque hay una reacción alérgica, son como los fagocitos del organismo que nos defiende que cualquier microorganismo extraño que nos invada y que den una respuesta de hipersensibilidad, encontramos que en el grupo tratado con “huirahuirá”, “altamisa”, “con diente de león” y “mishico” solo hay presencia de estos eosinófilos, y el grupo tratado con “jincho jincho” hay un ligero aumento. Todo debido a los síntomas que se encontraron durante el experimento. Para los tipos de extractos; la coincidencia con el extracto metanólico es por la presencia del alcohol, que produce una respuesta alérgica.

Para el extracto acuoso de esta planta podría tener otra interpretación posible de este resultado es que algunos de estos metabolitos tienen un efecto selectivo sobre la médula ósea para la generación y maduración de eosinófilos sobre todo una respuesta del sistema inmunológico (Pérez, 2009).

Cuadro 16. Análisis factorial para el recuento de basófilos según el tipo de planta y tipo de extracto.

| Fuente | Suma de Cuadrados | Gl | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|----------------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| EFFECTOS PRINCIPALES | | | | | |
| A:Plantas | 0,0919164 | 4 | 0,0229791 | 0,31 | 0,8677 |
| B:Extractos | 0,0930864 | 2 | 0,0465432 | 0,63 | 0,5340 |
| RESIDUOS | 3,88522 | 53 | 0,0733061 | | |
| TOTAL (CORREGIDO) | 4,07023 | 59 | | | |

En el cuadro 16, el análisis de varianza indica que para el factor en estudio de las plantas medicinales, no se encontró diferencia significativa ($P < 0,05$) para los valores de basófilos, lo que determina que la administración de las plantas medicinales a ratas Wistar, presentan un efecto diferente en los valores de basófilos. Para el tipo de extracto (acuoso y metanólico) no se encontró diferencia estadística significativa ($P < 0,05$), lo que determina que los valores de basófilos no presentan variaciones atribuibles al efecto del tipo de extracto administrado a las ratas.



Figura 11. Valores de Basófilos % según planta medicinal y tipo de extracto administrado vía oral por 90 días a ratas Wistar, Puno 2013

En la figura 11, la presencia de basófilo en el organismo no tiene mucha significancia clínica, solo se presentan cuando hay un shock anafiláctico, pero otros autores manifiestan que si lo hay en aumento es porque hay la posibilidad de que el organismo tenga algún tipo de cáncer. Se evidencio su presencia en los grupos tratados con "jincho jincho", "diente de león" y "mishico", mientras que "huira huira" y "altamisa" estas coinciden con el grupo control Todo debido a los síntomas que se encontraron durante el experimento. Para los tipos de extractos esta de acorde con el grupo control.

CUADRO 17. Resumen de las pruebas hematológicas según Análisis factorial.

| PARÁMETROS | PLANTAS | EXTRACTOS |
|-------------|---------|-----------|
| Hematocrito | * | ** |
| Hemoglobina | * | ** |
| Leucocitos | N.S. | * |
| Linfocitos | N.S. | * |
| Neutrófilos | N.S. | N.S. |
| Monocitos | N.S. | * |
| Eosinófilos | N.S. | * |
| Basófilos | N.S. | N.S. |

En el cuadro 17 describimos todos los parámetros hematológicos analizados y evidenciamos que para el factor planta en resumen no hay mucha significancia clínica excepto en los análisis de hematoerito y hemoglobina, mientras que para el factor extractos si la presenta, sobre todo en el análisis de hematoerito, hemoglobina, recuento de leucocitos, linfocitos, monocitos y eosinófilos, lo que indica que si hubo alteración en el proceso de estos análisis.

La toxicidad subcrónica, evidencio síntomas con planta “altamisa” (*Ambrosia arborescens*), donde también nos indica Cruz (2009) que en la dosificación debe de usarse en dosis muy bajas puesto que puede causar síntomas de envenenamiento y confirma nuestra hipótesis, donde también menciona que contiene alcaloides encontrándose principalmente en las plantas femeninas y esto demostró la diferencia significativa para el examen hematológico para las ratas tratadas con esta planta.

La disminución de la hemoglobina, coincide con la disminución del peso que probablemente se deba a efectos anorexígenos del extracto, Arango *et al.* (2005), nos confirma que si hay deficiencia de la hemoglobina coincide con los resultados del proyecto. Rojas & Díaz (2009), indicaron que no observaron alteración en su forma leucocitaria, lo que observamos los mismos resultados en el estudio, observándose en todo momento células maduras acorde con su desarrollo. Lo propio Pérez *et al.* (2009) obtuvo en su estudio con *Phenax rugosus* con los extractos acuosos y metanólico, no mostro alteración en la forma leucocitaria. Al finalizar el ensayo, se sacrificaron todos los animales por dislocación cervical.

CONCLUSIONES

- La determinación de las pruebas fitoquímicas, evidenció la presencia de los metabolitos secundarios. Donde los alcaloides con más presencia "altamisa", con menos proporción en "jincho jincho". En cuanto a los fenoles están presente en todas las plantas excepto en "mishico". De las ftaleínas presentes en todas las plantas pero no en "jincho jincho". Para los taninos presente en "diente de león", "altamisa", pero en menos proporción "jincho jincho", "huira huira" y "mishico". En los carbohidratos presente en todas las plantas excepto en "diente de león" que está en menor proporción.
- La dosis usada que dieron las manifestaciones tóxicas ocasionada por las plantas fue de 5 mg/kg de peso en la cual que se obtuvo durante la experimentación durante 90 días se da con más frecuencia la somnolencia ocasionada por el "mishico" y más en el extracto acuoso, también se muestra la irritación ocular del ojo ocasionado por el "huira huira" del extracto acuoso; las legañas ocasionados por casi todas las plantas, edema zona del cuello en el "jincho jincho", erizamiento de la piel en "huira huira" y "altamisa", la irritación ocular en "diente de león"; en cuanto a los problemas de prolapso cervical y orquitis en ratas y tratadas con "altamisa".
- El las pruebas hematológicas se mostró que el resultado en cuanto al hematocrito y la hemoglobina estuvo muy deficiente con la planta tratada de "altamisa", para el recuento de leucocitos resulto deficientes para el grupo de "altamisa" y "jincho jincho", para el recuento de linfocitos estuvo deficiente para el grupo de "jincho jincho", para el recuento de monocitos estuvo deficiente par el grupo "altamisa", para el recuento de monocitos y para eosinófilos y basófilos no hubo alteración estuvo de acorde con el grupo control.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer más estudios a las plantas medicinales del Altiplano, tomando en cuenta su farmacología, farmacodinamia, farmacognosia, toxicología y otros campos de interés.
- En cuanto a las pruebas fitoquímicas realizar las pruebas cuantitativamente para ser efectivo los estudios a futuro.
- Hacer estudios experimentales con otros animales de laboratorio para tener más información certera y para posteriores estudios en humanos.
- Los estudiantes de la Facultad de Biología deben realizar estudios en plantas medicinales del Altiplano con o a través de animales de experimento como ratones, ratas, cobayos y conejos. Para fines científicos.



REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Arango M.; G. Isaza; A. Bohórquez; R. López; L. Chica. 2005. Determinación de la toxicidad subaguda de *Zebrina pendula* en ratas. Universidad de Caldas Colombia. Biosalud Revista Ciencias Básicas. 14: 56 – 66.
- Arteta B. M. 2008. Etnobotánica de Plantas vasculares en el centro poblado Llachon, distrito Capachica, Departamento Puno. Tesis para optar el título profesional de Biólogo. Arequipa – Perú.
- Anzora V. A. & C. Fuentes. 2008. Obtención de un colorante a partir de *Musa parasidiaca* (plátano verde) con aplicación en la industria textil. Trabajo de graduación para optar el grado de Licenciatura en Química y Farmacia. San Salvador.
- Avalos A. 2009. Metabolismo Secundario de Plantas. Revista Reduca Biología, serie biología vegetal. Pg. 119 – 145. Madrid – España.
- Bada B., A.; J. Santana; B. Gonzales; T. Gonzales; T. Yana; P. Arteaga; R. Gómez & A. Mancebo. 2012. Toxicidad crónica de polvo de taninos obtenidos de corteza de *Pinus cribaea* Morelet por vía oral en ratas. Editorial Ciencias Médicas. Ciudad la Habana.
- Bermúdez D.; E. Montegudo; M. Boffill; L. Díaz; A. Roca; Betancourt & S. Prado. 2007. Evaluación de la toxicidad aguda de los extractos de plantas medicinales por un método alternativo. Revista electrónica de Veterinaria Vol. VIII Numero 3.
- Bonilla P. & B. Pareja. 2001. Flavonoides de *Ephedra americana* (pinco pinco), acción biológica sobre el sistema inmunológico (Ig E). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Rev. Ciencia e Investigación. Volumen IV.
- Calatayud J. 2011. Compuestos fenólicos y flavonoides como marcadores bioquímicos de la respuesta a estrés abiótico en plantas tolerantes. Universidad Politécnica de Valencia.
- Calderón J. 2011. Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereña y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). Tesis para optar el título de Tecnóloga Química.
- Carrillo P. 2011. Comprobación del efecto Hipoglucemiante del Zumo del fruto de Noni (*Morinda cirifolia*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con hiperglucemia inducida. Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Ecuador/

- Cruz F. 2009. Elaboración y control de calidad del gel antimicótico de manzanilla (*Matricaria chamomilla*), matico (*Aristiguietia glutinosa*) y marco (*Ambrosia arborescens*) para neo – fármaco. Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Ecuador.
- Cruz G. 2012. Estudio folklórico de algunas plantas medicamentosas y toxicas de la región norte del Perú. Instituto Nacional de Salud. Apartado postal 471.
- Chávez S. 2005. Propagación y micropropagacion de *Agave marmorata* Roehl. (Agavácea), la determinación de sus metabolitos secundarios y su uso como planta medicinal. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa – México.
- Del Carpio Y. 2008. Manual de consulta para la cátedra universitaria. Hematología. Facultad de Biología de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno.
- Del Vitto A. & M. Petenatti. 2009. Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis Morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial herbario y jardín botánico. Universidad Nacional San Luis. Argentina.
- Díaz L. 2010. Efecto de la infusión de *Azorella compacta* (Ilareta) sobre el nivel de glucemia basal en ratas experimentales normales. Tesis para optar el título de Nutrición Humana. Puno.
- Espititia E.; H. Duran; F. Fandiño; F. Díaz; H. Gómez. 2011. Química y biología del extracto etanólico del epicarpio de *Crescentia cujete* L. (totumo) Revista Cubana de Plantas Medicinales de Colombia 16(4): 337 – 346.
- Fuentes P. Flores de M., R. Mendoza; A. Rosales & R. Cisneros. 2008. Centro Nacional de Productos Biológicos. Instituto Nacional de Salud, Lima.
- García M.; C. Díaz & R. Villalobos. 2008. Estudio toxicológico y farmacológico de los extractos hidroalcoholicos de algunas especies de *Smilax* de Centroamérica. Revista de Fitoterapia. Costa Rica. 8: 49 – 57.
- Gonzales Y., I. Scull; A. Bada; B. Gonzales; D. Fuentes; M. Arteaga; E. Santana & O. Hernández. 2003. Ensayos de toxicidad a dosis repetida del extracto acuoso de *Morinda royoc* L. en ratas Cenp: SPRD. Rev. Cubana Plantas Medicinales. La Habana.
- Gonzales J., V. Benavides; R. Rojas & J. Pino. 2007. Efecto embriotoxicico y teratógeno de *Ruta chalepensis* L. “ruda”, en ratón (*Mus musculus*) Rev. Biológica. Avances de las Ciencias Biológicas. Lima – Perú.

- Grateron C. 2006. Biotransformación de colorantes orgánicos en procesos catalizados con peroxidasas de palma Real (*Roystonea regia*). Tesis para optar el título de Químico. Universidad Industrial Santander. Colombia.
- Hoogesteger C. 1994. Uso de plantas medicinales. Árbol Editorial, S.A. México. 173 pg.
- Isaza G., M. Arango; P. Butirica & H. Marulanda H. 2005. Determinación de la toxicidad subcronica de la *Zebrina péndula* en ratones. Universidad Caldas Colombia. Revista Blosalus. 14: 67 – 77.
- Kulinski, C. 2000. Farmacognosia. Estudio de la drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ediciones Omega S.A. Barcelona.
- Lagarto A.; J. Tillan; R. Vega & Y. Cabrera 1999. Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos. Revista Cubana Plantas Medicinales. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. 1(4): 8 – 26.
- Lagarto A. & M. Guerra. 2000. Toxicidad aguda oral de 3 formas farmacéuticas a partir de *Cassia grandis* L. Centro de Investigación de Desarrollo de Medicamentos. Departamento de Investigaciones Biológicas. Revista Cubana Plantas Medicinales.
- Lagarto A., J. Tilla; V. Bueno; I. Chávez; I. Guerra; Y. Vega; O. Valdés; T. Gabilondo. 2005. Toxicidad aguda oral y subcronica en ratas de una extracto acuoso liofilizado de *Ocimum tenuiflorum* L. Revista de toxicología. 22: 175 – 179. España.
- Larraine B. & R. Dreisbach. 2003. Manual de toxicología clínica de Dreisbach: prevención, diagnóstico y tratamiento. 7ma edición. Editorial El manual moderno México.
- López N. 2000. Efecto hematológico por radiaciones ultravioleta en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*). Tesis para optar el título de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano – Puno.
- Macías B. 2009. Intoxicaciones por plantas toxicas atendidas desde un servicio de información toxicológica. Centro Toxicológico y Biomedicina (TOXIMED). Cuba Editorial Ciencias Médicas.
- Martínez M., J. Betancour; A. Ramírez; H. Barcelo; R. Meneses & A. Latinez. 2000. Evaluación toxicológica aguda de los extractos fluidos al 30 y 80 % de *Cymbopogon citratus* (D.C.) stapf (caña santa). Instituto Superior de Ciencias Médicas la Habana.
- Martínez A., G. Valencia; N. Jiménez & M. Galeano. 2008. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica. Departamento de farmacia. Universidad de Antioquia.

- Martínez Y., F. Soto; M. Almeida; R. Hermosilla & O. Martínez. 2012. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana *in vitro* de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). Rev. Cubana plantas medicinales. Vol. 17.
- Medina M. 1997. Estudio fitoquímico de *Ephedra americana* H. & B. Tesis para optar el título Biólogo. Universidad Nacional de San Agustín Arequipa – Perú. Pg. 54.
- Mostacero J., L. Castillo; F. Mejía; J. Charcape; R. Ramírez & O. Gamarra. 2011. Plantas medicinales del Perú: taxonomía, ecogeografía, fenología y etnobotánica. Editorial Concytec. Trujillo – Perú. 1332 pgs.
- Mora L., E. Galeano & E. Durango. 2012. Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia I. Universidad de Antioquia. Medellín.
- Ocaña B. 2009. Estudio de la toxicidad subcrónica de *Nano plata* en ratas Wistar. Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico, Escuela superior Politécnica de Chimborazo – Ecuador.
- OMS. 2008. Organización Mundial de la Salud. Incluye información valiosa en salud y plantas medicinales.
- Osorio E. J. 2009. Aspectos básicos de Farmacognosia. Universidad de Antioquia – Medellín.
- Pastor J. 2004. Ministerio de Sanidad y consumo publicación en el Boletín Oficial del Estado. Madrid.
- Pereida S., D. Vega; M. Almeida & G. Morales. 2009. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreos y acuosos de las hojas de la *Trichilia hirta* L. Universidad de Granada Bayanos, Cuba Cp. 85100. ISSN 1666 – 7948. Revista Química Viva Núm. 3.
- Pérez J.; G. Isaza; S. Acosta & J. Sepúlveda. 2009. Ensayos preliminares sobre los efectos en el hemograma de los extractos acuoso y metanólico de *Phenax rugosus* (Poir) Wedd y *Tabebuia crisantha* G. de la Universidad Caldas de Colombia. Revista Biosalud. 8: 17 – 28.
- Pérez M.; M. Sueiro; C. Boffill; de los Ángeles; C. Morón & C. Marrero. 2001. Validación de un método *in vivo* para evaluar la actividad diurética. Universidad de Ciencias Médicas de Villa Clara, Cuba.
- Quert, Front. P. 1985. Plantas medicinales. El Dioscórides Renovado. Editorial Labor S.A. Barcelona. España. 1033 pg.

- Ramos S. 2004. Salud y fitoterapia, uso de las plantas medicinales en problemas de salud. Tesis para optar el título modalidad examen insuficiencia de Licenciado en Biología. Universidad Nacional del Altiplano – Puno.
- Ramírez H.; M. Palacios & O. Gutiérrez. 2006. Efectos diuréticos de la especie *Salvia scutellarioides* en ratas. Biomédicas.
- Rico A. G.; M. Victoria; M. Wagner & A. Gurni. 2002. Taninos condensados de *Ephedra chilensis* K. PRESL – Ephedraceae Cátedra de Farmacobotánica. Buenos Aires – Argentina.
- Rodón L.; J. Frías; M. Saavedra & L. Cardidad de la Paz. 2010. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreos y acuoso de hojas y flores de la *Turnera ulmifolia* L. ATD Universidad de Granma. Cuba.
- Rojas J. & D. Díaz. 2009. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima – Perú.
- Soukp SDB, J. 1972. Vocabulario de los nombres vulgares de la flora Peruana y catálogo de los géneros. Editorial Salesiana. Lima – Perú, págs. 382.
- Tapia J. 2012. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y subextracto clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis* y *Coursetia dubia*. Tesis de grado previa obtención título de Bioquímico Farmacéutico Riobamba – Ecuador.
- Torres G.; M. Martínez & M. Días de Salas. 2008. Estudio fitoquímico de plantas medicinales propias del estado de Queretaro. Universidad Autónoma de Zacatecas. México.
- Umaña M. 2003. Toxicidad de las plantas medicinales. Revista de plantas medicinales. Costa Rica.
- Vega D.; S. Pereida; C. Almeida & C. Morales. 2009. Tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas, tallos y flores de la *Ixora coccinea* L. Universidad de Granma – Cuba. Revista Química Viva, núm. 3.

WEB – GRAFÍA

Lastras, P. Artículo enviado por Pablo Lastras el 13 de Octubre, 2008. Plantas medicinales.

<http://saludbio.com/articulo/extractos-de-plantas-medicinales-principios-activos-para-tu-salud>

Palacios Palacios M. Introducción a la Farmacognosia, publica el 30 de noviembre, 2008.

<http://farmacognosia-farmacialuladech.blogspot.com/>

Valdivia I. & Melinda M. Plantas toxicas. Internista – Toxicología Hospital Arzobispo Loayza M.

Valdivia I. – Toxicología.

http://www.bvsde.paho.org/bvstox/e/cursos/peru_julio07/dia06/05_valdivia.pdf

Valores referenciales de hemograma de animales.

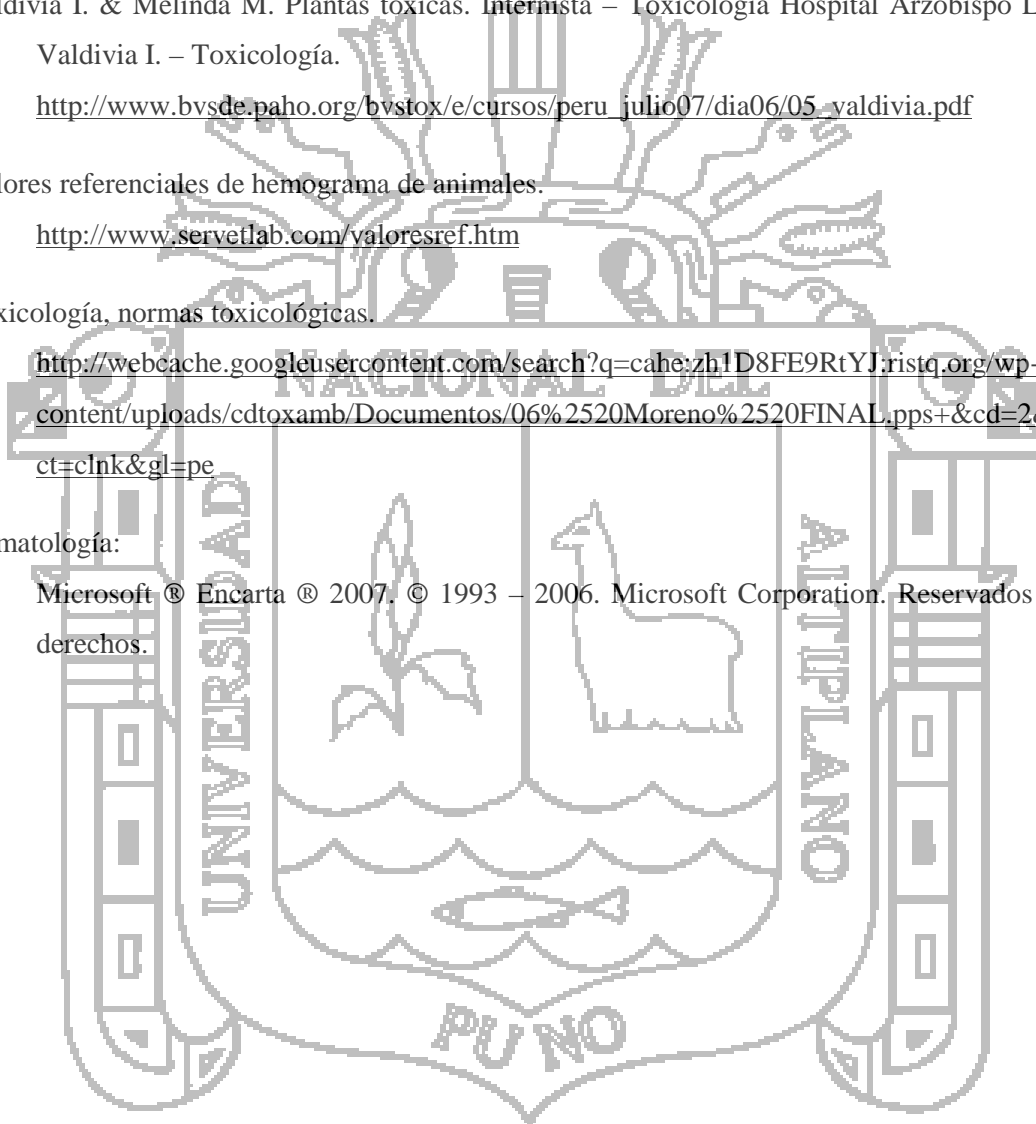
<http://www.servetlab.com/valoresref.htm>

Toxicología, normas toxicológicas.

<http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:zh1D8FE9RtYJ.ristq.org/wp-content/uploads/cdtoxamb/Documentos/06%2520Moreno%2520FINAL.pps+&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=pe>

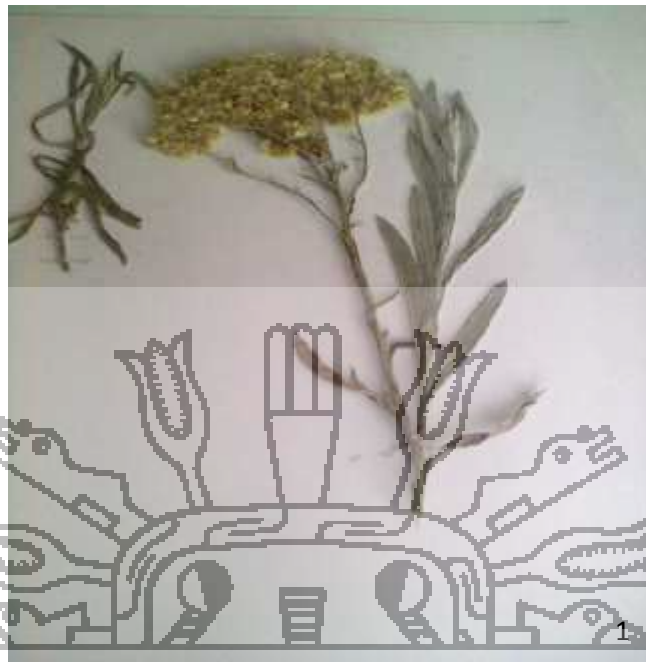
Hematología:

Microsoft © Encarta © 2007. © 1993 – 2006. Microsoft Corporation. Reservados todos los derechos.





MUESTRAS COLECTADAS



Fotografía 1. “huira huira” *Pseudogmaphalium spicatum* Lamark.



Fotografía 2. “altamisa” *Ambrosia arborescens* Miller.



3

Fotografía 3. “misico” *Bidens andicola* Humbolt, Bompland y Kunth.



4

Fotografía 4. “diente de león” *Taraxacum officinale* Wiggers.



Fotografía 5. “jincho jincho” *Hieracium neoherrerae* Zahn.

PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS



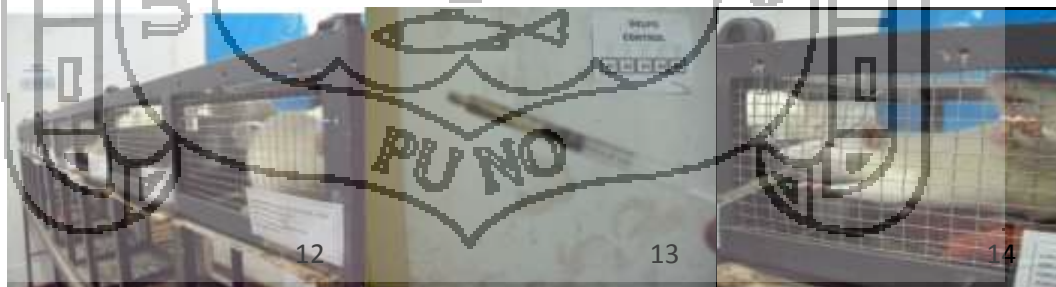
Fotografía 6,7 y 8. Preparación de los extractos acuoso y metanólico. Se pesa 5 mg para las pruebas fitoquímicas y las dosis empleadas.

PRUEBAS FITOQUÍMICAS



Fotografía 9, 10 y 11. Con las coloración se determina si presenta o no los metabolitos. Parte central alcaloides y la derecha carbohidratos.

PARA LAS PRUEBAS TOXICOLÓGICAS, EN EL BIOTERIO DE LA FACULTAD MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA.



Fotografía 12, 13 y 14. En la izquierda, las jaulas, en el centro las dosis empleadas y la derechas la administración vía oral.

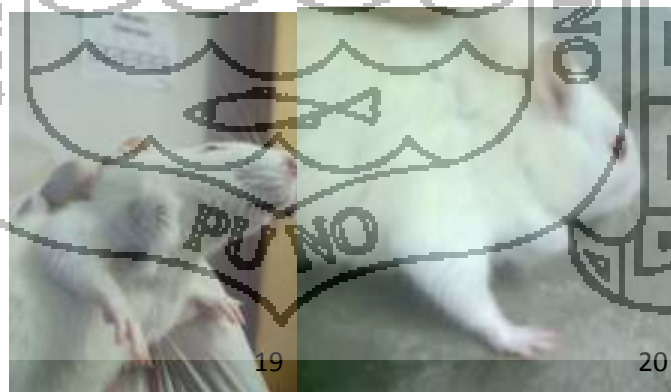
PRUEBAS TOXICOLÓGICAS



Fotografía 15 y 16. Observación de todos los síntomas que puedan presentar y pensándolos cada 30 días.



Fotografía 17 y 18. Se muestra el prolapso cervical ocasionado por “altamisa”.



Fotografía 19 y 20. Se produce un edema ocasionado por “jincho jincho”



Fotografía 21 y 22. En la izquierda se muestra la irritación ocular ocasionada por “huira huira” y en la derecha orquitis ocasionada por “altamisa”.



Fotografía 23. Colecta de muestras sanguíneas obtención de la cola.

Cuadro 18. Se muestra el resultado de todos los parámetros hematológicos aplicando en programa SPSS 15.0 de Microsoft.

| Planta | Parámetro | Control | | | | Extracto acuoso | | | | Extracto metanólico | | | |
|------------------|-----------------------------------|---------|--------|--------|--------|-----------------|--------|--------|--------|---------------------|--------|--------|--------|
| | | Inicio | Día 30 | Día 60 | Día 90 | Inicio | Día 30 | Día 60 | Día 90 | Inicio | Día 30 | Día 60 | Día 90 |
| "mishico" | Hematocrito (%) | 56 | 54 | 54 | 54 | 51 | 56 | 56 | 56 | 59 | 58 | 57 | 58 |
| | Hemoglobina (g/dl) | 19 | 18 | 18 | 18 | 17 | 19 | 19 | 19 | 20 | 19 | 19 | 19 |
| | Leucocitos (No./mm ³) | 7078 | 7082 | 8241 | 6266 | 5672 | 5085 | 6752 | 5841 | 7226 | 6292 | 7165 | 6370 |
| | Linfocitos (%) | 59 | 52 | 59 | 51 | 57 | 50 | 58 | 52 | 53 | 55 | 58 | 55 |
| | Neutrófilos (%) | 36 | 45 | 36 | 45 | 38 | 45 | 40 | 44 | 41 | 42 | 37 | 40 |
| | Monocitos (%) | 3 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 | 4 | 3 | 4 | 3 |
| | Eosinófilos (%) | 2 | 2 | 3 | 2 | 3 | 4 | 2 | 2 | 2 | 0 | 1 | 1 |
| | Basófilos (%) | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 |
| "diente de león" | Hematocrito (%) | 56 | 54 | 54 | 54 | 50 | 56 | 55 | 51 | 59 | 56 | 55 | 51 |
| | Hemoglobina (g/dl) | 19 | 18 | 18 | 18 | 17 | 19 | 18 | 17 | 20 | 19 | 18 | 17 |
| | Leucocitos (No./mm ³) | 7078 | 7082 | 8241 | 6266 | 5100 | 9091 | 7947 | 7482 | 8127 | 7446 | 7233 | 5525 |
| | Linfocitos (%) | 59 | 52 | 59 | 51 | 56 | 62 | 57 | 50 | 62 | 61 | 56 | 48 |
| | Neutrófilos (%) | 36 | 45 | 36 | 45 | 42 | 33 | 37 | 45 | 34 | 37 | 39 | 46 |
| | Monocitos (%) | 3 | 1 | 2 | 2 | 1 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 3 | 2 |
| | Eosinófilos (%) | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 3 | 3 | 4 | 2 | 2 | 2 | 3 |
| | Basófilos (%) | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 2 |
| "huira huira" | Hematocrito (%) | 56 | 54 | 54 | 54 | 54 | 55 | 55 | 54 | 56 | 59 | 54 | 57 |
| | Hemoglobina (g/dl) | 19 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 18 | 19 | 20 | 18 | 19 |
| | Leucocitos (No./mm ³) | 7078 | 7082 | 8241 | 6266 | 7889 | 7877 | 6331 | 6254 | 7386 | 7155 | 5762 | 9047 |
| | Linfocitos (%) | 59 | 52 | 59 | 51 | 59 | 55 | 51 | 55 | 55 | 58 | 53 | 58 |
| | Neutrófilos (%) | 36 | 45 | 36 | 45 | 38 | 42 | 43 | 40 | 40 | 40 | 43 | 37 |
| | Monocitos (%) | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 2 | 2 | 2 | 4 |
| | Eosinófilos (%) | 2 | 2 | 3 | 2 | 1 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 2 | 3 |
| | Basófilos (%) | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| "jincho jincho" | Hematocrito (%) | 56 | 54 | 54 | 54 | 52 | 52 | 54 | 51 | 56 | 53 | 58 | 50 |
| | Hemoglobina (g/dl) | 19 | 18 | 18 | 18 | 17 | 17 | 18 | 17 | 19 | 18 | 19 | 17 |
| | Leucocitos (No./mm ³) | 7078 | 7082 | 8241 | 6266 | 8943 | 6954 | 4691 | 5124 | 9421 | 7783 | 7560 | 4917 |
| | Linfocitos (%) | 59 | 52 | 59 | 51 | 61 | 52 | 56 | 49 | 60 | 58 | 55 | 48 |
| | Neutrófilos (%) | 36 | 45 | 36 | 45 | 34 | 47 | 41 | 47 | 35 | 41 | 38 | 47 |
| | Monocitos (%) | 3 | 1 | 2 | 2 | 3 | 1 | 2 | 1 | 3 | 1 | 4 | 2 |
| | Eosinófilos (%) | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 1 | 3 | 4 |
| | Basófilos (%) | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 |
| "altamisa" | Hematocrito (%) | 56 | 54 | 54 | 54 | 55 | 48 | 26 | 23 | 55 | 59 | 54 | 47 |
| | Hemoglobina (g/dl) | 19 | 18 | 18 | 18 | 18 | 16 | 9 | 8 | 18 | 20 | 18 | 16 |
| | Leucocitos (No./mm ³) | 7078 | 7082 | 8241 | 6266 | 6126 | 6876 | 3326 | 3453 | 8072 | 7557 | 5965 | 6374 |
| | Linfocitos (%) | 59 | 52 | 59 | 51 | 55 | 62 | 26 | 27 | 60 | 53 | 55 | 57 |
| | Neutrófilos (%) | 36 | 45 | 36 | 45 | 42 | 34 | 21 | 20 | 36 | 44 | 39 | 41 |
| | Monocitos (%) | 3 | 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| | Eosinófilos (%) | 2 | 2 | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 0 | 2 | 1 |
| | Basófilos (%) | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |