

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**Evaluación del efecto histopatológico del infuso de
inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. sobre órganos de
Rattus norvegicus var. *albinus*.**

TESIS I

AUTORES:

JULIÁN DÁVALOS MADELEYNE MAKARENA

VÁSQUEZ MUÑOZ ARTURO ALEJANDRO

ASESORA:

Q.F. SILVA CORREA CARMEN ROSA

Trujillo - Perú

2016

DEDICATORIA

A Dios:

*Por ser quien nos dio la vida, a él que
me ha dado humildad, paciencia,
fortaleza y bendiciones, y por cada
persona maravillosa que ha puesto en mi
camino que han sido mi soporte y
compañía en esta vida.*

A mis padres:

Jorge Julián y María Dávalos

*Por ser los mejores padres que Dios me
ha dado, mis mejores amigos. Gracias
por el amor, sus consejos y la confianza
que depositaron en mí. Son mi fortaleza
cada día de mi vida.*

Los amo.

A mi compañero de tesis:

*Arturo por ser un buen compañero,
amigo y por el apoyo en el desarrollo
y culminación de este trabajo.*

Madeleyne Makarena Julián Dávalos

A nuestro padre celestial:

Dios, por su bendición, esperanza y fe en la realización del presente trabajo de tesis

A mis padres:

Por su confianza, perseverancia y motivación en la realización del presente trabajo de tesis.

A mis abuelos:

Los cuales fueron mi inspiración para seguir con esta vida profesional.

A mis amigos:

Wilson, Miguel, Christian, Frank, Joan y Elmer.

Gracias por su apoyo y amistad.

A mi compañera de tesis:

Makarena por ser una buena amiga y compañera en la culminación de este trabajo

A una persona especial:

Malena por sus consejos y apoyo.

Gracias a todos, porque cada día me ayudan de alguna manera, a superarme como persona y en mi formación profesional.

Arturo Alejandro Vásquez Muñoz

AGRADECIMIENTO

*A nuestra asesora **Q.F Carmen Rosa Silva Correa** docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, a quien mostramos nuestra gratitud por su dedicación como profesional, incondicional colaboración, paciencia, apoyo, confianza y su gran amistad. Gracias por darnos la oportunidad de crecer profesionalmente y aprender cosas nuevas. Por los conocimientos brindados y por guiarnos en cada paso hacia el desarrollo y culminación de este trabajo.*

Los Autores

PRESENTACIÓN

Señores Miembros del Jurado Dictaminador:

Dando cumplimiento a lo establecido por el reglamento de grados y títulos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo, nos es grato someter a vuestra consideración y elevado criterio profesional, el informe de Tesis I titulado “**Evaluación del efecto histopatológico del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. sobre órganos de *Rattus norvegicus* var. *albinus***”

De manera muy especial agradecemos la colaboración de los señores miembros del jurado. Dejamos a vuestra consideración señores Miembros del Jurado, a respectiva calificación del presente informe.

Trujillo, Noviembre del 2016

Julián Dávalos Madeleyne Makarena

Vásquez Muñoz Arturo Alejandro

JURADO DICTAMINADOR

Mg. José Lizardo Cruzado Razco

Presidente

Q.F. Carmen Rosa Silva Correa

Miembro

Q.F. Víctor Villareal La Torre

Miembro

INDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
I. INTRODUCCION.....	3
II. MATERIAL Y MÉTODO.....	8
III. RESULTADOS.....	15
IV. DISCUSION.....	28
V. CONCLUSIONES.....	33
VI. RECOMENDACIONES.....	34
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
VIII. ANEXOS.....	41

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto histopatológico del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. sobre órganos de *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Se utilizaron 20 ratas albinas, machos y hembras, con peso entre 150 – 200 g, los cuales fueron distribuidos al azar en dos grupos experimentales de 10 ratas (5 de cada sexo). Un grupo testigo, con administración de 2 ml de solución salina fisiológica y el otro grupo problema, al cual se le administró por vía oral el infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. en dosis de 500 mg/Kg, una vez/día, durante 28 días. Al final del experimento se extrajo los órganos de todos los grupos experimentales para el estudio histopatológico, analizándose parámetros microscópicos. En el estudio histopatológico no se observó daños tóxicos evidentes en los casos de hígado, pulmón, estómago, cerebro, testículo u ovario, no obstante el riñón de ambos sexos evidenciaron congestión leve a moderada así como congestión glomerular que podrían deberse a la presencia de lactonas sesquiterpénicas que presenta la planta. No se produjo efectos significativos de daño y necrosis celular. La administración oral a dosis repetidas de 28 días del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. en ratas no produce toxicidad significativa. Se recomienda evaluar el consumo prolongado del infuso por aparente daño renal observado.

Palabras claves: Toxicidad, órganos, infuso, inflorescencias, *Tessaria integrifolia* R. et. P., *Rattus norvegicus* var. *albinus*.

ABSTRACT

The objective was to determine the effect of histopathologic infusion of inflorescences *Tessaria integrifolia* R. et. P. on organs *Rattus norvegicus* var. *albinus*. 20 albino rats, males and females were used, weighing between 150 - 200g, which were randomly distributed in two experimental groups of 10 rats (5 of each sex). A control group with administration of 2 ml of physiological saline and another group problem, which was administered orally the infusion of inflorescences *Tessaria integrifolia* R. et. P, dosed at 500 mg / kg, once / day for 28 days. At the end of the experiment the organs of all experimental groups for histopathological research was extracted and analysing microscopic parameters. Histopathology not evident toxic damage in cases of liver, lung, stomach, brain, testis or ovary, however kidney of both sexes showed mild to moderate congestion and glomerular congestion. This may be due to the presence of lactones sesquiterpene plant. There was no significant effect of cell damage and necrosis. Oral administration to repeated dose of infusion for 28 days inflorescence of *Tessaria integrifolia* R. et. P. in rats produced no significant toxicity. It is recommended to evaluate the prolonged use of infusion by apparent kidney damage.

Keywords: Toxicity, organs, infusions, inflorescences, *Tessaria integrifolia* R. et. P, *Rattus norvegicus* var. *Albinus*.

I. INTRODUCCIÓN

El empleo de plantas medicinales con fines curativos ha sido documentado en la medicina tradicional asiática a partir del año 3000 a.C. Según informes de la Organización Mundial de la Salud, cuatro billones de personas en el mundo usan terapias a base de plantas medicinales o derivados de plantas. Existe la creencia popular de que este tipo de sustancias son inocuas para la salud, no existiendo ningún riesgo en su consumo¹.

Las plantas medicinales constituyen un remedio curativo empleado desde la antigüedad por el hombre. Esta práctica es de gran importancia ya que amplía el arsenal terapéutico y carece de efectos secundarios significativos. Por este motivo se realizan numerosas investigaciones con el objetivo de determinar la actividad farmacológica y la toxicidad de plantas medicinales².

En la actualidad en grandes sectores de la población peruana y específicamente en las zonas rurales del Perú, se viene utilizando como tradición heredable a través de cuantiosas generaciones a las plantas medicinales; debido a que sus hojas, flores, semillas, cortezas, raíces, frutos o cualquier otro órgano de la planta posee propiedades terapéuticas sustentadas empíricamente y que son aprovechadas por los pobladores haciendo uso de la materia vegetal en forma de infusiones, decoctos, baños, emplastos, frotaciones y otros^{3,4}.

Las plantas medicinales constituyen una valiosa alternativa terapéutica y su validación científica es una necesidad. No se puede limitar a la sabiduría popular la seguridad y eficacia de una planta, porque cada parte tiene numerosas sustancias con actividad

biológica, capaces potencialmente de producir efectos tóxicos. La introducción de estas en la terapéutica debe efectuarse sobre una base científica que valide tanto sus acciones farmacológicas como su toxicidad⁵.

Existen plantas tóxicas que pueden ser dañinas en órganos específicos, como por ejemplo producir toxicidad hepática con sus dos principales manifestaciones: la hepatitis y la enfermedad veno-oclusiva hepática. La hepatotoxicidad está relacionada con la susceptibilidad individual, la vía de exposición y la cantidad ingerida. Se ha asociado toxicidad hepáticas a plantas como el chaparral (*Larrea divaricata*) usado como analgésico, antiinflamatorio e inclusive como antídoto para el LSD (N, N,-dietilamida del ácido lisérgico normal), camedrio (*Teucrium chamaedrys*), chuca (*Packera candidissima*), y especies de efedra, entre otras. Los alcaloides pirrolizidínicos presentan esta toxicidad. Podemos destacar la *Crotalaria assmica* o la *Crotalaria sessiliflora*, de la familia de las leguminosas, u otras especies como el *Senecio chysanthemoides*. Los síntomas de este tipo de intoxicación incluyen hipertensión arterial e hipertrofia ventricular derecha. La asociación de las plantas con la hepatotoxicidad es generalmente incompleta o parcial, los informes al respecto son pocos concluyentes y es limitado el conocimiento del que se dispone sobre su mecanismo patológico^{3,6}.

Los tóxicos de los vegetales se hallan en sus principios activos, que pueden ser alcaloides, glucósidos, fitotoxinas o toxoalbúminas y oxalatos. La toxicidad puede estar generada por la misma planta o por la planta contaminada en procesos accidentales o ambientales. Bien a través de la raíz o bien sobre los tejidos. En estos casos la toxicidad no es propia del vegetal. El cuadro de toxicidad general y renal está en función de la dosis, el

sujeto y diversos factores. La intoxicación es por vía digestiva siendo necesaria una cantidad importante de vegetal. Las lesiones renales pueden ser glomerulares (toxalbuminas), tubulares (alguno hongos) u obstructivas (cristales de oxalato cálcico). Tenemos como ejemplos a: ***Daphne mezereum*** (Mezéreon) Familia de las Tímeleáceas. Contiene dafnina, glucósido amargo con dehidrocumarina y mezereina (resina tóxica) Produce nefritis con hematuria y proteinuria. Tiene un sabor muy amargo que limita la posibilidad de ingerir grandes dosis. ***Actaea spicata*** (Hierba de San Cristóbal) Familia de las Ranunculáceas. Contiene un glucósido que libera protoanemonina (muy irritante) Es de eliminación renal causando lesiones con hematuria y anuria. ***Juniperus communis*** (Enebro común o real) Familia de las Cupresáceas. Sus bayas contienen un aceite con alfa-pineno y terpinol. Puede provocar disuria y hematuria. ***Rhamnus frangula*** (Arraclán, Chopera) Familia de las Ramnáceas. Contiene glucofrangulina que por oxidación se transforma en franguloemodina y d-glucosa. Entre otros problemas causa NFT (Nefritis). ***Rhamnus catharticus*** (Cambrónero, Espino Cervat) Familia de las Ramnáceas. Sus drupas contienen ramnoemodina, y se ha descrito nefrotoxicidad. ***Ricinus communis*** (Ricino, Higuera infernal) Familia de las Euforbiáceas. Sus semillas contienen toxalbumina (ricino) Como dosis letal se describen 6 semillas. Produce IRA (Insuficiencia renal aguda) por lesiones tubulares⁷.

El *Peumus boldus* (boldo) pertenece a la familia Monimiácea y es propia de las regiones andinas de Chile, Perú y Ecuador. Sus hojas son comúnmente empleadas en la medicina tradicional para problemas asociados al hígado. Presenta entre sus componentes la boldina, flavonoides y catequinas las cuales han demostrado efectos benéficos, sobre todo como antiinflamatorios y antioxidantes, por lo cual podrían influir en el estrés oxidativo

presente en la EP (Enfermedad de Parkinson). Sin embargo, también presenta cantidades considerables de tetrahydroisoquinolonas, una neurotoxina que se encuentra en pesticidas y que ha sido firmemente asociada al desarrollo de EP. Según la Organización Mundial de la Salud, más de 80% de la población mundial usa preparaciones botánicas como medicina tradicional, es por ello la necesidad de conocer los efectos negativos del consumo de plantas medicinales ⁸.

Tessaria integrifolia Ruiz et Pavón es conocida comúnmente como “pájaro bobo”, pertenece a la familia Asteraceae y se usa en la medicina tradicional peruana como agente antiasmático y antiinflamatorio⁹.

Tessaria integrifolia es un arbusto de 3-4 m de altura en cultivo, con tronco corto y ramificación irregular. Hojas alternas, enteras, cortamente pecioladas, linear-lanceoladas, de 7-15 cm de longitud, de color verde lustroso, con la nerviación lateral poco perceptible. Inflorescencia terminal o lateral con varias flores de color amarillo o amarillo anaranjado en forma de embudo y de 4-6 cm de longitud. Fruto en drupa algo carnosa, globosa, de 4-5 cm de diámetro, de color verde negruzco en la madurez. Cultivo y usos: Se multiplica por semillas. Es planta de rápido crecimiento y muy resistente a condiciones adversas ⁵.

Actualmente la mayor parte de la población utiliza plantas medicinales para curar sus afecciones de salud. Por este motivo, algunas organizaciones internacionales como la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) proponen la evaluación toxicológica a través de ensayos en animales de experimentación como una herramienta para comprobar qué sustancias ingresadas de forma intencional al organismo, no produzcan daños sobre la salud del hombre¹⁵. De acuerdo con lo anterior, el propósito de esta investigación se realizó con el fin de conocer los posibles efectos tóxicos producidos por la infusión de *Tessaria integrifolia* administrada a ratas por un periodo de 28 días ¹⁵.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

II. MATERIAL Y MÉTODO

2.1 Material

2.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- 2 Kg de hojas e inflorescencias de *Tessaria Integrifolia R. et. P.* recolectados en la Provincia de Chepén, Departamento de La Libertad.
- 20 *Rattus norvegicus var. albinus* macho y hembras, con peso aproximado de 150 - 200 g, adquiridas en el Bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo.

Los animales fueron mantenidos en el bioterio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), con alimento y agua, temperatura promedio de 22°C y un ciclo de luz/oscuridad de 12/12 horas. Se tuvo en cuenta las normas y procedimientos éticos para el manejo de animales de laboratorio establecidos internacionalmente¹⁰.

2.2 MÉTODOS Y TÉCNICAS:

2.2.1 Recolección de la especie vegetal¹¹.

Se recolectó las hojas e inflorescencias de *Tessaria integrifolia R. et P* (Pájaro bobo) en la ribera del río Chamán, ciudad de Chepén. Provincia de Chepén. Departamento de La Libertad (Altitud: 135 msnm, Latitud: 07°13'36", Longitud: 79°25'45").

2.2.2 Selección e identificación taxonómica¹¹.

Se transportó la muestra al laboratorio de Toxicología de la Universidad Nacional de Trujillo y se procedió a la selección del material vegetal con el

objetivo de realizar una separación de las partes deterioradas y evitar la mezcla con otra especie.

La planta medicinal seleccionada fue llevada al *Herbarium Truxillensis* de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación taxonómica.

Código N° 54937 (HUT).

DIVISIÓN.....Magnoliophyta

CLASEMagnoliopsida

ORDENAsterales

FAMILIA.....Asteraceae

SUBFAMILIA.....Asteroideae

GÉNERO*Tessaria*

ESPECIE.....*integrifolia* R et P.

2.2.3 Secado y molienda de muestras vegetales^{11, 12}.

Las inflorescencias fueron lavadas y colocadas sobre papel kraft en un lugar fresco y seco durante 24 horas. Luego se llevó a estufa a una temperatura de 40°C, durante 48 horas. Una vez desecado el material vegetal, se procedió a su molienda con la ayuda de un molino eléctrico y se almacenó en frascos ámbar en un lugar sin humedad y luz directa hasta su posterior utilización.

2.2.4 Preparación del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et P.¹³.

Se preparó infuso de inflorescencias al 2% (p/v), para ello se colocó 2 g de la planta en 100 ml de agua potable previamente calentada a 60°C, se dejó

durante 15 minutos a la misma temperatura, luego se enfrió y filtró para la administración de los especímenes.

2.2.5 Identificación Fitoquímica preliminar¹³.

La identificación fitoquímica de los extractos acuosos se realizó mediante reacciones de coloración y precipitación.

A. Identificación de Alcaloides

Ensayo de Bouchardat

Se midió XX gotas del extracto en un tubo de ensayo y luego se agregó II – III gotas de reactivo. Se debió observar formación de precipitados floculentos marrón, naranja que cambia con el tiempo.

Ensayo de Hager

Se midió XX gotas del extracto en un tubo de ensayo y luego se agregó II – III gotas de reactivo. Se debió observar formación de precipitados de color blanco, blanco amarillento o amarillo limón claro.

Ensayo de Mayer

Se midió V gotas de muestra a analizar, disuelta en solución de ácido clorhídrico al 1%, se agregó II – III gotas de reactivo. Se debió observar un precipitado blanco.

Ensayo de Wagner

Se midió XX gotas del extracto y se agregó II – III gotas de reactivo. Se debió observar formación de precipitados floculentos que varían del color café claro al rejo o pardo oscuro.

B. Identificación de Flavonoides

Ensayo de Shinoda

Se midió X gotas de la muestra, se agregó unos trocitos de magnesio metálico y II gotas de ácido clorhídrico concentrado. La coloración rojiza nos indicó presencia de flavonoides.

C. Identificación de Grupos Fenólicos

Ensayo de tricloruro férrico

Se midió V gotas de muestra y se añadió I gota de solución férrica. Se obtuvo una coloración azul o verde, que nos indicó presencia de OH fenólicos.

D. Identificación de Leucoantocianidinas

Ensayo de Rosenheim

Se midió V gotas del extracto a analizar y se llevó a sequedad. Se agregó 0.5 – 1 ml de solución de ácido clorhídrico 2N/1-propanol. Se hirvió de 15 – 30 minutos. Se debió observar una coloración roja en la fase acuosa, que indica presencia de leucoantocianidinas.

E. Identificación de Quinonas

Ensayo de Borntrager

Se midió V gotas del extracto y se llevó a sequedad. Se agregó 0.5 – 1 ml de tolueno; luego agregar 1 ml de NaOH al 5%. Se debió observar una coloración roja en fase acuosa, que indica presencia de antraquinonas y naftoquinonas.

F. Lactonas Sesquiterpénicas

Ensayo de Baljet

En un tubo de ensayo se colocó la muestra y se añadió gotas de reactivo de Baljet (1 g de ácido pícrico/EtOH 95% + 10 g de NaOH/100 ml de agua, mezclar en partes iguales). Se obtuvo una coloración rojo claro a anaranjado oscuro que nos indicó presencia de saponinas.

G. Identificación de Saponinas

Ensayo de Espuma

Se midió 1 ml de la muestra en un tubo de ensayo y se llevó a 5 ml con agua destilada. Se agitó vigorosamente por 30 segundos, se esperó 15 minutos en reposo. La persistencia de la espuma nos indicó presencia de saponinas.

H. Identificación de Taninos

Ensayo de Gelatina

Se midió XX gotas del extracto en un tubo de ensayo y luego se añadió 1 gota de solución reactiva de gelatina al 1%. El ensayo no se consideró

positivo, no se observó un precipitado blanco, el cual nos indica la presencia de Taninos.

I. Identificación de Terpenos

Ensayo de Liebermann – Burchard

Se tomó X gotas de muestra (disuelto en diclorometano), se añadieron X gotas de anhídrido acético, XX gotas de ácido acético y luego I a II gotas de ácido sulfúrico concentrado. Se observó los cambios de coloración en el transcurso de los 30 minutos.

2.2.6 Formación de grupos

La formación de grupos de trabajo se realizó siguiendo el método del Azar:

4.2.6.1 Grupo Testigo. Estuvo conformado por 10 especímenes (5 machos y 5 hembras) a los cuales se les administró 2 mL Solución Salina Fisiológica durante 28 días.

4.2.6.2 Grupo Problema. Estuvo conformado por 10 especímenes (5 machos y 5 hembras) a los cuales se les administró el infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. en dosis de 500 mg/Kg/día (9:00 a.m) vía oral durante 28 días.

2.2.7 Evaluación de la toxicidad a dosis repetida por 28 días (OECD 407)^{10,15}.

La evaluación de la toxicidad oral a dosis repetidas durante 28 días se realizó según lo estipulado en el ensayo 407 de las directrices de la OECD (Organization for Economic Cooperation and Development).

Se utilizaron 20 ratas (10 de cada sexo); los animales fueron sometidos a un período de aclimatación de 5 días. El día antes del inicio del ensayo, se conformó los dos grupos experimentales de 10 animales (5 de cada sexo). Un grupo fue Testigo, al cual se le administró vehículo (solución salina fisiológica), y el otro fue Problema, al cual se le administró el infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P, en dosis de 500 mg/kg, una vez al día, vía oral (cánula orogástrica), por 28 días.

Al finalizar la exposición, todos los animales fueron eutanizados colocándolos en campanas de vidrio, donde se colocó una torunda de algodón embebida en 1 mL de cloroformo, y se colocó la tapa. Luego se extrajo los órganos para enviarlos a análisis histopatológico, se extrajo cerebro, corazón, pulmones, riñones, bazo, hígado, ovario o testículos, separados de tejido adherente. Estos órganos fueron fijados en formol al 10% y se llevaron al patólogo para el estudio microscópico correspondiente.

III. RESULTADOS

Tabla 1: Identificación de metabolitos secundarios del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R.et P (pájaro bobo)

MARCHA FITOQUÍMICA		
ENSAYO	Infuso de inflorescencias de <i>Tessaria integrifolia</i> R.et P	METABOLITOS SECUNDARIOS
Bouchardat	Negativo	Alcaloides
Hager	Negativo	
Mayer	Negativo	
Wagner	Negativo	
Shinoda	Positivo	Flavonoides
FeCl ₃	Positivo	Grupos fenólicos
Rosenheim	Negativo	Leucoantocianidinas
Borntrager	Negativo	Quinonas
Baljet	Positivo	Lactonas Sesquiterpénicas
Prueba de la espuma	Negativo	Saponinas
Gelatina	Negativo	Taninos
Liebermann - Burchard	Negativo	Terpenos

Tabla 2: Cambios Histopatológicos en órganos de *Rattus novergicus* var. *albinus* en los grupos experimentales

ÓRGANOS	GRUPO TESTIGO	GRUPO PROBLEMA
Riñón	Sin alteraciones patológicas	Congestiones leves y glomérulos congestionados
Hígado	Sin alteraciones patológicas	Congestiones leves
Ovario	Sin alteraciones patológicas	Congestión leve y epitelio hiperplásico
Cerebro	Sin alteraciones patológicas	Congestiones leves parenquimales y celularidad aumentada
Pulmón	Sin alteraciones patológicas	Congestiones leves
Estómago	Sin alteraciones patológicas	Daño mucinoso/ Sin alteraciones patológicas
Corazón	Sin alteraciones patológicas	Sin alteraciones patológicas/ degeneración hialina de fibras musculares
Testículo	Sin alteraciones patológicas	Congestión leve

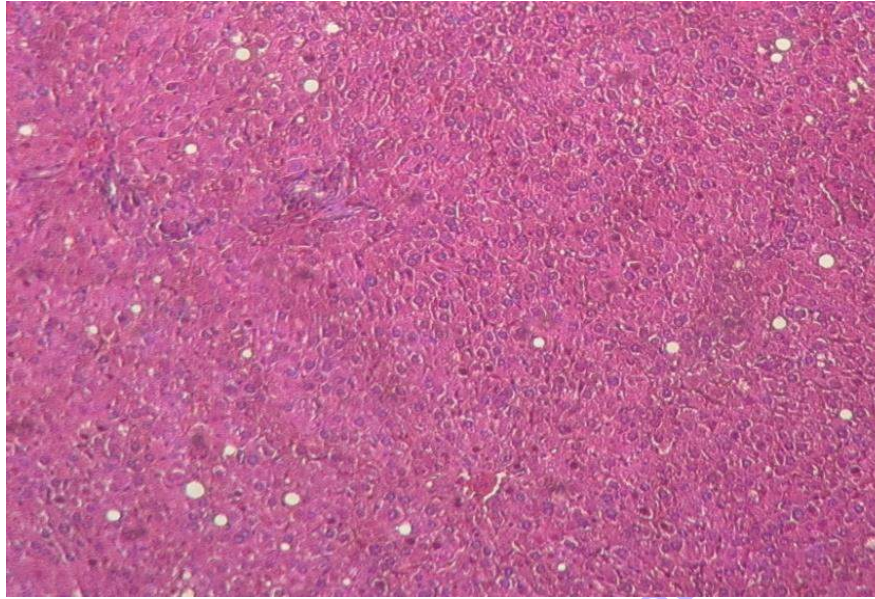


Figura 1. Corte histológico de riñón - Grupo testigo. Sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina- eosina (10 X)

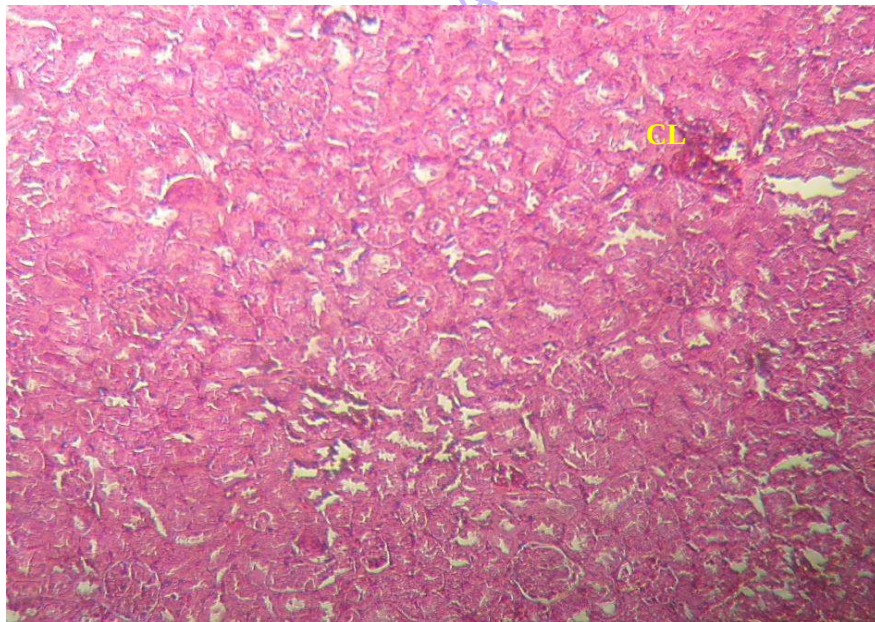


Figura 2. Corte histológico de riñón - Grupo problema. Espécimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa un grupo de células con congestión leve (CL). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X)

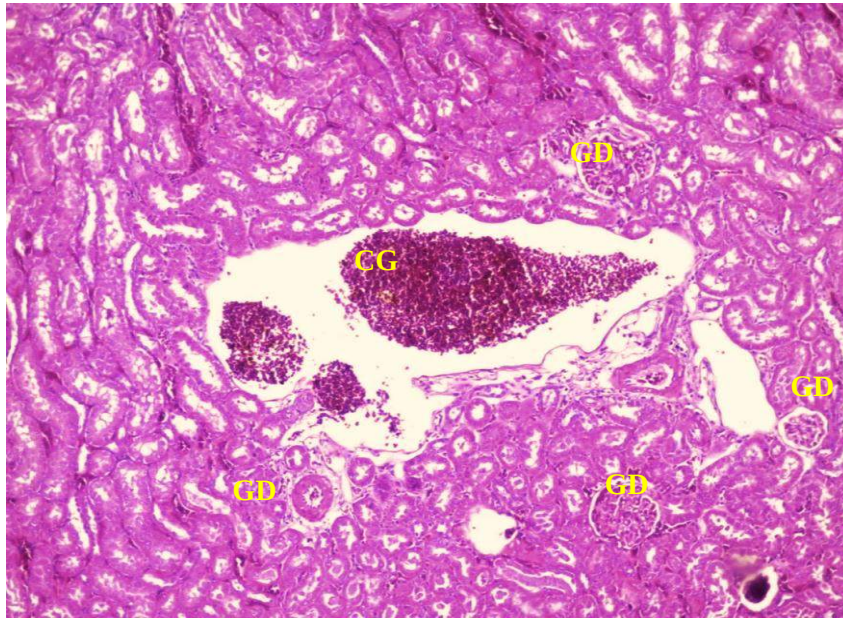


Figura 3. Corte histológico de riñón - Grupo problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa un grupo de células con congestión (CG) y algunos glomerulos (GD) congestionados. **Tinción:** hematoxilina - eosina (20 X)



Figura 4. Corte histológico de hígado - Grupo testigo. Se observa vena centrolobulillar (VC), tejido conjuntivo interlobulillar (TC) sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X)

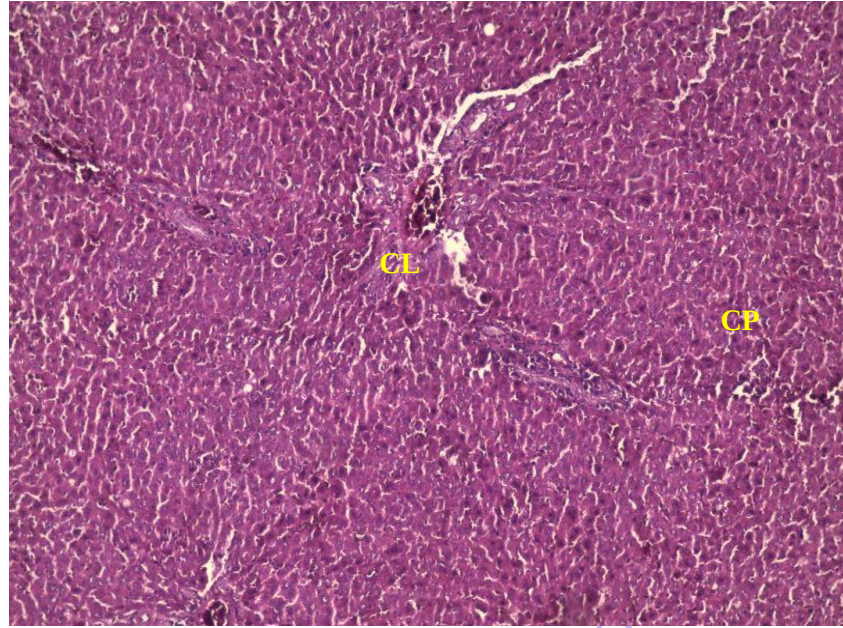


Figura 5. Corte histológico de hígado - Grupo problema. Espécimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión leve (CL) y congestión de espacio porta leve (CP). **Tinción:** hematoxilina - eosina (20 X)

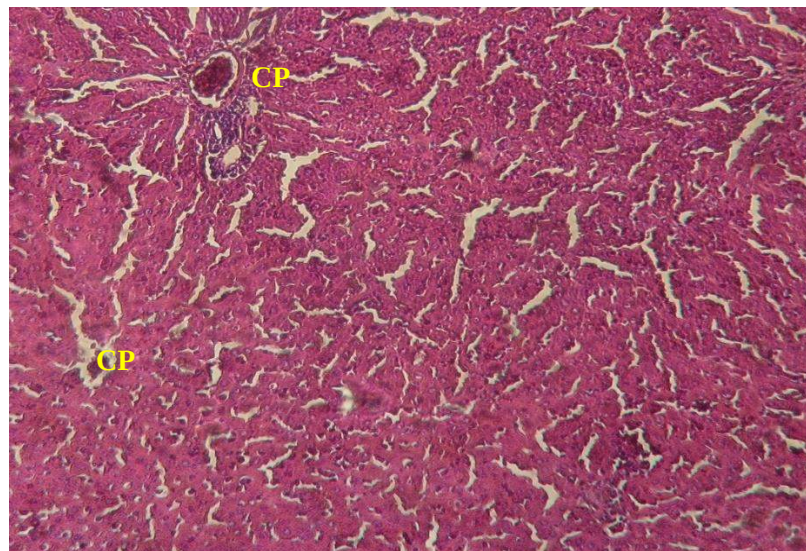


Figura 6. Corte histológico de hígado - Grupo Problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión de espacio porta leve (CP). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X)

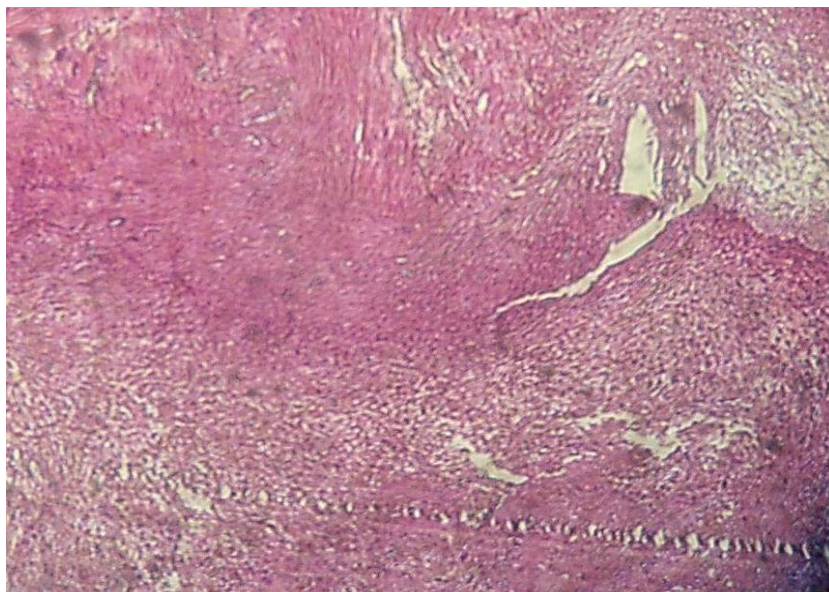


Figura 7. Corte histológico de ovario - Grupo Testigo. Sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

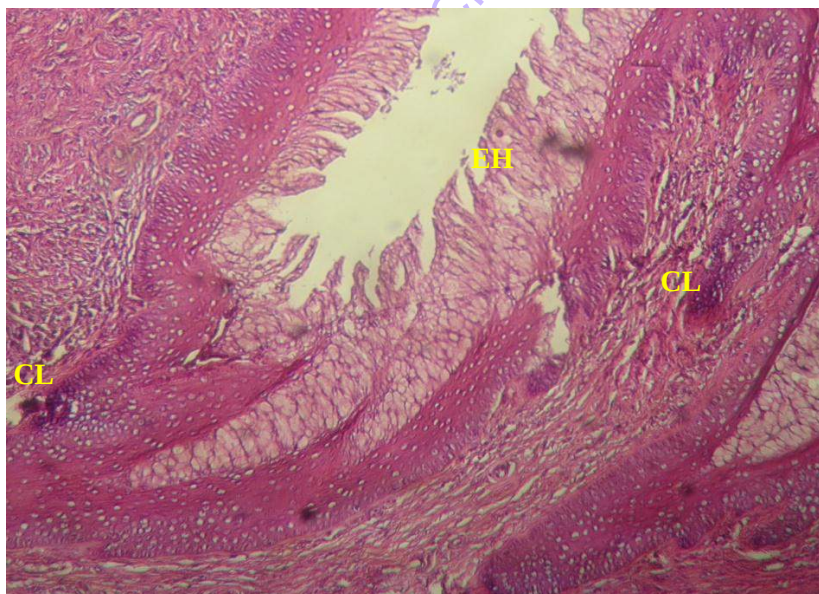


Figura 8. Corte histológico de ovario - Grupo Problema con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión leve (CL) y epitelio hiperplásico (EH). **Tinción:** hematoxilina - eosina (20 X).

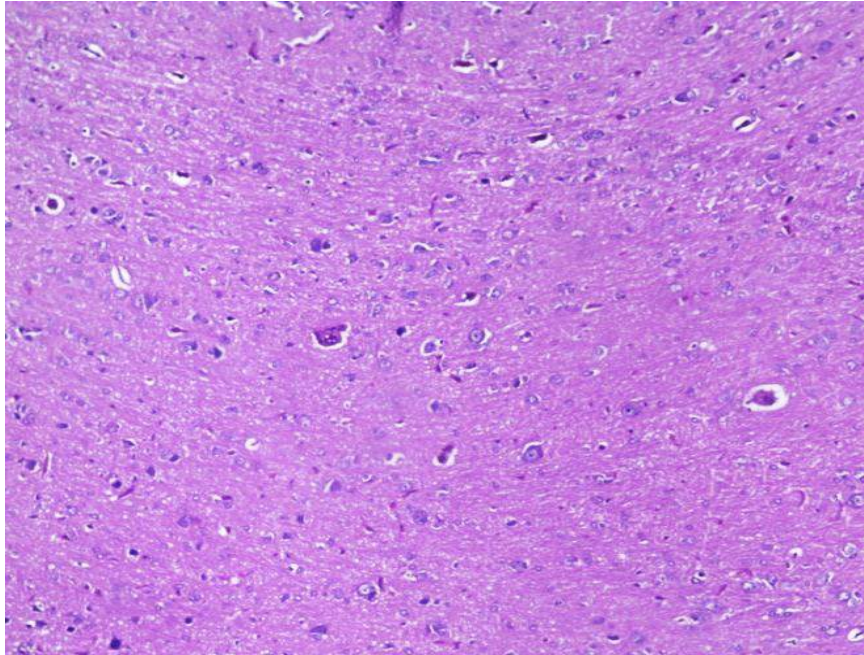


Figura 9. Corte histológico de cerebro - Grupo Testigo. Se observa sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

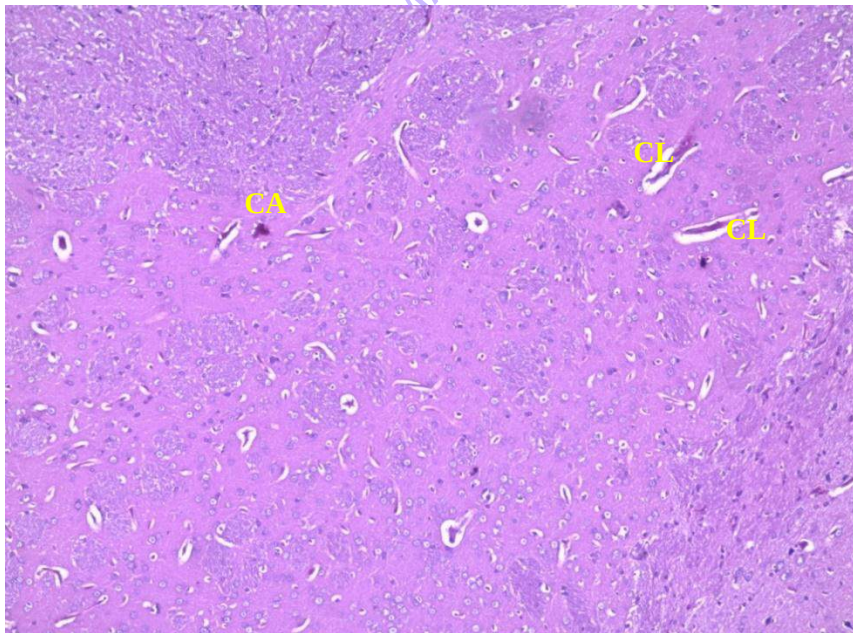


Figura 10. Corte histológico de cerebro - Grupo Problema. Especimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión leve parenquimal (CL), celularidad aumentada leve (CA). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

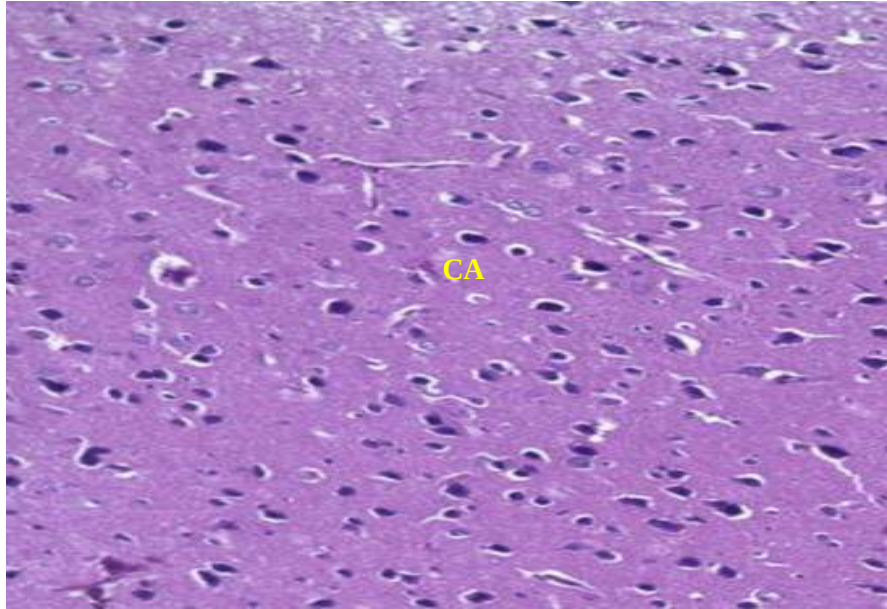


Figura 11. Corte histológico de cerebro - Grupo Problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa celularidad aumentada (CA). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

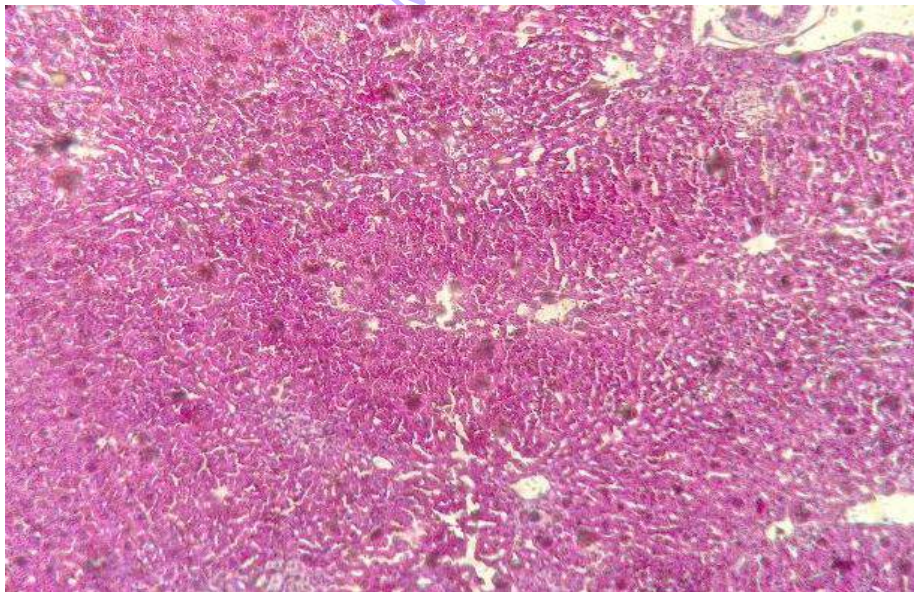


Figura 12. Corte histológico de pulmón - Grupo Testigo. Sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

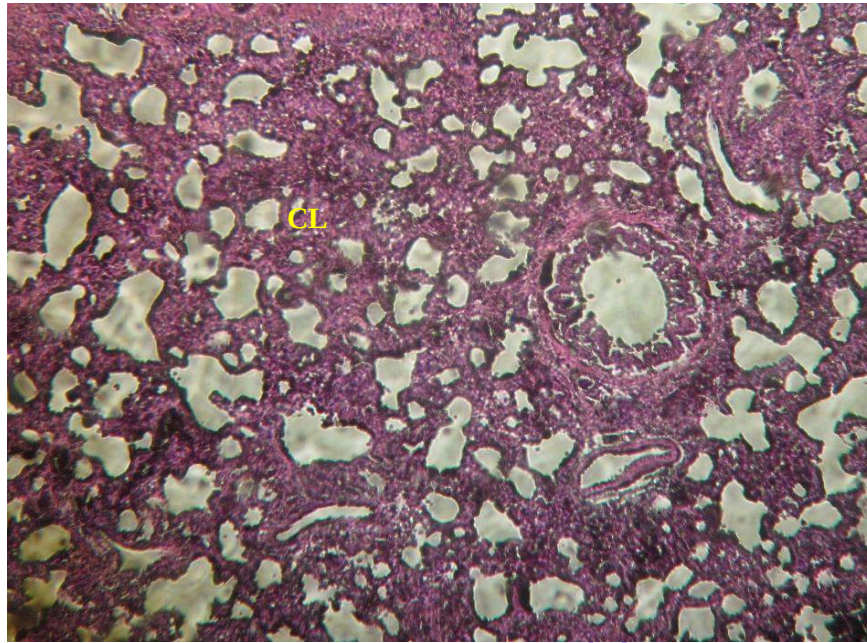


Figura 13. Corte histológico de pulmón - Grupo Problema. Espécimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión leve (CL). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

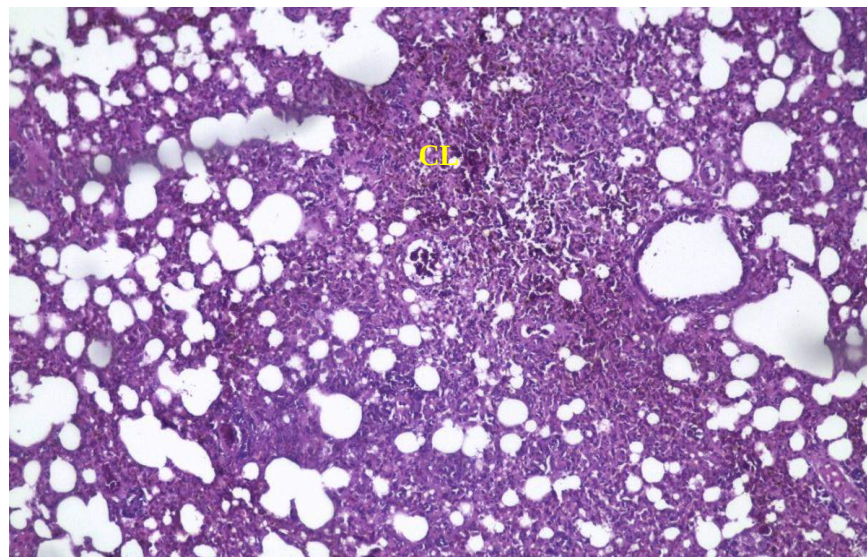


Figura 14. Corte histológico de pulmón - Grupo Problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa congestión leve (CL). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

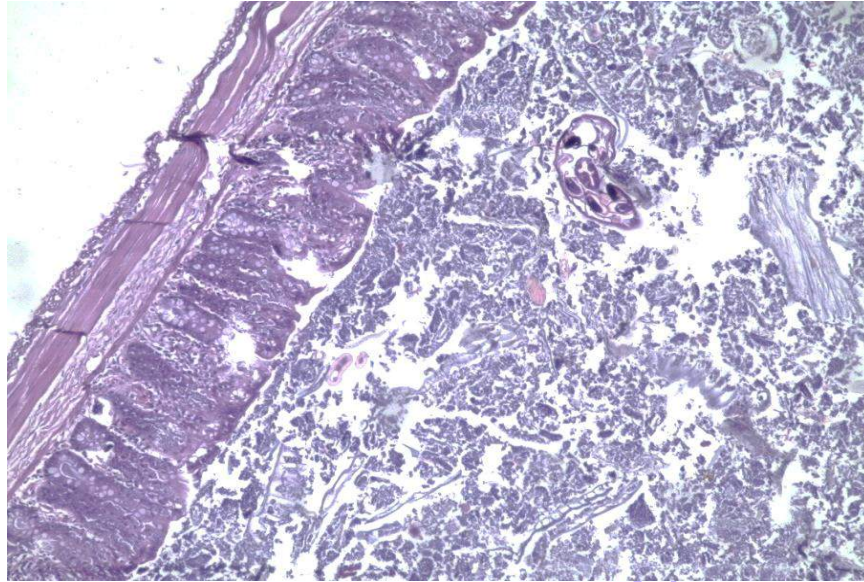


Figura 15. Corte histológico de estómago - Grupo Testigo. Se observa mucosa intacta aparentemente normal. **Tinción:** hematoxilina - eosina (20 X).

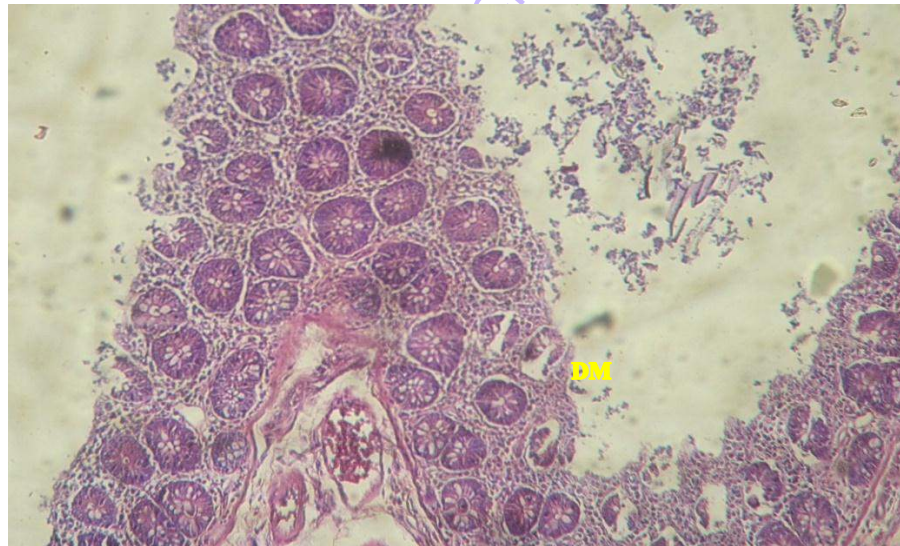


Figura 16. Corte histológico de estómago - Grupo Problema. Especimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa daño mucinoso (DM). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

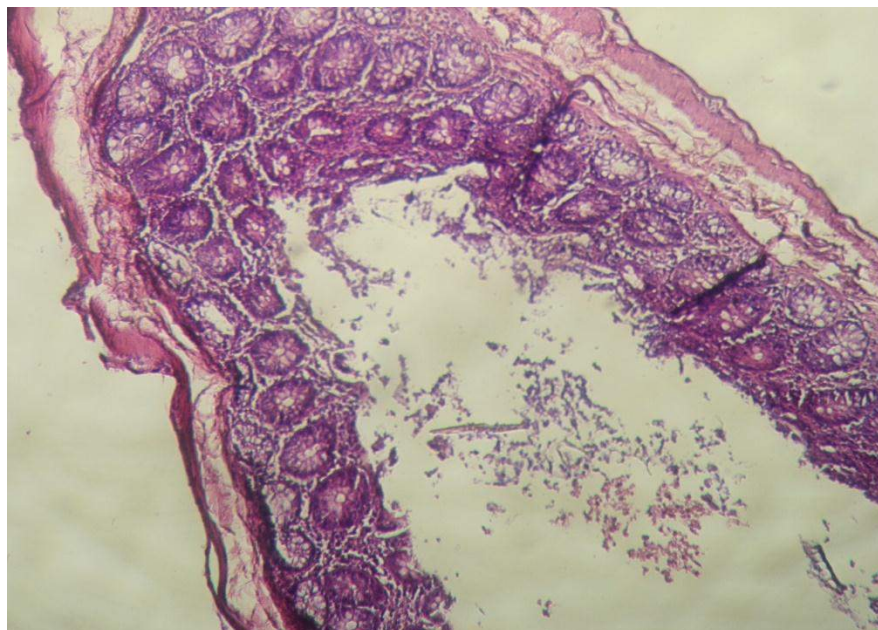


Figura 17. Corte histológico del estómago - Grupo Problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa mucosa intacta aparentemente normal. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

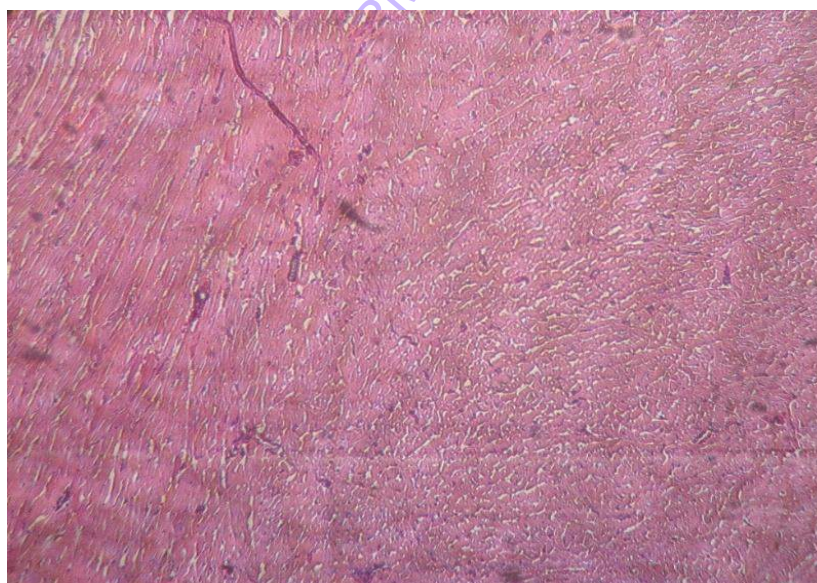


Figura 18. Corte histológico del corazón - Grupo Testigo. Se observa con aspecto normal. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

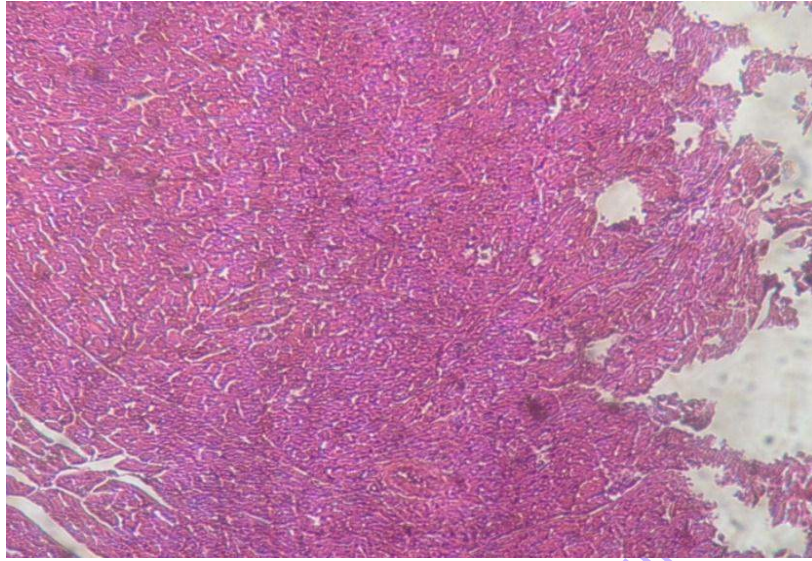


Figura 19. Corte histológico del corazón - Grupo Problema. Espécimen macho con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa aspecto normal (CL). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

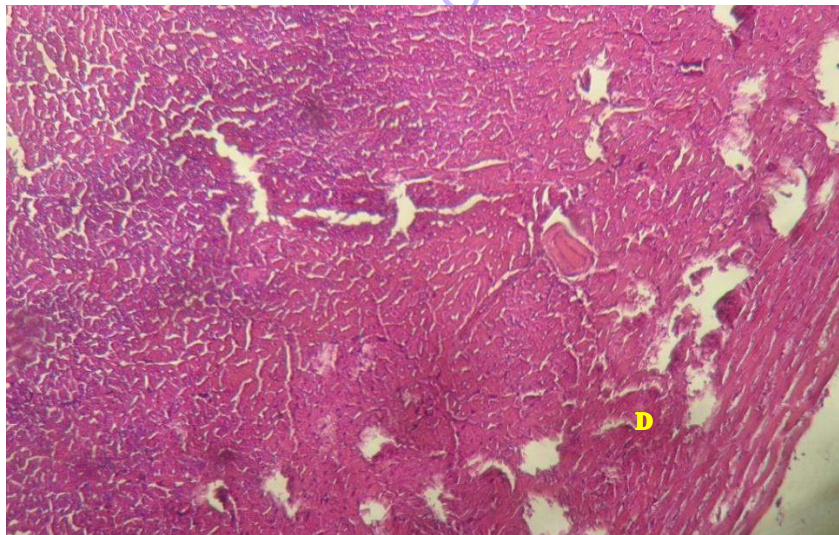


Figura 20. Corte histológico del corazón - Grupo Problema. Espécimen hembra con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa degeneración hialina de fibras musculares (D). **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

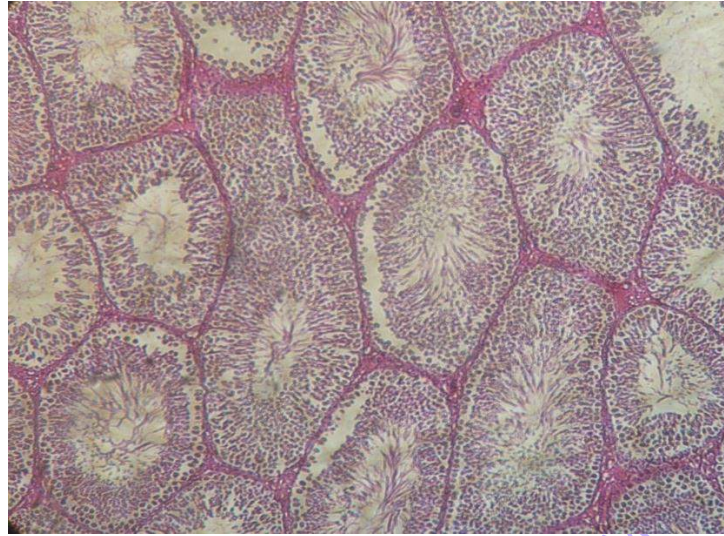


Figura 21. Corte histológico del testículo - Grupo Testigo. Sin alteraciones patológicas. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

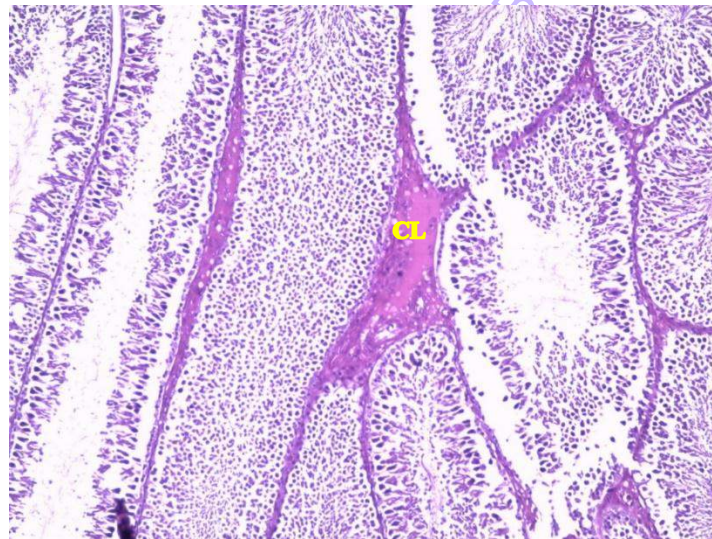


Figura 22. Corte histológico del testículo - Grupo Problema con tratamiento de infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia*. Se observa ligera congestión. **Tinción:** hematoxilina - eosina (10 X).

V. DISCUSIÓN

Para la determinación cualitativa de metabolitos secundarios del extracto acuoso de *Tessaria integrifolia* R. et. P. se realizaron pruebas de identificación fitoquímica preliminar. Los metabolitos secundarios identificados se presentan en la Tabla 1, reportando la presencia de flavonoides, grupos fenólicos, y lactonas sesquiterpénicas, a este último se le atribuye la presencia en su estructura molecular de un agrupamiento exo-metilén-gamma-lactona unida a otros grupos funcionales oxigenados los cuales se caracterizan por producir actividad biológica, a veces tóxica, al reaccionar con proteínas, el ácido desoxirribonucleico (ADN), el glutatión (GSH) así como la producción de daño oxidativo. Los resultados obtenidos en el análisis fitoquímico preliminar son concordantes con los reportados por Pérez F, y col.^{9, 16, 17, 18, 19, 20}.

El estudio histopatológico permite realizar una adecuada evaluación diagnóstica y conocer de manera más directa las causas y consecuencias de diversas alteraciones²¹.

La evaluación histopatológica del riñón del grupo testigo I, no evidenció alteraciones patológicas (Fig. 1); sin embargo en los grupos problema para ambos sexos se observaron ligeras congestiones (Fig. 2 y 3), además para el caso de la hembra se observó glomérulos congestionados. Es preciso indicar que la estructura renal es sensible a la acción de diversas drogas debido a su gran vascularización, especialmente en el túbulo proximal y distal, que están constituidas por células especializadas con gran actividad metabólica dedicada al transporte de solutos. Fisiológicamente, los riñones reciben, aproximadamente, del 20% al 25% del gasto cardíaco, lo que representa un importante volumen de flujo plasmático renal.

Existen diferentes mecanismos por los cuales las sustancias tóxicas pueden causar lesiones en la función renal, para este caso el metabolito involucrado posiblemente a este aparente daño en las muestras analizadas pudo estar asociado a las lactonas sesquiterpénicas. Las lactonas sesquiterpénicas (LS), un componente activo de muchas plantas medicinales de la familia Asteraceae, podrían contribuir sinérgica e independientemente a producir los efectos tóxicos evidenciados en este órgano, ejerciendo dicho efecto a través de diferentes mecanismos: alquilación de proteínas, alquilación de ADN, alquilación GSH y daño oxidativo, el antagonismo de los receptores GABA y glicina y la inducción de reacciones hipersensibilidad así como la desregulación de los mecanismos epigenéticos^{22, 23, 24, 25}.

El estudio histopatológico del hígado del grupo testigo, evidenció el aspecto normal de dicho órgano. El hígado está compuesto de lóbulos hepáticos los cuales están revestidos de células mesoteliales del peritoneo visceral que cubre una fina capa de tejido conjuntivo, el interior del hígado está dividido en lobulillos hepáticos, observándose de esta manera la presencia del tejido conjuntivo interlobulillar y vena centrolobulillar (Fig. 4). El tejido conjuntivo de la cápsula penetra en los espacios interlobulillares dando sostén al sistema vascular y a los conductos biliares. Sin embargo, para los grupos problema macho y hembra presentaron congestión del espacio porta leve y congestión leve (Fig. 5 y 6), esto producido tal vez por uno de los metabolitos ya mencionados, es importante precisar que no se evidencia mayor severidad de daño en dicho órgano y no podría afirmarse la toxicidad, sin embargo el uso prolongado del infuso debería evitarse por alguna complicación de mayor severidad^{26,27}.

El estudio histopatológico del ovario del grupo testigo (Fig. 7) presento una leve congestión. Así como también en el grupo problema (Fig. 8) presentó leve congestión y epitelio hiperplásico. El ovario es un órgano y víscera de forma ovoide y con una superficie irregular, llena de cicatrices producto de múltiples ovulaciones. Esta unido al ligamento redondo del útero y tiene un hilo por el cual entran arterias y nervios, y salen venas y linfáticos. Microscópicamente, está recubierto por un epitelio cubito simple además presenta una corteza y una médula. La corteza tiene una delgada túnica albugínea y bajo estos innumerables folículos ováricos inmersos en un estroma que comprende fibroblastos arremolinados, fibras colágenas, reticulares fibras musculares lisas aisladas pero no se observan fibras elásticas. Por otro lado, la medula es pequeña, laxa vascularizada con arterias de forma helicoidal (helicinas), musculo liso y residuos de estructuras embrionarias afuncionales. Sin embargo el epitelio hiperplásico también llamado pólipo (Término general que designa una neoformación o masa de tejido que se desarrolla hacia la luz de una membrana mucosa hallada comúnmente en útero y vejiga.) hiperplásico. También llamado metaplásico, se origina de una apoptosis retrasada o fallida en las células epiteliales que lo conforman, por lo que técnicamente no se produce una real hiperplasia. Demostrándose un daño leve^{28, 29,30}.

El estudio histopatológico del cerebro de evidencia un aspecto normal grupo testigo (Fig. 9). En cambio en el grupo problema de macho (Fig. 10) se observa una leve congestión parenquimal y en el grupo problema macho y hembra (Fig. 10 y 11) se evidenció celularidad aumentada leve, demostrándose un daño leve debido al a prolongación del tratamiento³¹.

En el estudio histopatológico del pulmón (Fig. 12) se aprecia apariencia aparentemente normal en bronquiolos y sacos alveolares, sin embargo para los grupos problemas de ambos sexos (Fig. 13 y 14) se observaron ligeras congestiones, sin mayor severidad, cabe destacar que el pulmón posee un epitelio pseudoestratificado cilíndrico ciliado, en la que existen varios tipos de células, siendo las más numerosas las células ciliadas, las células caliciformes y las células basales consideradas como células regenerativas o células madre, el daño en este órgano por congestión ligera pudo generarse debido a mecanismos como la inducción de transferencia de electrones en células, es decir radicales oxigenados tales como radicales superóxido, peróxido o hidroxilos generados a partir de uno de sus metabolitos, principalmente en sospecha de las lactonas sesquiterpénicas³².

El tejido del estómago de rata del grupo testigo (Fig. 15) presenta conservación de su estructura con aparente mucosidad intacta. No obstante el tejido del estómago de la rata del grupo problema macho (Fig. 16) presenta gastritis erosiva por daño mucinoso, demostrando toxicidad leve según bibliografía. Por otro lado el estómago de la rata hembra (Fig. 17) se observó con mucosa intacta y aparentemente normal. Histológicamente, en el estómago la superficie de la mucosa gástrica está recubierta de células epiteliales columnares, que secretan moco y un líquido alcalino que protege al epitelio de lesiones mecánicas y del ácido gástrico, es decir la integridad de la mucosa gástrica depende de la existencia del equilibrio entre los factores agresivos de las sustancias acidopépticas y defensivos como la producción de moco, bicarbonato y prostaglandinas. Cualquier lesión de la mucosa gástrica afecta los mecanismos de protección o altera su secreción. Por ende el infuso pudo generar toxicidad

leve, pero sería preciso evaluar la diferencia fisiológica de protección en el caso de la hembra^{31, 33, 34,35}.

El estudio histopatológico del corazón del grupo testigo (Fig. 18) evidenció microscópicamente el aspecto normal de dicho órgano. Sin embargo, en el grupo problema macho (Fig. 19) se observa un aspecto normal, en cambio en la muestra de hembra (Fig. 20) se evidenció una leve degeneración hialina de fibras musculares desde el punto de vista anatomopatológico; siendo una degeneración no inflamatoria del músculo esquelético que se caracteriza desde el punto de vista clínico por debilidad muscular, ocasionada por carencias en vitamina E y selenio³⁶.

El estudio histopatológico de testículo de rata del grupo testigo (Fig. 21) reveló aspecto normal en dicho órgano, no obstante para el grupo problema (Fig. 22) se observó ligera congestión. Histológicamente los testículos, están formados por un par de cintas alargadas, que se fusionan en el área caudal en un conducto único o gonoducto. Una túnica albugínea delgada, compuesta de tejido conectivo fibroso y fibras musculares lisas, reviste la superficie externa del testículo. En el interior hay un tubo longitudinal en el cual desembocan los túbulos seminíferos. Los túbulos seminíferos, que están rodeados por una membrana basal y una capa muy fina de tejido conectivo, tienen un epitelio donde hay dos tipos celulares: células de Sertoli y células espermatozógenas. El daño leve producido pudo asociarse principalmente en las células de Sertoli³⁷.

VI. CONCLUSIONES.

1. El infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P. al 2% no evidencia toxicidad grave significativa sobre órganos de *Rattus norvegicus* var. *albinus* a dosis repetida por 28 días.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

VII. RECOMENDACIÓN

Se recomienda la evaluación del infuso de inflorescencias de *Tessaria integrifolia* R. et. P en tiempos menores a 28 días a fin de conocer los cambios histopatológicos en todos los órganos.

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA

REFERENCIA S BIBLIOGRÁFICAS

1. Rios J, París E. Intoxicaciones por Plantas Medicinales. Edit. Diaz de Santos S.A.: España. 2012. p. 212.
2. Tillan J, Vega R. Toxicidad aguda oral de extractos hidroalcohólicos de plantas medicinales [Revista en Internet]. 1999, vol. 4(1): 26-28. [Fecha de acceso: 13 de Marzo del 2016]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47961999000100007
3. Mostacero J. Plantas medicinales del Perú. 1° ed. Edit. Asamblea Nacional de Rectores. Perú. 2011. pp. 1-2.
4. Rodríguez D. Cadena Alimentaria 7: Plantas Medicinales. [Revista en Internet]. 2002, vol. 7(7): 8-10. [Fecha de acceso: 14 de Marzo del 2016]. Disponible en: http://books.google.com.br/books?id=RaF47u8BSy8C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
5. Flores M. Inkaplus: Medicina Alternativa. Perú. 2011. [Fecha de acceso: 14 de Marzo del 2016]. Disponible en: <http://www.inkaplus.com/media/web/pdf/PAJARO%20BOBO.pdf>.
6. Carneán A, Repetto M. Toxicología Alimentaria. 1° ed. Ed. Diaz de Santos S.A.: España. 2006. p. 212.
7. Cisterne D, Lardies F. Nefrotoxicidad. Agentes y Sustancias Nefrotóxicas. [Revista en internet]. 1995, vol. 1(2): 15-21. [Fecha de acceso: 15 de marzo del 2016]. Disponible en: http://www.revistaseden.org/files/art538_1.pdf
8. Mejia J, Mendoza D. Efecto neurotóxico del extracto acuoso de boldo (*Peumus boldus*) en un modelo animal. *Rev. Perú. med. exp. salud pública* [Revista en

- Internet]. 2014, vol. 31(1): 62-68. [Fecha de acceso: 15 de marzo del 2016]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342014000100009&script=sci_arttext
9. Pérez F, Sagástegui A. Estudio fotoquímico preliminar de *Tessaria integrifolia* R. et P. Cienc. Salud - Universidad Privada Antenor Orrego [Revista en Internet]. 2007, vol. 1(1): 18-20. [Fecha de acceso: 16 de marzo del 2016]. Disponible en: http://www.upao.edu.pe/publicaciones/ciencias_salud/REVISTA_FACULTAD_ciencias_salud.pdf
10. Rojas J, Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá), en ratas. Rev. Anales de la Facultad de Med. [Revista en Internet]. 2009, vol. 70(3): 175-176. [Fecha de acceso: 17 de marzo del 2016]. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/937/762>
11. Silva C. Actividad antiespasmódica de *Tessaria integrifolia* R. et P. y *Artemisia absinthium* L. en íleon aislado de *Cavia porcellus*. [Informe de Prácticas Pre profesionales para optar el Título Profesional de Químico farmacéutico]. Facultad de Farmacia y Bioquímica. UNT; 2011.
12. World Health Organization (WHO). Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales. [Monografía en Internet]. Suiza; 2003. [Fecha de acceso: 20 de marzo del 2016]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s5527s/s5527s.pdf>.
13. Lock O. Investigación Fitoquímica. Métodos de Estudio de productos Naturales. 2º ed. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú: Perú; 1994. pp. 6-10, 195-204, 284-287

14. OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals. Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents [Internet] Francia: OECD; 1995 [Fecha de acceso: 21 de marzo del 2016]. Disponible en: <http://www.oecd.org>.
15. Rojas J, Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. An Fac med [Revista en Internet]. Perú: UNMSM; 2009, vol. 70(3):175-80 [Fecha de acceso: 21 de marzo del 2016]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v70n3/a04v70n3.pdf>
16. Popich S, Álvarez D, Bardón A. Toxicidad de terpenoides de *Cyrtocymura cincta* (Asteraceae) sobre el ciclo de vida de *Spodoptera latifascia* (Lepidoptera: Noctuidae). Bol. San. Veg. Plagas [Revista en Internet]. 2005, vol. 31(1): 179-185. [Fecha de acceso: 14 de octubre del 2016]. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_plagas%2FBVP-31-02_179-185.pdf
17. De Feo V, Agostino M, De Simone F. Constituents of *Tessaria integrifolia*. Fitoterapia [Revista en Internet]. 1990, vol. 61(5): 474-475. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19910302345>
18. Guerreiro E. and Pestchanker M. Phytochemistry. 1990. vol. 29. Pp. 877.
19. Peluso G., De Feo, V., De Simone, F., Bresciano, E. and Vuotto, M. L. Journal of Natural Products. 1995, vol. 58(1): 639-645.
20. Ono M, Masuoka C, Odake Y, Ito Y. Phytocemistry. 2000, vol. 53(1): 479-485.
21. Hurtado J. Introducción a la patología. Anatomía Patológica[Sede Web]; 2004.[Fecha de acceso: 15 de octubre del 2016] Disponible en: http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/scap/introduccion_a_la_patologia.pdf

22. Morales J. Drogas nefrotóxicas. Revista Médica Clínica Las Condes [Revista en Internet]. Vol. 1(4): 623-628 [Fecha de acceso: 16 de octubre del 2016]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0716864010705782>
23. Negrín G. Lactonas Sesquiterpénicas de origen natural que inducen apoptosis y la activación de la vía mapk en líneas celulares tumorales humanas [Tesis online]. España: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria; 2013. Disponible en: http://acceda.ulpgc.es/bitstream/10553/10654/4/0686381_00000_0000.pdf
24. Amorim G, Costa R, Lopes C, Margarida M, Bastos M. Sesquiterpene lactones: Adverse health effects and toxicity mechanisms. Crit Rev Toxicol. [Revista en Internet]. 2013 [Fecha de acceso: 17 de octubre del 2016]; 43(7): 559–579. Disponible en: <http://informahealthcare.com/txc>.
25. Asqui L. Actividad Hepatoprotectora del Extracto De Diente De León (*Taraxacum Officinale*) En Ratones (*Rattus norvegicus*) con Hepatotoxicidad Inducida por Tetracloruro de Carbono. 2012. [Fecha de acceso: 18 de octubre del 2016] Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2590/1/56T00367.pdf>
26. Rosas C, Vasquez P. Descripción Histológica e Histoquímica del Hígado de Cobayo (*Cavia porcellus*). Int. J. Morphol. [Revista en Internet]. 2010, vol. 28(1):151-156. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022010000100021&lng=es&nrm=iso
27. Rojas J, Diaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. An. Fac. med. [Revista en Internet]. 2009, vol.70, n.3 [Fecha de acceso: 20 de octubre del 2016], pp. 175-180. Disponible

- en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832009000300004&lng=es&nrm=iso
28. Rodríguez A. Guía de laboratorio de histopatología. 1° ed. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 2005. pp: 111
29. Melloni E. Diccionario Médico de Melloni. 1° ed. Edit..Editorial Reverté. Barcelona. 1983. pp. 456
30. Arévalo, V Aragón, J Alva. Pólipos Colaterales: Actualización en el diagnóstico. Rev. Gastroenterol[Revista en Internet].2012, vol. 32(2): 123-133. [Fecha de acceso: 5 de octubre del 2016]. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/gastro/vol32_n2/pdf/a02v32n2.pdf
31. Perez C, Abanto J, Morales G. Determinación de lactonas sesquiterpénicas y citotoxicidad del extracto hidroalcohólico de hojas de *Baccharis genistelloides* (Lam.) Pers. Carqueja [Tesis para optar el Título Profesional de Químico farmacéutico]. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Privada Norbert Wiener; 2015.
32. Kelley W. Medicina Interna. 2° ed. Edit. Médica Panamericana. España. 1992. pp.1960
33. Silva C, Cruzado R, Gamarra S, Caballero A, Mantilla R. Efecto de *Tessaria integrifolia* R. et P. sobre úlceras gástricas inducidas en *Rattus rattus var. albinus*. Revista Farmaciencia [Revista en Internet]. 2014, vol. 2(1): 19-23. [Fecha de acceso: 20 de octubre del 2016]. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/653>

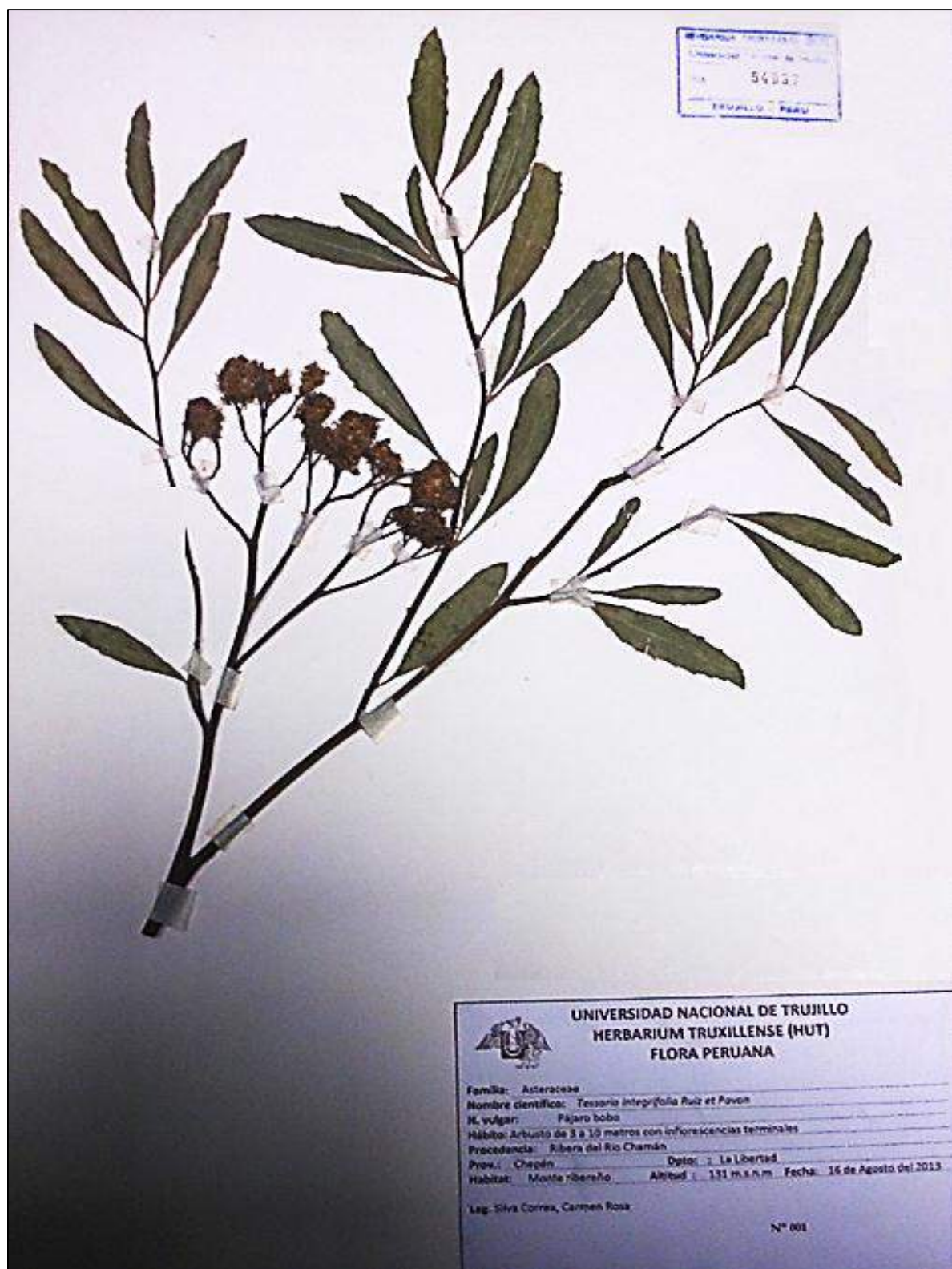
34. Feldman M, Sleisenger M. Gastrointestinal and Liver Disease. Pathophyiology/Diagnosis/Managament. 6ta edición. Edit. Sanders Company. USA. 1998, vol. 1(1): 42-47
35. Rugge M, Correa P, Fiocca R, Hattori T, Lechago J, Leandro G. Gastric mucosal atrophy: interobserver consistency using new criteria for classification and grading. *Aliment Pharmacol Ther.* 2002, vol. 16(7):1249-59.
36. Fidalgo A. Medicina Veterinaria. 1º ed. Edit. Universidad de León. España. 2003. pp.139
37. Saalu L, Akunna G, Oyewopo A. The Histo-morphometric Evidences of Vernonia amygdalina Leaf Extract-induced Testicular Toxicity. *Int. J. Morphol.* [Revista en Internet]. 2013, vol.31 (2): 662-667. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022013000200052&lng=es&nrm=iso

ANEXOS

BIBLIOTECA DE FARMACIA Y BIOTECNOLOGIA



ANEXO N° 1: Espécie *Tessaria integrifolia* R et. P.



ANEXO N° 2: Identificación taxonómica *Tessaria integrifolia* R. et P “Pájaro bobo” en el *Herbarium Truxillensis*.



Hervir 100 ml de
agua



Medir 50ml de agua
previamente calentada



Verte la
inflorescencia pesada
y mezclar



Procedemos a filtrar

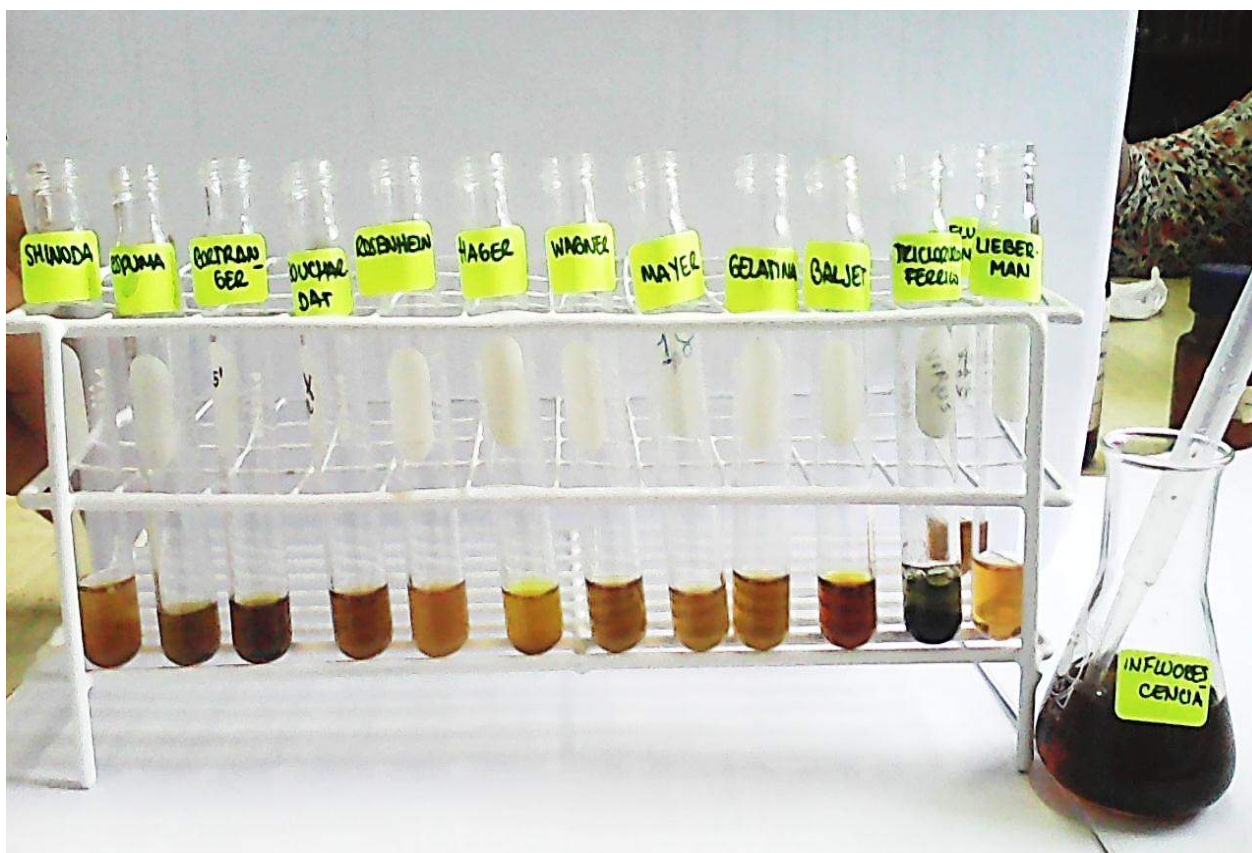


Dejamos enfriar y procedemos a la
administración del espécimen en
estudio.

ANEXO N° 03: Preparación de los extractos acuosos de *Tessaria integrifolia* R. et P.



ANEXO N° 4: Infuso de inflorescencia de *Tessaria integrifolia* R et. P.



ANEXO N° 5: Identificación de metabolitos secundarios presentes en el infuso de inflorescencia de *Tessaria integrifolia* R et. P.



ANEXO N°06: Distribución de grupos Testigo y Problema



Administración de 2ml de infuso de *Tessaria integrifolia* R.et.P del espécimen macho.



Administración de 2ml de infuso de *Tessaria integrifolia* R.et.P del espécimen hembra.

ANEXO N°07: Administración al grupo Problema del infuso de *Tessaria integrifolia* R. Et. P.