

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

TÍTULO

“TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Calathea lutea* “bijao” EN
RATONES ALBINOS BALB/C”

PRESENTADO POR:

Bach. LAYNE VALERIA SALDAÑA MORA

ASESORES:

Q.F. IVONNE NAVARRO DEL ÁGUILA, Mgr.

Q.F. CLAUDIO ADRIANO APAGÜEÑO ARÉVALO

IQUITOS –PERU

2019

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay, Dra.

Presidente



Q.F. Brenda Soraya Urday Ruiz, Mgr.

Miembro



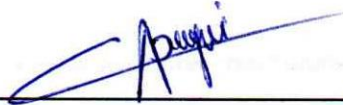
Q.F. Henry Vladimir Delgado Wong

Miembro

ASESORES



Q.F. Ivonne Navarro Del Águila, Mgr.



Q.F. Claudio Adriano Apagüeño Arévalo



ACTA DE SUSTENTACIÓN

En el caserío de Nina Rumi, Distrito de San Juan Bautista, Departamento de Loreto, a los...16... días del mes de Abril del dos mil diecinueve, siendo las 11:00 Horas, los Miembros del Jurado Calificador de Tesis designado según Resolución Decanal N°121-FFB-UNAP-2018, integrados por los señores docentes que a continuación se detalla:

- Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra. PRESIDENTA
- Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr. MIEMBRO
- Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG MIEMBRO



Se constituyeron en las instalaciones de la Facultad de Farmacia y Bioquímica sala de docentes, para proceder a dar inicio al Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis Titulada **"TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Calathea lutea* "Bijao" EN RATONES ALBINOS BALB/C"**, presentado por la Bachiller **LAYNE VALERIA SALDAÑA MORA**, para optar el TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO, que otorga la UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA, de acuerdo a la Ley Universitaria N° 30220 y el Estatuto General de la UNAP vigente.

Luego de haber escuchado con atención la exposición de la sustentante, y habiéndose formulado las preguntas respectivas, las cuales fueron respondidas:

..... satisfactoriamente


Los miembros del Jurado Calificador llegaron a las siguientes conclusiones:

- 1.-La Tesis ha sido..... aprobada por unanimidad
- 2.-Observaciones..... ninguna

Siendo las 12:05 horas se dio por concluido el Acto Académico de Sustentación Pública de la Tesis, felicitándoles a la sustentante por su adecuada sustentación




Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Dra.
PRESIDENTA


Q.F. BRENDA SORAYA URDAY RUIZ, Mgr.
MIEMBRO


Q.F. HENRY VLADIMIR DELGADO WONG.
MIEMBRO

DEDICATORIA

Para Laine Mora y Sergio Saldaña
Esto no sería posible sin ustedes

Layne Valeria

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios en primer lugar por la vida y la salud, por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizaje.

Al decano de la facultad de Farmacia y Bioquímica Luis Vílchez Alcalá por permitirme realizar mi tesis en sus instalaciones.

Les agradezco el apoyo y dedicación de tiempo a mis profesores y asesores Ivonne Navarro Del Águila y Claudio Apagüeño Arévalo. Por haber compartido conmigo sus conocimientos y sobre todo su amistad.

Le doy gracias a mis padres Laine y Sergio por ayudarme en todo momento, por creer en mí y por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida; son mi pilar de apoyo fundamental.

A mis hermanos por ser parte importante de mi vida y presentar la unidad familiar. A Erika y Bruno por ser un ejemplo de desarrollo profesional a seguir; a Mariana y mis sobrinos Nicolás, Dercy y Daniella por llenar mi vida de alegría.

A mis familiares y amigos Rubí y Krissel Saldaña, Vania Sologuren, Katherine Panduro y Jorge Pinedo por alentarme en todo momento y acompañarme en esta etapa de mi vida.

A mi gordita Greysi Celeste, aunque ya no se encuentre con nosotros físicamente, siempre la llevare en mi corazón, le agradezco por creer en mí hasta el último momento.

INDICE

| | |
|--|-----------|
| CAPÍTULO I | |
| INTRODUCCION | 11 |
| 1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN | 13 |
| 1.2. OBJETIVOS | 14 |
| 1.2.1. Objetivo General | 14 |
| 1.2.2. Objetivos Específicos | 14 |
| CAPÍTULO II | |
| MARCO TEORICO | 15 |
| 2.1. Antecedentes | 15 |
| 2.2. Marco Conceptual | 17 |
| 2.2.1. Aspectos generales de <i>Calathea lutea</i> “bijao” | 17 |
| 2.2.2. Generalidades | 17 |
| 2.2.3. Descripción botánica | 17 |
| 2.2.4. Distribución | 18 |
| 2.2.5. Usos tradicionales | 19 |
| 2.2.6. Compuestos químicos | 19 |
| 2.2.7. Beneficios según la medicina alternativa | 19 |
| 2.3. Toxicología y estudios toxicológicos | 20 |
| 2.3.1. Toxicología experimental | 20 |
| 2.3.2. Toxicidad aguda | 21 |
| 2.3.3. Clases de toxicidad aguda (CTA) | 22 |
| 2.3.4. Estudios de toxicidad a dosis limites | 23 |
| 2.3.5. Toxicidad crónica | 24 |
| 2.4. Definiciones Operacionales | 25 |
| 2.4.1. Variable | 25 |
| 2.4.2. Indicadores | 25 |

| | |
|---|-----------|
| 2.4.3. Hipótesis | 25 |
| CAPÍTULO III | |
| METODOLOGIA | 26 |
| 3.1. Diseño Metodológico | 26 |
| 3.2. Diseño de Investigación | 26 |
| 3.3. Población y Muestra | 26 |
| 3.3.1. Población animal | 26 |
| 3.3.2. Muestra animal | 26 |
| 3.3.3. Población vegetal | 27 |
| 3.3.4. Muestra vegetal | 27 |
| 3.4. Materiales y Métodos | 28 |
| 3.4.1. Material biológica | 28 |
| 3.4.2. Equipos | 28 |
| 3.4.3. Materiales de laboratorio | 28 |
| 3.4.4. Drogas e insumos químicos | 28 |
| 3.5. Procedimientos de Recolección y Análisis de Datos | 29 |
| 3.5.1. Obtención del extracto acuoso de hojas de <i>Calathea lutea</i> “bijao” y determinación de rendimiento | 29 |
| 3.5.1.1. Recolección de la muestra vegetal | 29 |
| 3.5.1.2. Identificación de la muestra vegetal | 29 |
| 3.5.1.3. Obtención del extracto acuoso de <i>Calathea lutea</i> “bijao” | 29 |
| 3.5.1.4. Rendimiento de los Procesos de extracto acuoso de hojas de <i>Calathea lutea</i> “bijao” | 30 |
| 3.6. Determinación de la toxicología aguda oral por el método de clases toxicas agudas del extracto acuoso de hojas de <i>Calathea lutea</i> “bijao” | 30 |
| 3.7. Determinación de la alteración de órganos mediante la observación macroscópica | 31 |
| 3.8. Consideraciones Éticas | 32 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| CAPÍTULO IV | |
| RESULTADOS | 33 |
| DISCUSION | 36 |
| CONCLUSION | |
| RECOMENDACIONES | |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS | |
| ANEXOS | |

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" en ratones albinos *Mus musculus* Balb/C". El estudio experimental, prospectivo, transversal, tuvo como muestra animal a 12 ratones albinos Balb/C del sexo macho repartidos en grupo control negativo y 3 grupos experimentales a los cuales, previo ayuno, se les administró una dosis única por vía oral de extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" a una dosis de 25 mg/kg, 200 mg/kg y 2 000 mg/kg respectivamente. Se registró el peso corporal de los ratones el día uno, siete y catorce. Los resultados más importantes encontrados fueron: un 7,23% de rendimiento por cada 100 g. de hoja seca. Durante el tiempo de experimentación se mostró un aumento de aproximadamente 17,52% del peso promedio del primer al séptimo día, y una disminución de aproximadamente 15,42% del peso promedio del séptimo al décimo cuarto día. En cuanto a la observación macroscópica de toxicidad aguda de los órganos y sistemas, se evidenció sedación leve a nivel de comportamiento en todos los grupos, y a nivel cutáneo y del sistema autónomo, pilo erección leve a la dosis de 200 mg/kg peso corporal. Asimismo, se evidenció agrandamiento hepático en los grupos 2 (200 mg/kg) y predominancia en el 3 (2000 mg/kg P.C) con una variación de 1,97 g en el peso entre los grupos, significando un aumento de aproximadamente el 80% del basal y el 30% del peso corporal total del ratón. Por lo cual, se puede concluir que el extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" presenta un posible efecto toxico o nocivo en los animales de experimentación (a dosis de 2000 mg/kg) al manifestarse alteraciones clínicas significativas al nivel hepático observados en comparación con el grupo control negativo.

Palabras claves: *Calathea lutea*, toxicidad aguda, alteraciones clínicas.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to determine the acute toxicity of the aqueous extract of *Calathea lutea* "bijao" leaves in albino mice *Mus musculus* Balb/C ". It was an experimental study, of the prospective, transversal type. It had as animal sample of 12 male Balb/C albino mice, distributed a negative control group and 3 experimental groups previous fasting the aqueous extract was administered orally at a single dose of leaves of *Calathea lutea* "bijao" was administered 25 mg/kg, 200 mg/kg and 2000 mg/kg dose. The body weight of the mice was recorded on day one, seven and fourteen. The most important results were: We obtained a 7,23% yield per 100 g. of dry leaf. During the experimentation time, an increase of approximately 17, 52% of the average weight was observed from the first to the seventh day, and a decrease of approximately 15, 45% of the average weight from the seventh to the fourteenth day. Regarding the macroscopic observation of acute toxicity of the organs and systems, mild sedation was observed at the behavioral level in all groups, and mild erection was observed at the cutaneous and autonomous systems at a dose of 200 mg/kg body weight. Likewise, hepatic enlargement was evident in group 2 (200 mg/kg) and predominance in 3 (2000 mg/kg doses) with a variation of 1,97 g in weight between the groups, meaning an increase of approximately 80% of the basal and 30% of the total body weight of the mouse. Therefore, it can be concluded that the aqueous extract of *Calathea lutea* "bijao" leaves present a possible toxic or noxious effect in the experimental animals when significant clinical alterations were observed at the hepatic level compared to the negative control group.

Keywords: *Calathea lutea*, acute toxicity, clinical alterations.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

El Perú no tiene un registro de muchas especies en estudio. A pesar de su biodiversidad en plantas, los principales estudios solo se limitan al campo de la botánica y la fitoquímica. Sin embargo, en su mayoría aún no se han realizado estudios de actividad biológica (farmacología) y de toxicidad; pudiéndose a éstos darle una aplicación industrial como alimentos funcionales, esencia de alimentos, preservantes, repelentes de insectos y/o como conservantes de preparados alimenticios; convirtiéndolos en productos competitivos en la industria ¹.

A pesar de la gran utilización de estas plantas por la población, pocas de estas han sido estudiadas siguiendo métodos científicos validados y atendiendo a normas éticas establecidas internacionalmente, ya que, si bien el uso popular es un indicador importante, no es garantía de la actividad terapéutica y de su inocuidad ².

En la amazonia, ancestralmente, se han usado hojas de diversas plantas para envolver los alimentos, cuando familias o cazadores indígenas recorrían largas distancias en el bosque. Entre las plantas empleadas para este fin, la hoja de *Calathea lutea* "bijao" permite conservar los alimentos sin que se deterioren. Actualmente, algunas hojas se siguen usando de este modo cuando no se cuenta con envases de plástico ³.

La especie vegetal *Calathea lutea* "bijao" ha sido utilizada siempre por nuestros ancestros para la elaboración de magníficos platos oriundos de la Amazonía, usada también para la elaboración de techos rústicos de vivienda. La planta ornamental destila una cera del tallo que es usada por los indígenas para elaborar artesanías y también es empleada como antídoto contra la mordedura de serpientes ⁴.

Esta planta se encuentra en toda la selva de nuestro país, ya que se consume o se utiliza para la preparación de un alimento tradicional denominado “El Juane”, el cual es comúnmente consumido por la población de nuestra región. Asimismo, esta especie vegetal no cuenta con estudios que demuestren su inocuidad, por lo que es necesario conocer si es capaz de producir alguna alteración o signo de toxicidad ⁵.

Dentro de la batería de ensayos de primera barrera se encuentran los estudios de toxicidad aguda a dosis única imprescindibles en la estimación del potencial tóxico de una sustancia, referido como el estudio cuali-cuantitativo de los fenómenos tóxicos y de su aparición en función del tiempo tras la administración de una dosis única de la sustancia o de varias dosis fraccionadas en el transcurso de 24 horas ⁶. Así es como el objetivo principal de esta investigación es determinar la existencia de toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” en ratones albinos Balb/C”. A partir de ello podemos plantearnos objetivos específicos como obtener el extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” y determinar su rendimiento; determinar la existencia de toxicidad aguda por vía oral según método de Clases Tóxicas Agudas (CTA) del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” a dosis de 25mg/kg P.C., 200mg/Kg P.C y 2 000mg/Kg P.C, en animales de experimentación; y determinar la alteración de órganos y sistemas internos mediante la observación macroscópica.

1.1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe toxicidad aguda en el extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" en ratones albinos Balb/C?

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

- Determinar la existencia de toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" en ratones albinos Balb/C".

1.2.2. Objetivos Específicos

- Obtener el extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" y determinar su rendimiento.
- Determinar la existencia de toxicidad aguda por vía oral según método de Clases Toxicas Agudas (CTA) del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" a dosis de 25mg/kg P.C., 200mg/Kg P.C y 2 000mg/Kg P.C, en animales de experimentación.
- Determinar la alteración de órganos y sistemas internos mediante la observación macroscópica.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

Gupta MP. *et al.*, (1994), en su investigación titulada “Inventario de plantas medicinales de Kuna Indians: parte I” cuyos objetivos fueron documentar el uso medicinal de las plantas; recolectar e identificar las especies herbáceas; buscar bases de datos computarizados sobre referencias bibliográficas de las plantas por género y especie; y evaluar el uso de estas plantas basados en información farmacológica y química disponible. Con respecto a la *Calathea lutea* “bijao”, concluye que la infusión de las flores es usada tópicamente para baños en niños débiles y para incrementar su capacidad de entendimiento ⁷.

Duke J.A (1994), menciona que, en el Perú, la raíz cocida del bijao *Calathea lutea* se usa en adultos para controlar las náuseas y la diarrea ⁸.

Aguirre R. *et al.*, (2010), en su investigación titulada “Separación, identificación y Cuantificación de taninos de la hoja de *Calathea lutea* ‘bijao’” realizaron un estudio de separación, identificación y cuantificación de metabolitos secundarios de la hoja de *Calathea lutea* “bijao”. El análisis fitoquímico se realizó por el método de Cain-Bohman encontrándose: saponinas, flavonoides, cumarinas, alcaloides y compuestos fenólicos. Y se determinó la presencia de taninos por el método de Jean, presentando taninos de estructura catéquica. En conclusión, la hoja de bijao presenta una considerable cantidad de taninos indicando que puede servir como astringente ⁵.

Escobar D, *et al.*, (2014), en el artículo “Del juane su bijao” menciona que la “*Calathea lutea*”, nombre científico del bijao, es una planta herbácea, de grandes hojas de forma ovalada, que tiene propiedades antimicrobianas, lo que se relaciona con la preservación de los alimentos ³.

2.2. Marco Conceptual

2.2.1. Aspectos generales de *Calathea lutea* “bijao”

La clasificación taxonómica de *Calathea lutea* “bijao” es de la siguiente manera ^(9, 10)

| | | |
|----------------|---|---|
| ✓ Reino | : | Plantae |
| ✓ División | : | Magnoliophyta |
| ✓ Clase | : | Liliopsida |
| ✓ Orden | : | Zingiberales |
| ✓ Familia | : | Marathaceae |
| ✓ Género | : | Calathea |
| ✓ Especie | : | <i>Calathea lutea</i> |
| ✓ Nombre común | : | hoja de bijao, hoja blanca |
| ✓ Origen | : | Venezuela, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Honduras. |

2.2.2. Generalidades

El “bijao” *Calathea lutea* es una especie de gran porte, que alcanza hasta los 3 m de alto, con hojas basales y caulinares, grandes y con el envés blanco-pruinoso, con una sin florescencia caulinar de hasta 8 florescencias cilíndricas, de brácteas en espiral, elípticas, de ápice retuso, verdes a vinotinto ².

2.2.3. Descripción botánica

La planta alcanza los 3 m de altura, es parecida a la mata de platanillo, es perenne, robusta y posee múltiples tallos que nacen desde su base (cepa), y pueden articularse para formar nuevos tallos y así aumentar en altura el tamaño de la planta. Las hojas miden entre los 50 cm y los 100 cm de largo

y entre 25 cm y los 60 cm de ancho, su envés es de color blanco y posee cera, su pecíolo es más largo que la hoja, su nerviación es poco marcadas, finas, juntas y paralela, su borde es entero, su ápice tiene forma redonda y termina en una pequeña punta y su base es redondeada. Las flores son amarillas, se encuentran agrupadas en inflorescencias que tienen forma de espiga, localizadas al final de un largo pedúnculo; poseen una o varias brácteas que las cubren. Los frutos son capsulas alargadas tienen forma ovoide, son de color marrón rojizo y cada uno contiene 3 semillas ¹¹.



Foto 1 *Calathea lutea*

2.2.4. Distribución

Originaria de las Antillas venezolanas, Belice, Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, El Salvador, Honduras y toda la zona tropical americana, donde crece en los bosques húmedos en zonas pantanosas a lo largo de los ríos a baja y media altitud ⁹.

2.2.5. Usos tradicionales

Usada como envoltura natural para el transporte de alimentos, por lo que su presencia es tolerada y no es objeto de corte durante las labores agrícolas ⁵.

Infusión de las flores es usada tópicamente para baños en niños débiles y para incrementar su capacidad de entendimiento. En Perú, la raíz cocida se usa en adultos para controlar las náuseas y la diarrea. En Panamá se usa popularmente para envolver tamales ¹⁰.

2.2.6. Compuestos químicos

La *Calathea lutea* "bijao". En el análisis fitoquímico se ha encontrado saponinas, flavonoides, cumarinas, alcaloides y compuestos fenólicos: taninos catéquicos. Se presentó altos porcentajes de taninos realizados por análisis volumétricos ³.

También los siguientes compuestos han sido aislados: apigenina, alcohol arachidílico, cosmosiina, cinarosida, docosan-1-ol, dotriacontan-1-ol-N hentriacontano, N-heptacosano, hexacosan-1-ol, luteolina, luteolina 7-O-beta-D-glucódo, N. nonacosano, octacosan-1-ol, N-pentacosano, tetracosan-1-ol, triacontan-1-ol ¹⁰.

2.2.7. Beneficios según la Medicina Alternativa

La *Calathea lutea* "bijao" ha sido utilizado siempre por nuestros ancestros para la elaboración de magníficos platos oriundos de la Amazonía, usada también para la elaboración de techos rústicos de viviendas. La planta ornamental destila una cera del tallo que es usado por los indígenas para elaborar artesanías, como también es empleado como antídoto contra la mordedura de serpientes ⁴.

2.3. Toxicología y estudios toxicológicos

La toxicología es el estudio de los venenos o, en una definición más precisa, la identificación y cuantificación de los efectos adversos asociados a la exposición a agentes físicos, sustancias químicas y otras situaciones. En ese sentido, la toxicología es tributaria, en materia de información, diseños de la investigación y métodos, de la mayoría de las ciencias biológicas básicas y disciplinas médicas, de la epidemiología y de determinadas esferas de la química y la física ¹².

La toxicología abarca desde estudios de investigación básica sobre el mecanismo de acción de los agentes tóxicos hasta la elaboración e interpretación de pruebas normalizadas para determinar las propiedades tóxicas de los agentes ¹².

Su objetivo es entender cómo afectan ciertas sustancias químicas al organismo de los seres vivos y encontrar los niveles de estas sustancias a partir de los cuales un compuesto pasa de ser seguro a no serlo. Esta meta es muy difícil de alcanzar puesto que lo que es inocuo para una persona podría ser letal para otra ¹³.

El rápido desarrollo de la industria química y el amplio uso de sustancias químicas a todos los niveles ha hecho necesario determinar la toxicidad de numerosos compuestos, que de algún modo se relacionan con la vida humana, y establecer cuáles son los niveles de exposición a esas sustancias que pueden representar un peligro potencial para la salud de la población ¹⁴.

En términos generales, con las pruebas toxicológicas se intenta investigar qué tipos de condiciones han de darse para que las células biológicas puedan verse afectadas por la actividad tóxica de una estructura química determinada ¹⁴.

2.3.1. Toxicología experimental

La evaluación de la toxicidad (llamada también Toxicología Experimental) tiene como objetivo determinar el grado y tipo de toxicidad (aguda, crónica, acción irritante, neurotoxicidad, etc.) de una determinada sustancia siguiendo unos protocolos estandarizados, generalmente para cumplir unos

requisitos legales para su registro, comercialización y utilización posterior¹⁵.

Por ende es de vital importancia que los profesionales en esta rama de la toxicología experimental conozcan los métodos abreviados que existen hoy en el mundo para evaluar la toxicidad aguda de un producto, las cuales en su momento se crearon para cumplir con el principio de las 3 "R" (reducción, refinamiento y reemplazo), y de esta forma trata de utilizar la menor cantidad de animales posibles y que la muerte no fuese el objetivo fundamental de este tipo de investigación sino la aparición de la llamada toxicidad evidente o signos y síntomas de toxicidad como criterio de punto final (endpoint) de su protocolo de trabajo investigativo¹².

2.3.2. Toxicidad aguda

La toxicidad aguda se refiere al desarrollo rápido de síntomas y efectos después de la aplicación de una dosis única relativamente alta o comúnmente se relaciona con los daños inmediatos generados por dosis únicas suficientemente grandes. La observación de los animales se lleva a cabo después de la administración de la sustancia y dura hasta 14 días, después de los cuales los animales son sacrificados y analizados anatomopatológicamente¹⁶.

Para cuantificar la toxicidad aguda en exposiciones por vía inhalatoria o en medio acuático, el parámetro más empleado suele ser la DL_{50} , y la CL_{50} pero también se utilizan las dosis que provocan un determinado efecto, como la DE_{50} o CE_{50} (dosis o concentración efectiva media¹²).

- **Periodo de observación:** Al menos 14 días, pero no rígidos. En este se determinará: reacciones tóxicas, inicio y término de periodo de recobrado. El tiempo en que los signos aparecen y desaparecen y

cuando mueren (esto es importante) ¹⁷.

- **Exámenes clínicos:** Se realizan: una vez al día (o más), necropsia a los moribundos y muertos, observaciones de: cambios en la piel y los pelos, ojos y membranas mucosas, respiratorio, circulatorio, autónomo y central, actividad somatomotora ¹⁷.
- **Signos clínicos:** Comportamiento, temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letárgica, sueño-coma, tiempo en que mueren lo más preciso posible, peso: a los tiempos 0, 7 y 14 ¹⁷.
- **Patología:** Necropsia de todos los animales, Cambios patológicos groseros deberán registrarse en animales que sobrevivan 24 o más horas ¹⁷.

2.3.3. Clases de Toxicidad Aguda (CTA) ¹⁸

La aplicación de los métodos “alternativos” al campo de la toxicología es reciente y coincide con la oposición social al uso indiscriminado de animales de experimentación, así como la necesidad que tenía esta ciencia en mejorar la evaluación toxicológica, ya que en ocasiones solo quedaba en la descripción del daño, que proporcionan los métodos tradicionales.

El gran abanico de procedimientos alternativos posibles, incluye las mejoras en el almacenamiento, uso e intercambio de la información con el objetivo de evitar la repetición innecesaria de ensayos; las mejoras en el diseño de los experimentos para aumentar su validez y disminuir el sufrimiento y el número de animales empleados. El resultado será sin dudas un progreso hacia métodos más humanos y contrastados científicamente que los vigentes en la legislación actuales.

Una de las alternativas surgidas es el método de las clases tóxicas agudas (CTA) impulsado por un grupo alemán; el cual utiliza sólo 3 animales del

mismo sexo en un procedimiento por etapas y permite clasificar las sustancias dentro del rango de toxicidad y confirmar los valores de DL50, obtenidos por el método convencional.

Estos son tres principios básicos que identifican el amplio concepto de los métodos alternativos basado en el principio de las tres erres:

- Sustituir los animales de experimentación por métodos in vitro.
- Disminuir el número de animales que se utilicen en los ensayos.
- Reducir el dolor en los animales, así como el sufrimiento.

2.3.4. Estudios de toxicidad a dosis límites ¹⁸

Los estudios de toxicidad aguda tienen por objeto determinar los efectos de una dosis única y muy elevada de una sustancia. Usualmente, el punto final del estudio es la muerte del animal y la toxicidad aguda se expresa por la dosis letal 50, que viene a representar más o menos la dosis de la sustancia que produce la muerte en el 50% de los animales.

Es importante señalar que los ensayos de toxicidad aguda no son un sinónimo de mortalidad de los animales expuestos al agente a evaluar; ya que una información amplia deberá ser obtenida a partir de este estudio, de toxicidad aguda correctamente diseñado que permita no solo un rápido conocimiento de letalidad sino también; la existencia de signos asociados a manifestaciones de toxicidad y posibles órganos blancos, entre otros aspectos.

Los ensayos se desarrollan en ambos sexos, así como también en animales jóvenes y adultos debido a las conocidas diferencias de susceptibilidad. La introducción de especies no roedores resulta de particular importancia cuando las DL50 en ratas y ratones son muy disímiles sugiriendo claras diferencias entre especies en la absorción, distribución, biotransformación y/o eliminación del principio activo.

2.3.5. Toxicidad crónica

Toxicidad subcrónica ¹⁹. A diferencia del tiempo de exposición en las pruebas de toxicidad aguda, las de toxicidad subcrónica implican dosis repetidas del compuesto químico a probar, normalmente se administra por un periodo de aproximadamente 90 días. El objetivo de este tipo de pruebas es investigar la toxicidad en órganos, obtenida de los datos de dosis efecto con los cuales se diseñan las pruebas de toxicidad crónica, incluida la estimación de un “nivel de efectos adversos no observados”, o NOAEL (por sus siglas en inglés). Se prueban al menos tres dosis: la dosis alta seleccionada que causa mortalidad en un 10% o menos; la dosis baja seleccionada no produce efectos tóxicos; una o más dosis intermedias; y un grupo control que no se expone al químico a probar. Se deben utilizar dos especies, por ejemplo, ratas y perros (grupos pequeños de 10 a 20 ratas y de 2 a 4 perros). Además, generalmente se aplican pruebas por separado en machos y hembras, porque el género puede afectar la vía de respuesta del cuerpo al químico tóxico.

Se observa cuidadosamente a los animales expuestos y se registran los signos y síntomas de toxicidad. Se colectan muestras de sangre y se analizan durante intervalos regulares. Al final de los 90 días, todos los animales sobrevivientes se sacrifican y autopsian, incluye examinación al microscopio de órganos y tejidos para caracterizarlas patologías asociadas con la exposición al químico de prueba ¹⁶.

2.4. DEFINICIONES OPERACIONALES

2.4.1. Variable

- Variable independiente
 - Extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao”
- Variables dependientes
 - Rendimiento de obtención del extracto acuoso de *Calathea lutea* “bijao”
 - Toxicidad aguda por el método clases toxicas agudas.
 - Alteración de órganos y sistemas internos mediante observación macroscópica.

2.4.2. Indicadores

- Dosis de 25mg/kg, 200mg/Kg y 2 000mg/kg de peso corporal de *Calathea lutea* “bijao”.
- Signos clínicos tóxicos en los individuos de los diferentes grupos experimentales.
- Evaluación macroscópica de órganos.

2.4.3. Hipótesis

- Hi: El extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” presenta toxicidad aguda a las dosis de 25 mg/kg, 200mg/Kg y 2 000mg/kg administradas por vía oral en ratones albinos Balb/C.
- H₀: El extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” no presenta toxicidad aguda administrado por vía oral en ratones albinos Balb/C.

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1. Diseño Metodológico

El estudio fue experimental, prospectivo y transversal. Experimental, porque se manipuló deliberadamente las variables, con el fin de investigar las posibles relaciones causa – efecto. Prospectivo, porque el estudio se desarrolló hacia delante en el tiempo. Transversal, porque el estudio se realizó en un punto específico en el tiempo.

3.2. Diseño de investigación

El ensayo se realizó según el método de las clases tóxicas agudas, descrito por la normativa N°423 de la OECD (OECD Guideline for Testing of Chemical «Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method»), adoptada el 20 de diciembre del 2001. Se formaron 4 grupos de 3 ratones cada uno, un grupo de control negativo y tres grupos experimentales, a los que se les administró el extracto acuoso de *Calathea lutea* “bijao” por vía oral a dosis de 25 mg/kg, 200 mg/kg y 2000 mg/kg respectivamente. El estudio se realizó con ratones albinos *Mus musculus*, cepa Balb/C, con peso corporal de 25 gr aproximadamente, del sexo macho.

3.3. Población y Muestra

3.3.1. Población animal

Para este estudio se utilizaron ratones albinos cepa Balb/C, de sexo macho, con 25 gr de peso procedentes del Centro Nacional de Producción Biológicos del INS-MINSA.

3.3.2. Muestra animal

Se utilizaron 12 ratones albinos Balb/C sexo macho, para formar los grupos experimentales según protocolo de estudio (anexo 1).

- **Criterios de inclusión**

- Ratones adultos y sanos.

- Ratonos sexo macho con peso corporal >25gr.

- **Criterios de exclusión**

- Ratonos con alteraciones que muestren signos evidentes de enfermedad.
- Ratonos que hayan sido utilizados en evaluaciones anteriores.
- Ratonos sexo macho con peso corporal <25gr.

3.3.3. Población vegetal

Estuvo conformada por hojas de *Calathea lutea* “bijao” que fueron recolectadas en el distrito de Indiana, provincia de Maynas, región Loreto, Perú.

3.3.4. Muestra vegetal

La muestra estuvo constituida por 300 g de hojas secas de *Calathea lutea* “bijao”. Para la recolección se tuvieron en cuenta los siguientes factores: hábitat de la planta, diámetro de la planta, hora de recolección durante el día.

- **Criterios de inclusión**

- Hojas en buen estado con longitud mayor a 50 cm de altura

- **Criterios de exclusión**

- Hojas con presencia de contaminantes biológicos (hongos).

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Material biológico

- Material animal
 - Ratones albinos "*Mus musculus*", cepa Balb/C, sexo macho, procedente del Centro Nacional de Producción de Biológicos del Instituto Nacional de Salud –MINSa, con sede en Lima. Con certificado de salud (anexo 2)

- Material vegetal
 - Estuvo constituida por hojas recolectadas en el distrito de Indiana, provincia de Maynas, región Loreto, Perú.

3.4.2. Equipos

Se utilizaron los siguientes equipos: Estufa, Cocina eléctrica (JENWAY), balanza analítica (H. W. KESSEL S.A) y balanza mecánica (OHAUS).

3.4.3. Materiales de laboratorio

Se utilizaron los siguientes materiales de laboratorio: Probetas, guantes quirúrgicos Nº7, algodón hidrófilo, espátula mediana, marcador de vidrio, mascarillas descartables, papel toalla, embudos, papel filtro, bandejas plásticas con tapa de malla metálica, viruta y biberones.

3.4.4. Drogas e insumos químicos

Se utilizaron las siguientes drogas e insumos químicos: Cloruro de Sodio 0.9%, alcohol medicinal y ácido pícrico.

3.5. Procedimientos de Recolección y Análisis de Datos

3.5.1. Obtención del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” y determinación de rendimiento

3.5.1.1. Recolección de la muestra vegetal

El área de recolección de las hojas de *Calathea lutea* “bijao” fue el distrito de Indiana que se encuentra geográficamente a 03°29'54” latitud sur y 73°02'40” latitud Oeste, ubicada en la provincia de Maynas, región Loreto.

3.5.1.2. Identificación de la muestra vegetal

Para la muestra vegetal de las hojas de *Calathea lutea* “bijao” se solicitó la identificación taxonómica en el Herbarium Amazonense-CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP) que otorgó una Constancia de Acreditación (anexo 3).

3.5.1.3. Obtención del extracto acuoso de *Calathea lutea* “bijao”

Las hojas de *Calathea lutea* “bijao” se secaron a temperatura ambiente, al aire libre. Una vez secas, fueron cortadas lo suficientemente pequeñas, envasados y conservadas en un lugar seco y fresco. Posteriormente, se pesaron 300 gr de la muestra y se cocieron con 3000 ml de agua destilada, a temperatura de 60°C a 70 °C durante 2 horas hasta reducir el agua al 60% del volumen total. Una vez seco el extracto acuoso, se pesó y se envasó en un frasco de vidrio hermético y estéril para su conservación y posterior utilización después de quince días de ser preparado (anexo 4).

3.5.1.4. Rendimiento de los procesos de extracto del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao"

El rendimiento, se calculó mediante la siguiente fórmula matemática:

$$n = \frac{M_{EXP}}{M_0} \times 100$$

n : Rendimiento del extracto

M_{EXP} : Peso del extracto seco

M_0 : Peso inicial

100: Factor matemático para los cálculos.

3.6. Determinación de la toxicología aguda oral por el método de clases tóxicas agudas del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" ²⁰

El ensayo toxicológico fue desarrollado según el método de las clases tóxicas agudas descrito en la normativa N° 423 de la OECD (OECD Guideline for Testing of Chemical «Acute Oral Toxicity Acute Toxic Class Method) adoptada el 20 de diciembre del 2001. Una vez llegados los ratones al laboratorio fueron acondicionados a una temperatura ambiente de 25°C, con humedad promedio de 30 a 70%. Asimismo, tuvieron acceso libre a agua y alimento, y un ciclo luz/oscuridad de 12/12 horas. Se formaron 4 grupos de 3 ratones cada uno, 1 grupo control negativo y 3 grupos experimentales. Se procedió a marcar cada ratón en diferentes partes del cuerpo: cabeza, lomo y cola (anexo 5). A cada ratón de cada grupo experimentales le administró por vía oral la sustancia de prueba a dosis de 25 mg/kg, 200 mg/kg y 2 000 mg/kg de peso corporal respectivamente.

Se pesaron los animales (ratones albinos) y se registraron los signos basales (comportamiento, actividad espontánea). Antes de iniciar el estudio, los animales fueron sometidos a un ayuno de 12 horas. Se administraron por vía oral a los ratones el extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" a dosis de 25, 200 y 2000mg/Kg,

respectivamente dentro de las categorías establecidas por el método (anexo 6). La observación de los ratones se realizó constantemente las primeras 24 horas. Al no presentarse signos tóxicos incluyendo la mortalidad se procedió a continuar la evaluación durante 14 días. Se anotó la hora exacta de cada administración y se observó con cuidado la presencia de los signos tóxicos a nivel de sistema/órgano (anexo 7). Se finalizó el experimento sacrificando a los animales por el método de dislocación cervical, teniendo en cuenta los principios éticos de experimentación en animales, y se evaluó peso, coloración, consistencia y tamaño de los diferentes órganos ¹⁸ (anexo 8).

Formación de grupos experimentales:

| Grupo experimental | Extracto o insumo | Dosis y/o volumen | N° animales |
|---------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------|
| Grupo Control negativo | Cloruro de sodio 0,9% | 1 ml | 3 |
| Grupo Exp 1. | Extracto acuoso de <i>C. lutea</i> | 25 mg/kg | 3 |
| Grupo Exp 2. | Extracto acuoso de <i>C. lutea</i> | 200 mg/kg | 3 |
| Grupo Exp 3. | Extracto acuoso de <i>C. lutea</i> | 2000 mg/kg | 3 |

3.7. Determinación de la alteración de órganos mediante la observación macroscópica

Se realizó la autopsia para extraer los órganos (corazón, riñón, hígado, estómago) de los animales en experimento, que posteriormente fueron examinados macroscópicamente. Se utilizaron tablas de comparaciones con los órganos de los animales en experimento sin tratamiento ²¹.

3.8. Consideraciones Éticas

Protección de los Derechos de los Animales de Experimentación

En las investigaciones biomédicas tienen una responsabilidad ética de salvaguardar la salud y el bienestar de los animales de experimentación, preservándolos de cualquier daño, dolor y sufrimiento innecesario antes, durante y después del periodo de estudio sin contar que además para el científico, el término de “buen uso”, indica la necesidad de poder contar con animales homogéneos en cuanto a genética, salud, edad, alimentación, peso, etc. para que los resultados puedan ser confiables. ²²

Para este estudio se siguieron las líneas que marcan el Comité para la Investigación y la Ética de la IASP 86 en lo concerniente a los aspectos éticos de los experimentos que implican dolor o sufrimiento a los animales. ²³

Las consideraciones éticas que se tuvo en cuenta son:

- Los animales de experimentación estuvieron expuestos al mínimo dolor necesario para alcanzar los objetivos de la investigación.
- La duración del experimento fue la más corta posible.
- Se utilizaron pequeños grupos de animales, lo necesario para demostrar o rechazar la hipótesis de trabajo.

CAPITULO IV

RESULTADOS

Tabla 1: Porcentaje del rendimiento del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao”

| Nombre Científico | Parte Utilizada | Cantidad de muestra seca (g.) | Peso extracto (g.) | Rendimiento (%) |
|------------------------------|-----------------|-------------------------------|--------------------|-----------------|
| <i>Calathea lutea</i> | Hojas | 300 | 21.7 | 7.23 % |

En la tabla 1 se describe el porcentaje del rendimiento del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao”, obteniéndose como resultado un 7,23% de rendimiento por cada 100 g. de hoja seca.

Tabla 2. Peso promedio de los ratones durante la experimentación con extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao”

| GRUPOS | DIA 1 X ± SD | DIA 7 X ± SD | DIA 14 X ± SD |
|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| Control Negativo | 22,83 ± 2,61 | 28,10 ± 7,55 | 25,60 ± 5,41 |
| Dosis 25 mg/kg | 28,53 ± 0,58 | 34,13 ± 0,91 | 29,47 ± 0,47 |
| Dosis 200 mg/kg | 29,37 ± 0,76 | 35,43 ± 1,78 | 28,00 ± 1,73 |
| Dosis 2000 mg/kg | 31,70 ± 1,80 | 36,37 ± 5,75 | 31,83 ± 3,63 |

En la tabla 2 se indican los promedios y desviación estándar del peso corporal de los ratones de los grupos de experimentación, donde se mostró un aumento de aproximadamente 17,52% del peso promedio del primer al séptimo día, y una disminución de aproximadamente 15,42% del peso promedio del séptimo al décimo cuarto día.

Tabla 3. Observaciones macroscópicas de toxicidad aguda de los sistemas asociados a las acciones del agente

Órgano/Sistema: Signos Tóxicos

| Órganos y sistemas | Grupos | Grupo (control negativo) NaCl 0.9% | Grupo 1 (experimental) 25 mg/kg | Grupo 2 (experimental) 200 mg/Kg | Grupo 3 (experimental) 2000 mg/Kg |
|--------------------|--------|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|
| Autónomo | | NSP | NSP | Pilo erección leve | NSP |
| Comportamiento | | Sedación leve | Sedación leve | Sedación leve | Sedación leve |
| Sensorial | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Neuromuscular | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Cardiovascular | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Respiratorio | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Ocular | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Gastrointestinal | | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Cutáneo | | NSP | NSP | Pilo erección leve | NSP |

NSP = No se presentó.

En la Tabla 3 se comparan los signos clínicos/tóxicos observados en los ratones del grupo control negativo con los ratones de los grupos experimentales según el cuadro de "Observaciones de toxicidad aguda para determinar los órganos blancos asociados a las acciones del agente", donde se evidenció sedación leve a nivel de comportamiento en todos los grupos, y pilo erección leve en el grupo 2 (experimental), a dosis de 200 mg/kg P.C.

TABLA 4. Indicadores macroscópicos de los principales órganos de los ratones sexo macho tratados con extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao”

| Órganos | Característica | Grupo | Grupo 1 | Grupo 2 | Grupo 3 |
|----------|----------------|----------------------|--------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | | Control Negativo | Experimental 25 Mg/Kg | Experimental 200 Mg/Kg | Experimental 2000 Mg/Kg |
| CORAZÓN | Color | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo |
| | Consistencia | Textura dura | Textura dura | Textura dura | Textura dura |
| | Tamaño | Normal | Normal | Normal | Normal |
| | Peso Relativo | 0,532 | 0,566 | 0,594 | 0,601 |
| HÍGADO | Color | Rojo vinoso | Rojo vinoso | Rojo vinoso | Rojo vinoso |
| | Consistencia | Suave | Suave y firme | Suave y firme | Suave y firme |
| | Tamaño | Normal | Normal | Ligeramente | Ligeramente |
| | Peso Relativo | 6,536 | 6,991 | 7,550 | 7,961 |
| RIÑÓN | Color | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo | Rojo grisáceo |
| | Consistencia | Suave y firme | Suave y firme | Suave y firme | Suave y firme |
| | Tamaño | Normal | Normal | Normal | Normal |
| | Peso Relativo | 0,027 | 0,031 | 0,029 | 0,028 |
| ESTÓMAGO | Color | Crema amarillenta | Crema amarillenta | Crema amarillenta | Crema amarillenta |
| | Consistencia | Suave y firme | Suave y firme | Suave y firme | Suave y firme |
| | Tamaño | Normal | Normal | Pequeño | Normal |
| | Peso Relativo | 0,952 | 0,985 | 0,563 | 0,637 |

En la tabla 4 se comparan los indicadores macroscópicos como color, consistencia, tamaño y peso relativo de los órganos de los ratones, donde se evidenció que el corazón presentó una variación de 0,69 g en el peso entre los grupos; se evidencia agrandamiento hepático en los grupos 2 (200 mg/kg P.C) y predominancia en el 3 (2000 mg/kg P.C) con una variación de 1,97 g en el peso entre los grupos, significando un aumento de aproximadamente el 80% del basal y el 30% del peso corporal total del ratón; los riñones presentó una variación de 0,019 g en el peso entre los grupos; y el estómago presentó una variación de 0,422 g en el peso entre los grupos (anexo 8).

DISCUSION

El presente estudio toxicológico se realizó mediante el método de Clases Tóxicas Agudas, descrito en la normativa N° 423 de la OCDE, y se comprobó bajo las condiciones experimentales la posible toxicidad del extracto acuoso de *Calathea lutea* "bijao". Actualmente, no existen reportes o estudios similares realizados, solo se hace mención de sus propiedades y usos en la gastronomía, según lo reportado por (Gómez E., 2014) ², donde menciona que la hoja de bijao es empleada para la preparación de comidas típicas de la selva como el juane y la patarashca. Además, (Gupta MP., et al, 1994) ⁷. Realizaron un estudio en el uso etnomédico de la *Calathea lutea* "bijao", concluyendo que la infusión de las flores es usada tópicamente para baños en niños débiles y para incrementar su capacidad de entendimiento.

De acuerdo con los resultados no se observaron alteraciones clínicas significativas de toxicidad en el sistema autónomo, sensorial, neuromuscular, cardiovascular, respiratorio, ocular, gastrointestinal y cutáneo; a excepción de una leve sedación o estado de inactividad en un corto tiempo en todos los grupos experimentales tratados con el extracto acuoso de *Calathea lutea* "bijao" a dosis de 25, 200 y 2000 mg/kg ni en el grupo control negativo. Esto puede deberse al agotamiento y/o cansancio de los ratones albinos durante la experimentación. Asimismo, se observó la coloración, consistencia, tamaño y peso de los principales órganos (corazón, hígado, riñones y estómago), los cuales fueron comparados con el grupo control negativo. Se evidenció agrandamiento hepático en los grupos 2 (200 mg/kg P.C) y predominancia en el 3 (2000 mg/kg P.C) con una variación de 1,97 g en el peso entre los grupos, significando un aumento de aproximadamente el 80% del basal y el 30% del peso corporal total del ratón, determinándose que podría existir un posible efecto tóxico o nocivo del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" en los animales de experimentación.

El extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" fue obtenido a partir de 300 gramos de hojas secas, con un rendimiento de 7,23%. Por lo que se puede concluir que por cada 100 g. de hojas se obtiene aproximadamente 21,7 g. de extracto acuoso de *Calathea lutea* "bijao".

Con respecto al peso corporal, no se podría afirmar el motivo real por el cual hubo un aumento significativo al séptimo día, al no contarse con un estudio bioquímico que lo justifique. Asimismo, no podría atribuirse a la administración del extracto acuoso de *Calathea lutea* "bijao". Sin embargo, podría deberse a la composición del alimento caracterizado por contener proteínas (48,40%), soya (22,20%), vitaminas y minerales (0,12%). Además, podría estar relacionado con el metabolismo propio del animal de experimentación. Por otro lado, al llegar el día 14, se aprecia una leve disminución, el cual podría atribuirse al metabolismo y al incremento de la actividad motora del propio del animal.

CONCLUSION

Se validó la hipótesis de investigación al existir un posible efecto tóxico o nocivo del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" en los animales de experimentación, al presentar alteraciones clínicas significativas al nivel hepático, lo que invalida la hipótesis nula.

El porcentaje del rendimiento del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* "bijao" obtenido fue un 7,23% de rendimiento por cada 100 g. de hoja seca.

En la comparación de los promedios y desviación estándar del peso corporal de los ratones de los grupos de experimentación, se mostró un aumento de aproximadamente 17,52% del peso promedio del primer al séptimo día, y una disminución de aproximadamente 15,42% del peso promedio del séptimo al décimo cuarto día.

En la comparación de los signos clínicos/tóxicos observados en los ratones del grupo de control negativo con los ratones de los grupos experimentales, se evidenció sedación leve a nivel de comportamiento en todos los grupos, y pilo erección leve en el grupo 3 experimental, a dosis de 200 mg/kg PC, mediante el método de Clases Toxicas Agudas.

En relación con los indicadores macroscópicos como color, consistencia, tamaño y peso relativo de los órganos de los ratones, se evidenció que el corazón presentó una variación de 0.69 g en el peso entre los grupos; se evidencia agrandamiento hepático en los grupos 2 (200 mg/kg P.C) y predominancia en el 3 (2000 mg/kg P.C) con una variación de 1,97 g en el peso entre los grupos, significando un aumento de aproximadamente el 80% del basal y el 30% del peso corporal total del ratón; los riñones presentó una variación de 0,019 g en el peso entre los grupos; y el estómago presento una variación de 0,422 g en el peso entre los grupos.

RECOMENDACIONES

- Estudios histopatológicos en órganos diana tratados con hojas de *Calathea lutea* “bijao”.
- Realizar estudios bioquímicos hepáticos y marcadores enzimáticos a cada grupo de experimentación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Tomás G, Huamán I, Aguirre R, Guerrero M, Orihuela C. K. Candía T. M. Barreda T. Estudio Químico Y Fitoquímico Del *Tagetes elíptica* "Chincho" Y *Calathea Lutea* "bijao", Como Alternativa De Alimentos Funcionales. Rev. Per. Quim. Ing. Quim. 2010; 13 (1): 11-13.
2. Identificación, caracterización del hábitat, conservación y uso de plantas de la familia Marantaceae en la jurisdicción de Corantioquia. Pág. 10
3. "Del juane su bijao". Biodiversidad-t [en línea] 2014 Julio [fecha de acceso 13 Noviembre del 2015]; 1 (6): 14-15. Disponible en www.pronaturaleza.org
4. La Hoja de Bijao, el secreto de la Gastronomía Amazónica. Madeintingomaria.com [en línea] 2015 noviembre 13 [fecha de acceso 18 noviembre del 2015]. Disponible en <http://www.madeintingomaria.com/2015/11/la-hoja-de-Bijao-el-secreto-Gastronomia-Amazonica.html> /
5. Aguirre R, Tomás G, Huamán J, Galarreta H, Ccaccia A. Separación, Identificación Y Cuantificación De Taninos De La Hoja De La *Calathea lutea* "bijao". Rev. Per. Quim. Ing. Quim. 2010; 13 (1): 64-66.
6. Bermúdez D, Monteagudo E, Boffill M, Díaz E, Roca A, Betancourt E, Silveira E. Evaluación De La Toxicidad Aguda De Extractos De Plantas Medicinales Por Un Método Alternativo (Evaluation Of Acute Toxicity Of Extracts Of Medicinal Plants By An Alternative Testing). REDVET 2007; VIII (3): 2

7. Gupta M.P, Correa M, Solís P.N, Jones A, Galdámez C, Guionneau – Sinclair. 1993. **Medicinal Plant Inventory of Kuna Indians: Part I.** *Journal of Ethnopharmacology*40: 77-109.
8. Duke J.A. 1994. Amazonian Ethnobotanical Dictionary. Book. 181 p. USA. Citado por: Gupta M, Santana A, Espinosa A. Plantas Medicinales de Panamá. Colombia. Annals of the Missouri Botanical Garden. 2016.
9. Rincón P. *CALATHEA LUTEA* “bijao”. Presi 2014.
https://prezi.com/i92nrizblg_l/calathea-lutea/
10. Gupta M, Santana A, Espinosa A. Plantas Medicinales de Panamá. Colombia. Annals of the Missouri Botanical Garden. 2016.
11. Corporación Autónoma Regional del Tolima. Apéndice [en línea]. Disponible en: https://www.cortolima.gov.co/sites/default/files/.../apendice_2.18_flora.pdf. Pág. 1
12. Cuadernillo De Apoyo Para La Asignatura De Toxicología. Tecnológico De Estudios Superiores Del Oriente Del Estado De México División De Ingeniería Ambiental. N° 1
13. Albert L. 7° Congreso de Actualización en Toxicología Clínica. Retel 2005;5.
14. Valles Vega P, Florentino L. TOXICOLOGIA EN ALIMENTOS. ISBN: 92-75-31004-4. 2000: 3
15. Repetto M. Toxicología fundamental. 3ª ed. España: DíazDeSantos; 1997.

16. Arencibia Arrebola D, Rosario Fernández L, López Feria Y, Fariñas Medina M, Infantes Bourzac J, Díaz Rivero D et al. Algunas consideraciones sobre la determinación de la toxicología aguda. Retel. 2003; 2
17. Bello Gutiérrez J. López de Cerain Salsamendi A. Fundamentos De Ciencia Toxicológica. España: DíazDeSantos; 2001.
18. Álvarez M. (1996). Barreras para la aceptación de métodos alternativos en toxicología. Folleto. Marzo. CECMED.
19. Roldán Reyes E. Introducción a la Toxicología. ISBN: 978-607-02-8172-3. 2016: 3-5
20. Bello J, López de Cerain A. (2001) Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Ediciones Díaz De Santo. Madrid – España.
21. Repetto Jiménez M. Repetto Kuhn G. Toxicología Fundamental. 4ª ed. España: DíazDeSantos; 2009.
22. Wolford S. T., Schroer R. A., Gohs F. X., Gallo P.P., Brodeck M, Falk HB, Ruhren R (1986). Reference range data base for serum chemistry and hematology values in laboratory animals. JournalofToxicology and EnvironmentalHealth 18: 161-188.
23. Holstad M, Sandler S. A transcriptional inhibitor of TNF-alpha prevents diabetes induced by multiple low-dose streptozotocin injections in mice. J Autoimmun2001; 16 (4): 441-7.

ANEXOS

ANEXO 2: Certificado De Salud

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD
CENTRO NACIONAL DE PRODUCTOS BIOLÓGICOS
COORDINACIÓN DE BIOTERIO

CERTIFICADO SANITARIO N° 046 - 2018

| | | | |
|------------|------------------------|----------|---|
| Producto | : Ratón albino | Lote N° | : M-04-2018 |
| Especie | : <u>Mus musculus</u> | Cantidad | : 90 |
| Cepa | : Balb/c/CNPB | Edad | : 25 a 30 días |
| Peso | : 15 a 24 g. | Sexo | : Machos |
| G.R. | : 033870-033874 | Destino | : FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA - UNAP |
| Chorrillos | : 22 de Julio del 2018 | | |

El Médico Veterinario, que suscribe, **Arturo Rosales Fernández**, Coordinador de Bioterio certifica, que los animales arriba descritos se encuentran en buenas condiciones sanitarias *.

*Referencia: PR.T -CNPB-153, Procedimiento para el Ingreso, Cuarentena y Control Sanitario para Animales de Experimentación.

Chorrillos, 7 de Agosto de 2018
(Fecha de emisión del certificado)



M.V. Arturo Rosales Fernández
C.M.V.P. 1586

NOTA: El Bioterio no se hace responsable por el estado de los animales, una vez que éstos egresan del mismo

ANEXO 3: Constancia de Herbarium Amazonense - AMAZ



UNAP

Centro de Investigación de
Recursos Naturales
Herbarium Amazonense – AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

CONSTANCIA N.º 017-2018-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana

HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **LAYNE VALERIA SALDAÑA MORA**, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, pertenece a la tesis titulada: **TOXICIDAD AGUDA DEL EXTRACTO ACUOSO DE HOJAS DE *Calathea lutea* "bijao" EN RATONES ALBINOS BALB/C**; y fue verificada y determinada en este Herbarium Amazonense-AMAZ, CIRNA-UNAP, como sigue:

| N° | CÓDIGO | FAMILIA | ESPECIE | NOMBRE COMÚN |
|----|--------|-------------|---------------------------------------|--------------|
| 1 | 25108 | MARANTACEAE | <i>Calathea lutea</i> (Aubl.) Schult. | "bijao" |

A los diecisiete días del mes de julio de 2018 se expide la presente constancia a la interesada para los fines que estimen conveniente.

Atentamente,


Blgo. Richard J. Huaranca Acostupa M.Sc.
Coordinador del Herbarium AMAZ
CIRNA – UNAP



ANEXO 4: Recolección y Preparación del Extracto Vegetal

1. Recolección de las hojas de bijao



2. Secado de las hojas previamente lavadas



3. Pesado de las hojas ya secas y cortadas



4. Cocción a T° de 60° y 70°C

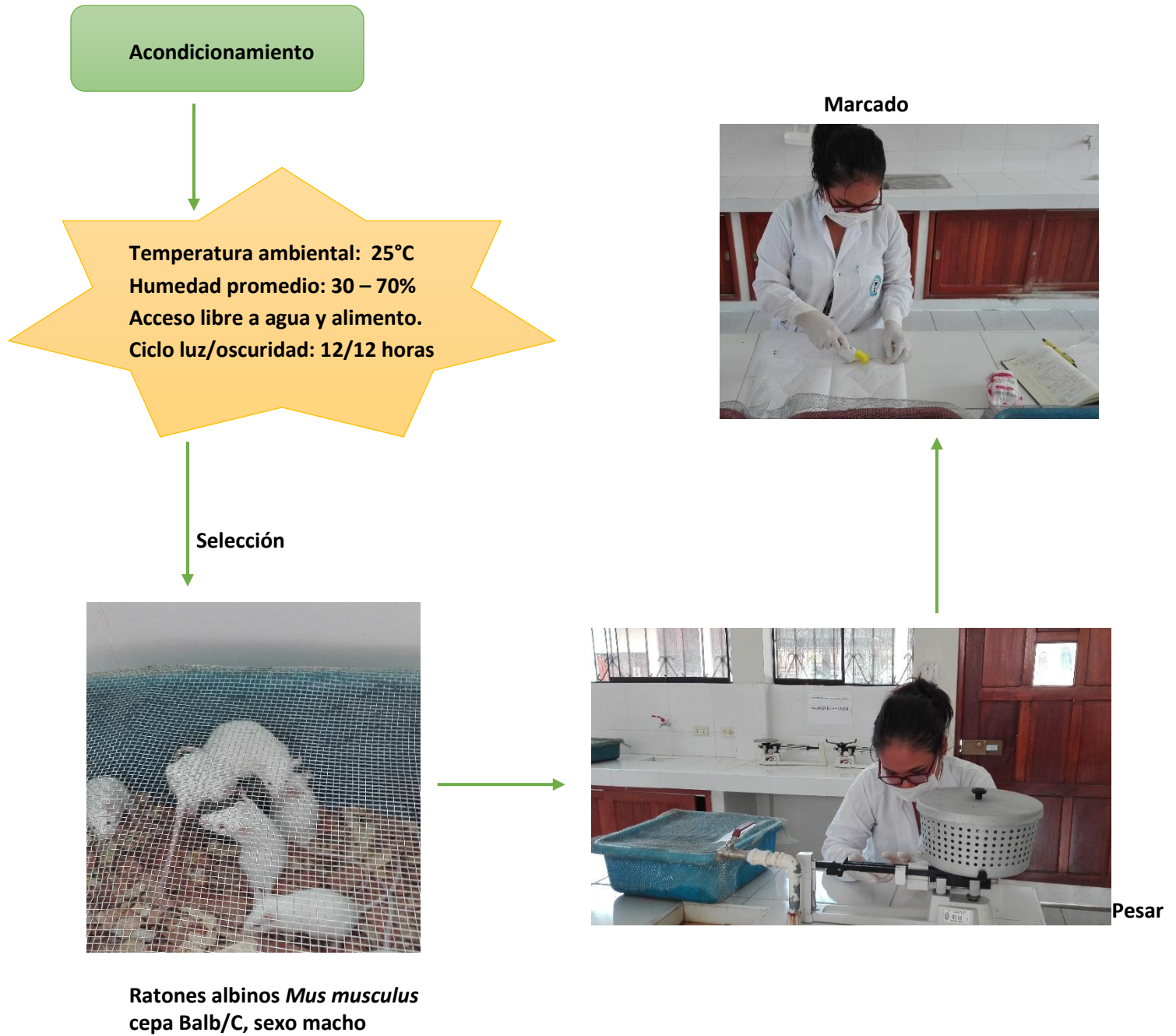


5. filtración del extracto cocido



Luego el extracto fue secado, pesado y envasado durante 15 días

ANEXO 5: Acondicionamiento e Identificación de los animales



ANEXO 6: Clases de toxicidad aguda establecidas

| Rango de DL₅₀ | Clasificación |
|---------------------------------|----------------------|
| Dosis < 25 mg/kg | Muy Tóxico |
| 25 mg/kg <dosis< 200 mg/kg | Tóxico |
| 200 mg/kg <dosis< 2000 mg/kg | Dañino |
| 2000 mg/kg > dosis | No clasificado |

ANEXO 7: Observaciones de toxicidad aguda para determinar los órganos blancos asociados a las acciones del agente Órgano/Sistema Signos Tóxicos

| Órgano/Sistema | Signos Tóxicos |
|-------------------------|---|
| Autónomo | Salivación, descarga nasal, diarrea, pilo erección, micción, exoftalmo, rinorrea, sudoración. |
| Comportamiento | Sedación, cabeza caída, posición sentada con cabeza erguida, depresión severa. Inquietud, acicalamiento excesivo, irritabilidad, comportamiento agresivo, hostilidad defensiva, fiereza, confusión. |
| Sensorial | Reflejo derecho, sensibilidad al dolor, reflejo corneal, reflejo de los miembros posteriores, sensibilidad al sonido y al tacto. |
| Neuromuscular | Actividad disminuida o incrementada, fasciculaciones, temores, debilidad, reflejo de los miembros posteriores (ausente o disminuida), tono muscular, ataxia, convulsiones, postración, debilidad de miembros posteriores. |
| Cardiovascular | Alteración (incremento o disminución) de la frecuencia cardiaca, vasoconstricción, vasodilatación, hemorragia. |
| Respiratorio | Jadeo, disnea, apnea, hipoapnea. |
| Ocular | Lagrimación, midriasis, miosis, cicloplejia, reflejo pupilar luminoso. |
| Gastrointestinal | Salivación, náuseas, diarrea, evacuaciones sanguinolentas, constipación, defecación. |
| Cutáneas | Pilo erección, alopecia, eritema, edema, hinchazón, necrosis. |

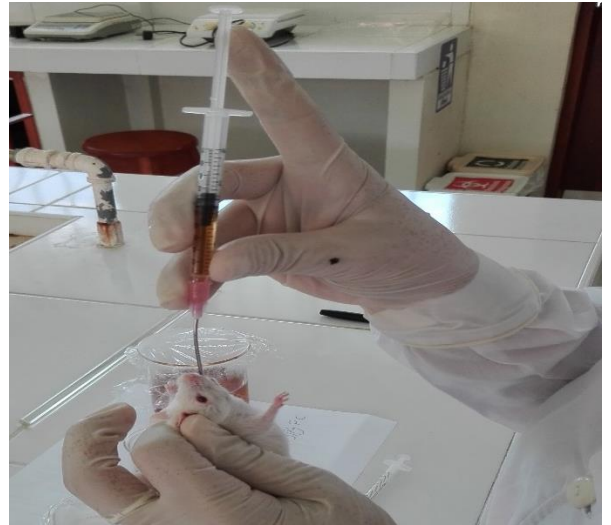
Tomado de: McNamara, B. P. New concepts in safety evaluation mehlman, M.A. Shapiro, R.E. And blumenthal, H. Eds. Hemispherepublishing, New York (1976). Chap. 4 Según Ecobichon, D. J. (1992).

ANEXO 8: Administración y ejecución

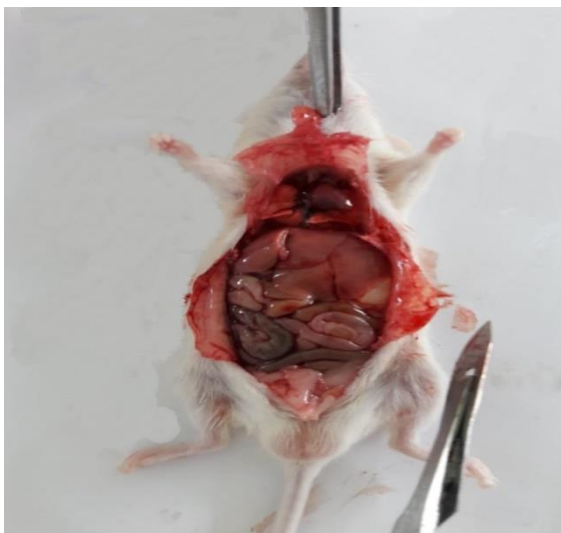
1. Solución dosificada



2. Administración de la solución



3. Realización de la autopsia a los 14 días de la administración



4. Observación macroscópica de los órganos

