

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN
CRISTÓBAL DE HUAMANGA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

**ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**



**Evaluación de la toxicidad aguda y a dosis repetida
del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita*
L. “manzanilla” en ratas, Ayacucho 2012.**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. PALOMINO QUISPE, KLEVER DENYS

AYACUCHO - PERÚ

2013

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

R.D.Nº. 149 – 2013 – FCB – D

Bach. Klever Denys, PALOMINO QUISPE

En la ciudad de Ayacucho, a los doce días del mes de setiembre del años dos mil trece en el auditorio del departamento Académico de Ciencias Biológicas, siendo las seis y diez de la tarde, los miembros del jurado calificador, bajo la presidencia del Mg. José Diez Macavilca e integrado por el Mg. Enrique Aguilar Felices, y el Dr. Edwin Enciso roca quien además actúa como secretario docente encargado, se reunieron para la sustentación de la tesis titulada: Evaluación de la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en ratas, Ayacucho 2012, presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica Klever Denys, PALOMINO QUISPE, quien pretende obtener el título profesional de Químico Farmacéutico.

Como primer acto el Sr. presidente del jurado calificador invitó al secretario a dar lectura la Resolución Decanal que declara expedita la sustentación de la tesis y dio instrucciones al sustentante para su exposición, la que no debe exceder de los cuarenta y cinco minutos. Culminada la exposición el Sr. presidente del jurado calificador solicito la participación de los miembros del jurado calificador para realizar las observaciones, aclaraciones o preguntas que crean convenientes para realizar la calificación correspondiente. Los miembros del jurado calificador participaron en el siguiente orden: Mg. Enrique Aguilar Felices, Mg. José M. Diez Macavilca y finalmente el Dr. Edwin Enciso Roca en calidad de asesor. Culminada la fase de participación de los miembros del jurado calificador, el presidente invitó al sustentante y al público en general a abandonar el auditorio, para que el jurado calificador pueda deliberar y realizar la calificación en privado, obteniéndose lo siguiente:

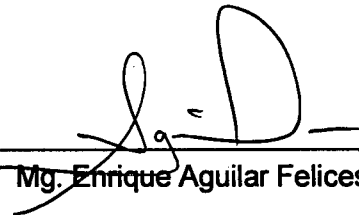
Jurado calificador	Exposición	Rpta. a preguntas	Promedio
Mg. José M. Diez Macavilca	17	17	17
Mg. Enrique Aguilar Felices	17	17	17
Dr. Edwin Enciso Roca	17	17	17
		Promedio	17

De la evaluación realizada el sustentante obtuvo la nota promedio de diecisiete (17) de la cual dan fe los miembros del jurado calificador estampando su firma al pie del acta. Culminado el acto de sustentación siendo las siete con cuarenta minutos.



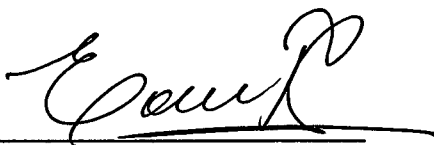
Mg. José Díez Macavilca

Presidente



Mg. Enrique Aguilar Felices

Miembro



Dr. Edwin Enciso Roca

Asesor – Secretario docente

DEDICATORIA

**A Dios, a mis padres y
mis hermanos**

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga mi *alma mater* por brindarme y acogerme cinco años de la mejor forma.

A la Facultad de Ciencias Biológicas, y en especial a la Escuela de formación Profesional de Farmacia y Bioquímica.

A todos los docentes de la Escuela de Formación Profesional de Farmacia y Bioquímica quienes contribuyeron con mi formación académica, a mi asesor Dr. Q.F. Enciso Roca Edwin C., Dr. Q.F. Aguilar Felices, Enrique por su valiosa colaboración al compartir sus conocimientos y dedicadas orientaciones que hicieron posible el desarrollo y culminación de esta investigación.

Al médico patólogo, Jaime Rodrigo Solís Macedo; al Blgo. Gilmer Jjoyo Zaga, del Hospital Regional de Ayacucho por brindarme apoyo y conocimientos que permiten culminar esta investigación.

A todas las personas quienes con sus consejos y apoyo influyeron para la culminación del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	vii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla"	5
2.3. Sustancias tóxicas	9
2.3.1. Clasificación de las sustancias tóxicas	10
2.3.2. Factores implicados en la toxicidad	10
2.3.4. Pruebas descriptivas de toxicidad en animales	12
III. MATERIALES Y METODOS	17
3.1 Ubicación de la zona de estudio	17
3.2. Población y muestra	17
3.2.3. Animales de experimentación	17
3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos	18
3.3.1. Recolección	18
3.3.2. Desecación	18
3.3.3. Molienda y almacenamiento	18
3.3.4. Concentrado y secado	18
3.3.5. Métodos para determinar la actividad tóxica	19
3.5. Diseño experimental	21
3.6. Análisis de datos	22
IV. RESULTADOS	23
V. DISCUSIÓN	36
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	44
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Comportamiento general de "ratas" en la evaluación de toxicidad aguda	24
Tabla 2	Comportamiento general de "ratas" a dosis repetida	26
Tabla 3	Parámetros hematológicos a dosis repetidas	29

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Variación de peso corporal de los animales en los grupos según tiempo	25
Figura 2	Variación de peso corporal a dosis repetida de "ratas" en los grupos según tiempo	27
Figura 3	Variación de los pesos de los órganos de los animales según tratamiento	28
Figura 4	Variación de los niveles de transaminasa glutámico – oxalacética (TGO) sérica de las "ratas" según tratamiento	30
Figura 5	Variación de los niveles de transaminasa glutámico – pirúvica (TGP) sérica de las "ratas" según tratamiento	31
Figura 6	Variación de los niveles de fosfatasa alcalina sérica de las "ratas" según tratamiento	32
Figura 7	Histología hepática de "ratas" a dosis repetida (10x)	33
Figura 8	Histología hepática de "ratas" a dosis repetida con 500 mg/kg (10x)	34
Figura 9	Histología hepática de "ratas" a dosis repetida con 1000 mg/kg (10x)	35

ÍNDICE DE ANEXOS

		Páginas
Anexo 1	Certificado de identificación taxonómica	49
Anexo 2	Flujograma de la extracción del extracto	50
Anexo 3	Flujograma experimental de toxicidad aguda y a dosis repetida	51
Anexo 4	<i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en estado silvestre	52
Anexo 5	Jaula de "ratas" <i>Rattus norvegicus</i> por grupo de tratamiento	53
Anexo 6	Extracción de sangre por punción cardiaca de las "ratas"	54
Anexo 7	Frotis de sangre para análisis hematológicos	55
Anexo 8	Muestra de sangre preparada para lectura de hematocrito	56
Anexo 9	Órganos aislados por grupo de tratamiento	57
Anexo 10	Pesado de órganos de "ratas"	58
Anexo 11	Frascos con órganos aislados para análisis histopatológico	59
Anexo 12	Compuestos fitoquímicos del extracto hidroalcohólico	60
Anexo 13	Análisis de varianza del control de pesos, en la prueba de toxicidad aguda	61
Anexo 14	Análisis de varianza del control de pesos, en la prueba de toxicidad a dosis repetida	62
Anexo 15	Análisis de varianza de pesos para órganos, en la prueba de toxicidad a dosis repetida	63
Anexo 16	Análisis de varianza de pesos de los riñones expuestos al extracto hidroalcohólico	64
Anexo 17	Prueba de Tukey de pesos de los riñones expuestos al extracto	65
Anexo 18	Análisis de varianza de pesos de los hígados expuestos al extracto hidroalcohólico	66
Anexo 19	Prueba de Tukey de pesos de los hígados expuestos al extracto hidroalcohólico	67
Anexo 20	Análisis de varianza de pesos de los corazones expuestos al extracto	68
Anexo 21	Prueba de Tukey de pesos de los corazones expuestos al extracto hidroalcohólico	69

Anexo 22	Análisis de varianza pesos de los pulmones expuestos al extracto hidroalcohólico	70
Anexo 23	Prueba de Tukey de pesos de los pulmones expuestos al extracto hidroalcohólico	71
Anexo 24	Análisis de varianza de la concentración de enzimas hepáticas	72
Anexo 25	Matriz de consistencia	73

RESUMEN

Los estudios de toxicidad de las plantas medicinales son escasos y son necesarios de ser realizados, sobre todo en aquellas que son ampliamente utilizadas, tal como *Matricaria recutita* L. "manzanilla". Por eso se desarrolló el presente trabajo con el objetivo de determinar la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico en "ratas" *Rattus norvegicus*, desarrollado en los Laboratorios de Toxicología y Farmacología del Área de Farmacia de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. La muestra de *Matricaria recutita* L. "manzanilla" fue recolectada en el distrito de Pacaycasa, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho. La toxicidad aguda se realizó en dos grupos de cinco "ratas" *Rattus norvegicus* cada uno por el método de dosis única a 2000 mg/kg de peso a un Grupo y cloruro de sodio 0,9% al Grupo control, evaluándose el comportamiento y la variación de peso. La toxicidad a dosis repetidas en "ratas" *Rattus norvegicus* distribuidas en tres grupos, al Grupo I se administró cloruro de sodio 0,9%, a los Grupos II y III 500 mg/kg y 1000 mg/kg del extracto respectivamente, administrados por 28 días consecutivos y se evaluaron la mortalidad, variación de pesos, parámetros hematológicos, transaminasas (GOT y GPT), fosfatasa y la DL₅₀. En la toxicidad aguda, solamente se presentaron ligeras variaciones en el comportamiento y el incremento de peso se mantuvo según la curva de crecimiento de la especie. Mientras que en la toxicidad a dosis repetida no se produjo mortalidad, existencia de síntomas indicativos de toxicidad, diferencias en los exámenes hematológicos en el ensayo de función hepática, los estudios anátomo-patológicos macroscópicos no mostraron ninguna alteración en los órganos estudiados y los histológicos no mostraron daño aparente; y la DL₅₀ fue mayor de 2000 mg/kg. En conclusión el extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" no presentó toxicidad aparente a dosis límite y a dosis repetida de 28 días.

Palabras clave: *Matricaria recutita* L., toxicidad aguda, toxicidad a dosis repetida.

I. INTRODUCCIÓN

La existencia de plantas con un elevado potencial terapéutico constituye una alternativa farmacológica de marcado interés en el tratamiento de muchas enfermedades, de ahí la importancia de realizar estudios pre-clínicos con el propósito de detectar posibles efectos tóxicos post-administración.¹ Los productos naturales y en particular las plantas medicinales, siguen constituyendo una fuente importante de nuevas moléculas de gran complejidad y especificidad, como lo demuestra el hecho de que gran parte del arsenal terapéutico internacional tiene su origen en ellas.² La validación científica de las plantas medicinales es una necesidad, no podemos limitar a la sabiduría popular la seguridad y eficacia de una planta, pues cada parte de ella tiene numerosas sustancias con actividad biológica, capaces potencialmente de producir efectos tóxicos.¹ La introducción de estas en la terapéutica debe efectuarse sobre una base científica que valide tanto sus acciones farmacológicas como su toxicidad. A nivel mundial el empleo de alternativas terapéuticas a base de plantas y de la medicina tradicional ha ocasionado una creciente atracción y atención por investigadores, empresarios, industria farmacéutica, laboratorios artesanales y de la población necesitada, debido a la efectividad observada y reportada así como otros factores étnicos culturales y comerciales. Los extractos o los fitocomplejos están constituidos por varias moléculas bioactivas, algunas

potencialmente tóxicas, donde la concentración es crucial.² Ya que a medida que aumenta la dosis cualquier agente químico desde niveles mínimos a máximos, no aparecen súbitamente efectos indeseables sino que la respuesta, sea beneficiosa o perjudicial, es gradual y está relacionada con los cambios de la dosis de manera progresiva, la población podría detectar aquellos que tengan frecuencias altas de aparición pero los que se presentan de manera tardía podrían pasar inadvertidos hasta para un observador bien entrenado. En 1988, los editores del *New England Journal of Medicine* declararon: "Es tiempo de que la comunidad científica detenga el libre andar de la medicina alternativa". Entre otros elementos, su planteamiento estaba fundamentado en las pocas publicaciones científicas en este campo. A partir de esta opinión los practicantes e investigadores de este tipo de medicina comenzaron a defenderla realizando publicaciones de investigaciones clínicas que aún no son suficientes, pues muchos de los fito-medicamentos que se comercializan adolecen de todos los estudios pre clínicos establecidos. Con la preocupación de utilizar de la forma más adecuada y contribuir con el conocimiento científico y ayudar con el pedido de la *New England Journal of Medicine*, se plantea el trabajo de investigación titulado: Evaluación de la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en ratas, Ayacucho 2012. Para dar respaldo científico al uso tradicional de plantas medicinales como en este caso la manzanilla, que se comercializa ambulatoriamente en mercados de la ciudad y para saber las consecuencias de su uso popular, planteamos los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en "ratas" *Rattus norvegicus*.

Objetivos específicos

- Evaluar la toxicidad aguda por el método de dosis límite del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en "ratas" *Rattus norvegicus*.
- Evaluar la toxicidad a dosis repetida a 28 días del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en "ratas" *Rattus norvegicus*.
- Determinar la variación, de pesos de los diferentes órganos nobles, parámetros hematológicos, perfil bioquímico, histología hepática después de la exposición al extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" a dosis repetida en 28 días en "ratas" *Rattus norvegicus*.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

El presente trabajo de investigación tiene como antecedentes a los trabajos de búsqueda y determinación de la toxicidad aguda y sub-aguda de vegetales como en la evaluación toxicológica aguda y sub-aguda del extracto acuoso de las semillas de *Persea americana* (lauraceae) en "ratas" *Rattus norvegicus*,³ otro claro ejemplo de trabajo de este tipo de investigación es la de toxicidad oral a 60 días del aceite de "sacha inchi" (*Plukenetia volubilis* L.) y "linaza" (*Linum usitatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores,⁴ que son trabajos que buscan determinar la toxicidad producida por los recursos vegetales mal utilizados y que se usan tradicionalmente, ya que en el mundo, especialmente en países en desarrollo como el nuestro la medicina a bases de hierbas está desempeñando un rol muy importante ya que es barato y localmente accesible. Hay una creencia general entre los consumidores a nivel mundial que los medicamentos a base de hierbas naturales son siempre seguros porque son "naturales". Sin embargo, la evidencia indica lo contrario el solo hecho de que un producto sea natural no significa que el producto sea seguro. Aunque la evidencia "limitada" sugiere que los efectos adversos asociados con el uso de hierbas es menos probables que con los fármacos convencionales. Las

drogas sintéticas suelen consistir en un solo producto químico, mientras que los productos naturales contienen una mezcla compleja de 400 o más productos químicos, es relativamente fácil de averiguar la actividad y los efectos secundarios de un solo producto químico, pero simplemente no hay manera como los científicos pueden mapear todas las complejas interacciones y sinergias que podrían estar teniendo lugar entre todos los diferentes productos químicos encontrado en una planta.⁵

Además para que sea valorado como un medicamento nuevo debe cumplir con diferentes requisitos que cumplen a través de la realización de un conjunto de investigaciones previas que constituyen principalmente las pruebas de inocuidad que tiene como objetivo definir la toxicidad intrínseca del producto vegetal, identificar órganos blanco, obtener datos acerca del riesgo que conlleva la exposición aguda y crónica del mismo, identificar los niveles de dosis efectivos e inocuos.⁶

La siguiente es una lista parcial de los botánicos con componentes potencialmente tóxicos: aconitum, alfalfa, aloe vera, borraja, calamus, chaparrel, cola de caballo, la consuelda, efedra, germander, ginkgo biloba, el ginseng, sassafras, senna.⁷

2.2. *Matricaria recutita* L. "manzanilla"

2.2.1. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de *Matricaria recutita* L. "manzanilla" se realizó de acuerdo a la clasificación de Engler y Prantl, modificado por Melchior. Fue certificada por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga (Anexo 1).

DIVISIÓN : MAGNOLIOPHYTA

CLASE : MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE : ASTERIDAE

ORDEN : ASTERALES
FAMILIA : ASTERACEAE
GÉNERO : *Matricaria*
ESPECIE : *Matricaria recutita* L.
N. V. : "manzanilla"

2.2.2. Descripción botánica

Hierba anual de hasta 25 cm. de altura, propia de zonas de clima templado. Tallo cilíndrico, ramificado, verde, de cuatro a cinco ángulos o partes salientes. Inflorescencia; de capitulo o cabezuela con ramas terminales. El capitulo que rodea la cabezuela está formado por hojas verdes. El cáliz es membranoso, blanquecino, pequeño y denticulado. La corola de cinco pétalos fusionados en un tubo, con las partes apicales libres en número de cinco, de color amarillo. El androceo tiene cinco estambres fusionados por sus anteras, pero libres por sus filamentos y el gineceo en forma de ovario ínfero, bicarpelar, unilocular, uniovular y fruto aquenio.⁸

2.2.3. Composición química

La manzanilla es una de las hierbas medicinales más antiguas conocidas por la humanidad. Es un miembro de la familia *Asteraceae* y representado por dos variedades, manzanilla alemana (*Chamomilla recutita*) y la manzanilla romana (*Chamaemelum nobile*). Las flores secas de manzanilla contienen muchas terpenoides y flavonoides que contribuyen a sus propiedades medicinales.⁹

El screening fitoquímico determinó la presencia de taninos, flavonoides cumarinas (umbeliferona, 7-hidroxycumarina y 0,01 – 0,08% 7- metoxi-cumarina), flavonides, Flavonas (hasta 6%, principalmente apigenina y apigenin-7-glucosido), queratin-glicósidos y luteolin-glicósidos como flavonoides lipofílicos y xantonas.¹⁰

El color azul fuerte de la esencia destilada en fresco, se debe al alto porcentaje de camazuleno (1 - 15%). Este hidrocarburo se forma durante la hidrodestilación, a partir de un guayanólido. Otros constituyentes del aceite esencial son el (-)alfa- bisabolol (1 - 10%) y diversos hidrocarburos.¹¹ La esencia (0,2 - 0,1%), contiene: a - bisaboloide (0 - 50%), guayanólido (el pro azuleno matricida y matricarin), azuleno (2 - 18%, preponderantemente camazuleno no genuino), espatulenol (casi 1%); espiroéteres, los que son acetilen-derivados con grupos espirocetales (20 - 30%).¹¹ Además presenta ácido salicílico, ácido óctilico, apigenina y el éster metílico de umbeliferona, pequeñas cantidades de dioxi-cumarina, glucósidos amorfos, fitosterina, glucósido fitosterinico, vitamina C, se ha hallado un B - heterósido, muy escasa cantidad de glucosa, pero si una considerable proporción de la levulosa, presencia de éteres de ácido etínicos.¹²

Estudios biológicos

En el estudio preliminar de la toxicidad del extracto liofilizado de *Matricaria chamomilla* L. en *Mus musculus* cepa Balb/c Alonso,¹⁴ determinó que la administración intraperitoneal de 8,93 g de extracto por kg, de peso corporal, provoca muertos en el 100% de los especímenes; 4,46 g/kg, un 33% de muerte y 0,52 g/Kg. provoca 0% de muertes a las 24 horas.¹⁴ La DL₅₀, es de 3,65 g por kilogramo de pesocorporal a las 72 horas, en *Mus musculus* cepa Balb/c.⁹ En un estudio llevado a cabo recientemente, con extractos de manzanilla, se mostró que causa efectos inhibidores del crecimiento mínimos sobre las células normales, pero mostraron reducciones significativas en la viabilidad celular en diversas líneas celulares de cáncer humano. La exposición de manzanilla indujo la apoptosis en las células cancerosas pero no en las células normales a dosis similares.⁹

El extracto acuoso de la flor de *Matricaria chamomilla* L., ha demostrado por Cáceres¹⁵ tiene efecto antiinflamatorio y gastroprotector y el extracto etéreo por

vía intraperitoneal en rata (40, 80 g / kg) inhibe simultáneamente el desarrollo del edema por dextran y los niveles plasmáticos de kininógenos. De otro lado Alonso¹⁴ desarrolló en un ensayo clínico con 22 pacientes a quienes se les administro el extracto de *Matricaria chamomilla* y *Matricaria officinalis*, y demostró su actividad tranquilizante menor subjetiva y calificada como excelente o buena en el 68% de los pacientes tratados, como regular en el 14% y no lo noto en el 8% de los casos.

2.2.4. Usos tradicionales

La manzanilla se utiliza desde la antigüedad, como antiinflamatorio, espasmolítico y antiulceroso gástrico. Se ha demostrado la responsabilidad de los constituyentes del aceite esencial (especialmente de los óxidos de bisabolol) en actividad antiinflamatoria. La actividad antiespasmódica se debe, en parte, al éter bicíclico insaturado. La droga se utiliza en infusión (que contiene únicamente un 10 -15% de la esencia presente inicialmente) y en forma de preparados galénicos.¹¹ También tiene capacidad sedante, tónico y antiespasmódico en infusión.¹⁶

Los terpenoides, bisabolol y camazuleno fueron demostrados por Srivastava¹⁷ poseer propiedades anti-alérgicas, antiespasmódicas, antibacteriano, antipiréticos, úlcero-protectoras, anti fúngicos y anti-inflamatorias. También se evaluó la actividad antimicrobiana por Srivastava,⁹ contra varios microorganismos. El grupo de prueba, en el día 15, exhibió una mayor reducción en el área de la herida en comparación con los controles (61% frente a 48%), epitelización más rápida y una resistencia a la rotura de heridas significativamente mayor. Además, el peso del tejido de granulación en húmedo y en seco y el contenido de hidroxiprolina fueron significativamente más altos. Afirmado que el consumo de té de manzanilla estimula el sistema inmunológico y ayuda a combatir las infecciones asociadas a los resfriados. La

promoción de la salud los beneficios de la manzanilla se evaluaron en un estudio que involucró a catorce voluntarios que bebieron cinco tazas de té de hierbas al día durante dos semanas consecutivas. Muestras diarias de orina fueron tomadas y analizadas durante todo el estudio, tanto antes como después de beber el té de manzanilla, se asoció con un aumento significativo en los niveles urinarios de hipurato y glicina, que se han asociado con un aumento de actividad antibacteriana.⁹

2.3. Sustancias tóxicas

La palabra "tóxico" debe ser considerada como sinónimo de nocivo o perjudicial con respecto a los efectos de las sustancias químicas.¹⁸

Es el agente químico, físico o biológico que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo. Cualquier sustancia puede actuar como tóxico, tanto los productos exógenos como los propios constituyentes del organismo.¹⁹

En la actualidad sabemos que no es posible establecer una estricta línea de demarcación, a un lado de la cual se puedan situar las sustancias químicas beneficiosas y en el otro las nocivas. De hecho, es mucho más razonable, tal como ha demostrado la experiencia, admitir que hay grados de nocividad y grados de seguridad para cualquier sustancia química. Incluso la más inocua de las sustancias, si se introduce en el organismo en cantidades suficientes, puede ocasionar efectos indeseables, cuando no manifiestamente perjudiciales. En contraste con lo anterior el más nocivo de todos los agentes químicos pueden ser introducido en el organismo en cantidades lo suficientemente pequeñas como para que no haya ningún efecto adverso debido al mismo. Es evidente que la nocividad o inocuidad de una sustancia química está relacionada fundamentalmente con la cantidad de este compuesto que se encuentra en el organismo.¹⁸

2.3.1. Clasificación de las sustancias tóxicas

Los agentes tóxicos se ordenan en función de los intereses y las necesidades de quien los clasifica. Las categorías se establecen tomando como criterios los órganos afectados, el uso. El termino en que la toxina hace referencia a las sustancias toxicas que son producidas por sistemas biológicos tales como las plantas y los animales. Al hablar de los agentes tóxicos que tienen como origen las actividades antropogénicas o que son un sub-producto de tales actividades, utiliza la palabra tóxico.²⁰

Tipos de toxicidad	Dosis tóxica
Extremadamente tóxico	1 mg/kg o menos
Altamente tóxico	1 a 50 mg/kg
Moderadamente tóxico	50 a 500 mg/kg
Ligeramente tóxico	0.5 a 5 g/kg
Practicamente atóxico	5 a 15 g/kg
Relativamente inocuo	más de 15 g/kg

NOTA: mg/kg se refiere a mg del tóxico por kilogramo de peso corporal.²¹

2.3.2. Factores implicados en la toxicidad

La acción de un agente tóxico sobre un organismo vivo denominado como intoxicación, es un proceso relativamente complejo, en el cual están involucrados muchos factores. Sin embargo, hay por lo menos cinco factores que están íntimamente ligados al fenómeno del tóxico, como el carácter tóxico del agente xenobiótico. No obstante como Paracelso menciona: "no hay sustancia que no sea venenosa", incluso el oxígeno que es esencial para mantener la vida de cualquier organismo aerobio, se sabe que en una atmósfera de oxígeno puro es dañino para cualquier mamífero, ya que consume rápidamente el ácido – aminobutírico, que es moderador de la transmisión nerviosa central. Tenemos al factor como el sistema biológico en el cual actúa el

agente tóxico que es de suma importancia, ya que el efecto variara notablemente según el organismo. Dicho factor debe ser tomado en cuenta, ya que es bien conocido que entre las diferentes especies de animales y el hombre hay una gran variación en la sensibilidad hacia los agentes tóxico, tenemos también a la vía de absorción ya que el agente tóxico puede producir efectos muy diferentes dependiendo de la ruta por la cual el sistema biológico lo absorba, se sabe que un factor muy importante es el tiempo de interacción con el agente tóxico y esto se clasifica en intoxicación aguda, sub-aguda, sub-crónica y crónica y el quinto factor que es la excreción del agente tóxico que se efectúa por medio de la orina, bilis, heces y una alta proporción de los compuestos volátiles por el aire espirado, y menores cantidades se eliminan por la leche, sudor y la saliva.²²

2.3.3. Relación dosis - respuesta

Se ha postulado que ningún agente químico es totalmente seguro y, del mismo modo, que ningún agente químico puede ser considerado completamente nocivo. Esto se basa en la premisa de que cualquier sustancia química puede ponerse en contacto con un mecanismo biológico sin que produzca un efecto, con tal que la concentración del agente químico este por debajo del mínimo efectivo. En consecuencia todo agente químico produce efectos indeseables de un nivel significativo. Por lo tanto la relación puede describirse por la respuesta a diferentes dosis en poblaciones de individuos.²³

El factor más importante que determina la nocividad o seguridad potencial de un compuesto es la relación entre su concentración y el efecto producido sobre un mecanismo biológico, es decir su relación dosis respuesta.¹⁹

Vías de exposición

Las vías principales de acceso al organismo son la piel, los pulmones, aparato digestivo y otras vías parenterales; en orden de eficacia se las puede clasificar

por inhalación, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intradérmica, oral y dérmica. También debe tomarse en cuenta el material en el cual esta disuelta la sustancia, que puede alterar la absorción de la vía de administración, ambos aspectos pueden ser causa de toxicidad sin tomar en cuenta la sustancia a evaluar.⁶

2.3.4. Pruebas descriptivas de toxicidad en animales

Todas las pruebas descriptivas de toxicidad que se llevan a cabo con animales se basan en dos principios fundamentales. El primero es que cuando se cumplen los requisitos adecuados, los efectos producidos por un compuesto en los animales de laboratorio son aplicables a los seres humanos. El segundo principio afirma que la exposición de los animales de experimentación a dosis altas de los productos tóxicos es un método válido y necesario para descubrir posibles peligros para el hombre.

Pruebas aguda

La primera prueba realizada sobre una sustancia química nueva es la toxicidad aguda, habitualmente en ratones y la rata, y en ocasiones en conejos y el perro. Durante un periodo de 14 días después de una dosis única se examinan los animales a diario y se registran el número de animales que mueren, se identifican los órganos diana y otras manifestaciones clínicas de toxicidad aguda.¹⁰

La exposición aguda de los agentes que son rápidamente absorbidos probablemente va a producir efectos tóxicos inmediatos, pero la exposición aguda también puede producir toxicidad retardada que puede o no ser similar a los efectos tóxicos de la exposición crónica. Viceversa, la exposición crónica de un agente tóxico puede producir algunos efectos inmediatos (tipo agudo) después de cada administración, además de los efectos de la toxicidad crónica.

Al caracterizar la toxicidad de un agente específico es evidente que la

información requerida es solamente para la dosis única (aguda) y retardada sino para las exposiciones de duración intermedias.²⁴

Pruebas sub-agudas

Se lleva a cabo para obtener información sobre la toxicidad de una sustancia después de su administración repetida, normalmente durante 14 días, y ayudan a establecer las dosis para los estudios sub-crónicos.

Pruebas sub-crónicas

La prueba sub-crónica suele durar 90 días. Los objetivos principales de un estudio sub-crónico son establecer el nivel de mínimo efecto adverso observable, además de identificar y caracterizar el órgano u órganos específicos afectados por la sustancia investigada después de su administración repetida. Se emplean al menos tres dosis: una dosis alta que produce toxicidad pero con una mortalidad inferior al 10%, una dosis baja que no produce efectos tóxicos evidentes y una dosis intermedia.

Pruebas crónicas

Se llevan a cabo de forma parecida a los estudios sub-crónicos, pero el periodo de exposición oscila entre seis meses y dos años. Las pruebas de toxicidad crónica están concebidas para valorar tanto la toxicidad acumulada como el potencial carcinógeno de las sustancias químicas.²⁰

Existen dos principios que hay que tener en cuenta cuando se realiza test de toxicidad en animales. Primero, los efectos producidos en los animales a causa de las sustancias administradas, cuando son correctamente utilizadas, si se aplican a toxicidad en el hombre. Cuando se calcula sobre la base de peso corporal, el humano generalmente es más vulnerable que los animales de experimentación. El segundo principio es que la exposición de animales de experimentación a agentes tóxicos en dosis altas es un método necesario y valido para descubrir posibles peligros a humanos que están expuestos a dosis

mucho más bajas.²⁴

Es por eso que La Organización Mundial de la Salud (OMS) considera esencial separar el mito de la realidad, que están estrechamente relacionados en medicina tradicional, ser capaces de distinguir las prácticas y los remedios válidos de los ineficaces o peligrosos.

Carcinogenicidad

Pruebas de carcinogenicidad son similares a las pruebas de toxicidad crónica. Sin embargo, se extienden durante un período más largo y requieren grandes grupos de animales con el fin de evaluar el potencial para el cáncer.

Toxicidad en el Desarrollo

Pruebas de toxicidad para el desarrollo detecta el potencial de las sustancias para producir defectos embrio-toxicidad y el nacimiento.⁷

Toxicidad Dérmica

Ensayos de toxicidad dérmica determinar el potencial para un agente que cause irritación y la inflamación de la piel. Esto puede ser el resultado de daño directo a la piel. También puede ser una respuesta indirecta debido a la sensibilización de la exposición anterior.

Toxicidad ocular

Toxicidad ocular se determina mediante la aplicación de una sustancia de ensayo durante un segundo a los ojos de los 6 animales de prueba, normalmente conejos. Los ojos son luego examinados cuidadosamente durante 72 horas, utilizando un instrumento de aumento para detectar efectos secundarios. La reacción ocular puede producirse en la córnea, la conjuntiva, o el iris. Puede ser una simple irritación que es reversible y desaparece rápidamente o la irritación puede ser grave y producir la corrosión, una condición irreversible.

El ensayo de irritación ocular se conoce comúnmente como el Test Draize. Esta prueba ha sido blanco de grupos de bienestar animal como un procedimiento inhumano debido al dolor que puede ser inducido en el ojo. La prueba de Draize es un predictor fiable de la respuesta del ojo humano. Sin embargo, la investigación para desarrollar métodos de prueba alternativos que no utilicen animales vivos está en marcha. Si bien algunas células y tejidos ensayos son prometedores, que hasta ahora no han demostrado ser tan fiable como la prueba animal.⁷

Neurotoxicidad

Una batería estándar de pruebas de neurotoxicidad, se ha desarrollado recientemente para complementar la prueba de neurotoxicidad retardada. El ensayo en gallinas determina neurotoxicidad retardada como resultado de la exposición a sustancias anti-colinérgicas o que produzcan daño neurológico, tales como ciertos pesticidas. Las gallinas están protegidas de los efectos neurológicos inmediatos de la sustancia de ensayo y se observaron durante 21 días para la neurotoxicidad.

Toxicidad genética

Toxicidad genética se determina a través de una amplia gama de especies de prueba, incluyendo animales y plantas enteras (por ejemplo, roedores, insectos, y el maíz), microorganismos y mamíferos células. Una gran variedad de pruebas se han desarrollado para medir mutaciones genéticas, cambios en los cromosomas, y la actividad del ADN.⁷

Daño en órganos

Los tóxicos pueden causar daño en diferentes órganos como:

- Lesiones hepáticas, que pueden entrar en contacto por medios enterales o parenterales y se fijan en parte en el hígado, órgano encargado de una importante función depuradora.

- Lesiones renales, que por este medio se eliminan los tóxicos filtrados de la sangre causando daño al nefrón (glomérulos y tubos), en la práctica se observan casi siempre lesiones mixtas, con predominio de una de las regiones nefróticas, según el agente causal.
- Lesiones respiratorias, que son producidas por los tóxicos gaseosos y volátiles. Sin embargo, no todos los tóxicos gaseosos causan lesiones pulmonares, sí que ingresan por este medio a la sangre causando estragos dentro. También se puede dar lesiones cardiovasculares, sanguíneas y nerviosas.²⁵

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación de la zona de estudio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Toxicología, Farmacología y Farmacognosia del Área Académica de Farmacia de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, durante los meses de junio del 2012 a noviembre del 2012.

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Matricaria recutita L. "manzanilla" recolectada en el distrito de Pacaycasa, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 2740 m.s.n.m.

3.2.2. Muestra

Un kg de *Matricaria recutita* L. "manzanilla" recolectada y transportada en bolsas de papel para evitar su descomposición. Para luego ser secados a sombra y tomar un ejemplar para su respectiva identificación botánica en el *Herbarium Huamangensis*.

3.2.3. Animales de experimentación

Se emplearon 25 "ratas" hembras *Rattus norvegicus* de 200 - 250 g de peso seleccionados aleatoriamente, y se mantuvieron alimentación balanceada y agua de forma *ad libitum*, del bioterio del Instituto Nacional de Salud Lima. Las

“ratas” fueron adquiridas con una semana de anticipación para su adecuación a las condiciones de laboratorio.

3.3. Diseño metodológico para la recolección de datos

3.3.1. Recolección

Se recolectaron plantas fisiológicamente maduras, sanas y vigorosas, se trató en lo posible de extraer la planta entera, sin dañarlas. Para la recolección de muestra, se emplearon: pico, bolsas de polietileno y libreta de campo.

3.3.2. Desección

La muestra de *Matricaria recutita* L. “manzanilla” procedentes de Pacaycasa, debidamente lavadas, se secaron en la sombra por 20 día; a temperatura ambiente ventiladas y extendidas sobre papel. Una pequeña fracción sirvió para la identificación taxonómica; que fue certificado por el *Herbarium Huamangensis* de la Facultad de Ciencias Biológicas (Anexo 1).

3.3.3. Molienda y almacenamiento

La muestra de *Matricaria recutita* L. “manzanilla” fue molida en un mortero, obteniéndose un producto de partículas homogéneas listas para las pruebas preliminares y la preparación del extracto hidroalcohólico al 80%.

3.3.4. Concentrado y secado

Un kg de muestra seca y molida se maceró en frasco de color ámbar por un periodo de una semana y media en cinco litros de alcohol al 96° y un litro de agua destilada que hacen una mezcla del 80%, cuyo volumen cubrió la muestra. Durante este proceso se agito mecánicamente el frasco par que el alcohol se distribuya homogéneamente en la muestra. Luego se procedió a filtrar, concentrar en un rota-vapor Buchi a 60° C y 90 rpm. La muestra resultante se utilizó para hacer las diferentes concentraciones con las cuales se trabajó las pruebas de toxicidad aguda y a dosis repetida en el estudio de toxicidad.

3.4. Métodos para determinar la actividad tóxica.

3.4.1. Test N° 423 Método clásico de la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico).²⁷

Fundamento:

Procedimiento

- Se aclimataron a los animales por una semana, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental se mantuvo entre 21 – 25 °C y 50 a 60% de humedad con 12 horas de luz/oscuridad.
- Posteriormente, los animales fueron sometidos a ayuno con libre acceso de agua por espacio de 12 horas antes del ensayo.
- La sustancia experimental fue administrada en una sola dosis usando una sonda por vía oral.
- Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos de cinco "ratas" hembras y tratados vía oral de la siguiente manera:

GRUPOS	TRATAMIENTOS
Grupo I	Solución salina fisiológica
Grupo II	Sometidas a 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico.

- Los animales fueron observados individualmente después de la dosificación durante los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas, con atención especial dado durante las primeras cuatro horas, y diariamente después, durante 14 días.
- Se registró todas las observaciones incluyendo cambios en piel, pelaje, ojos, membrana mucosa, y también en los sistemas nerviosos, respiratorios, circulatorios, y el patrón somato-motor de actividad y de comportamiento. Se

puso énfasis en: temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma.

- Se tomó nota de los pesos individuales de los animales poco antes de que la sustancia experimental sea administrada, y después semanalmente. Los cambios de peso fueron registrados. Al final los animales supervivientes experimentales fueron pesados y humanamente sacrificados.

- Los animales no murieron a la dosis límite, entonces no fue necesario realizar ensayos a dosis menores.

3.4.2. Test N° 407 Método de la OECD (Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico).²⁸

Fundamento

Procedimiento:

- Se aclimataron a los animales por una semana, y fueron alojados con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental se mantuvo entre 21 – 25 °C y 50 a 60% de humedad con 12 horas de luz/oscuridad.

- Posteriormente, los animales fueron sometidos a ayuno con libre acceso de agua por espacio de 12 horas antes del ensayo.

- La sustancia experimental fue administrada durante 28 días usando una sonda por vía oral.

- Los animales fueron distribuidos aleatoriamente en grupos de cinco “ratas” cada una y tratados vía oral de la siguiente manera:

a. Grupo control : Solución salina fisiológica

b. Grupo tratamiento 1: Extracto hidroalcohólico a 500 mg/kg

c. Grupo tratamiento 2: Extracto hidroalcohólico a 1000 mg/kg

GRUPOS	TRATAMIENTOS
Grupo I	Solución salina fisiológica
Grupo II	Ratas con extracto hidroalcohólico a 500 mg/kg.
Grupo III	Ratas con extracto hidroalcohólico a 1000 mg/kg.

- Los animales fueron observados individualmente después de la dosificación durante los primeros 30 minutos.
- Se registró todas las observaciones incluyendo cambios en piel, pelaje, ojos, membrana mucosa, y también el sistema nervioso, respiratorio y patrón somatomotor de actividad y de comportamiento. Se puso énfasis en: temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma.
- Se tomó nota de los pesos individuales de los animales poco antes de que la sustancia experimental sea administrada, y después semanalmente. Los cambios de peso fueron registrados. Al final los animales supervivientes experimentales fueron pesados y humanamente sacrificados.
- Se evaluó los cambios hematológicos (número de elementos formes) y los parámetros bioquímicos como actividad enzimática con el método de determinación fotométrica de fosfatasa alcalina de laboratorios Valtek Diagnostics y determinación fotométrica de GOT Y GTP por método de color de Reitman Frankel (variación de perfil hepático) y anátomo-patológicos (número de órganos con cambios y sin cambios).
- Al final los animales supervivientes fueron necropsiados con fines de evaluar los cambios histopatológico

3.5. Diseño experimental

Para determinar la actividad tóxica de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla". Se trabajó con 25 "ratas" *Rattus norvegicus* hembras de las cuales 10 ratas se

destinaron a la prueba de toxicidad aguda la que consta de dos grupos (Grupo I: control y Grupo II: extracto hidroalcohólico a 2000 mg/kg de pesos corporal), y en la prueba de toxicidad a dosis repetidas se destinaron quince ratas hembras con las cuales se formaron tres Grupo (Grupo I: control, Grupo II: extracto hidroalcohólico a 500 mg/kg de pesos corporal y Grupo III: extracto hidroalcohólico a 1000 mg/kg de pesos corporal), las cuales fueron ordenadas de la siguiente forma:

Toxicidad aguda

Grupo I Control – Cloruro de sodio 0,9%

Grupo II Extracto hidroalcohólico a 2000 mg/kg

Toxicidad a dosis repetida en 28 días

Grupo I Control – Cloruro de sodio 0,9%

Grupo II Extracto hidroalcohólico a 500 mg/kg

Grupo III Extracto hidroalcohólico a 1000 mg/kg

3.6. Análisis de datos

Los resultados fueron representados de acuerdo a su media, a los tratamientos y desviación estándar en tablas y figuras, que fueron evaluados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba complementaria de Tukey con un nivel de confianza del 95% ($p > 0,05$).

IV. RESULTADOS

Tabla 1. Comportamiento general de "ratas" en la evaluación de toxicidad aguda

Dosis/Comportamiento	Grupo control	2000 mg/kg de peso
Disminución act. Motora	0/5	3/5
Aumento de act. Motora	0/5	0/5
Perdida de reflejos de enderezamiento	0/5	2/5
Lagrimación	0/5	0/5
Mucosas pálidas	0/5	0/5
Mucosas hiperhémicas	0/5	1/5
Erección de la cola	0/5	1/5
Piloerección	1/5	1/5
Diarrea	0/5	2/5
Agresivo	1/5	0/5
Atemorizado	0/5	4/5

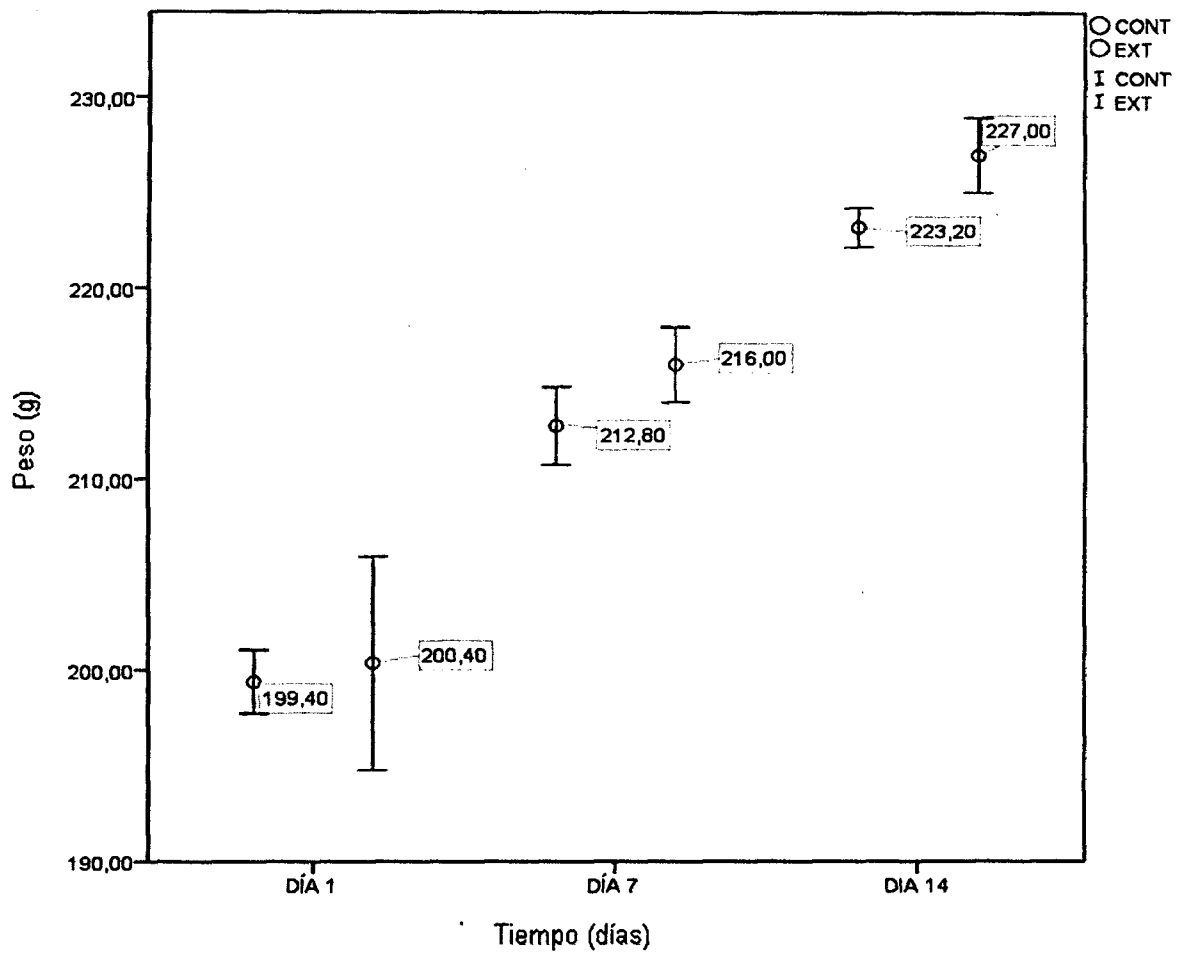


Figura 1. Variación de peso corporal de los animales en los grupos según tiempo

Tabla 2. Comportamiento general de "ratas" a dosis repetida

Dosis/Comportamiento	Grupo control	500 mg/kg de peso	1000 mg/kg de peso
Disminución act. Motora	0/5	4/5	5/5
Aumento de act. Motora	0/5	1/5	0/5
Perdida de reflejos de enderezamiento	0/5	3/5	4/5
Lagrimación	0/5	0/5	0/5
Mucosas pálidas	0/5	0/5	0/5
Mucosas hipérmicas	0/5	0/5	2/5
Erección de la cola	0/5	2/5	2/5
Piloerección	0/5	0/5	0/5
Diarrea	0/5	2/5	0/5
Agresivo	0/5	0/5	1/5
Atemorizado	0/5	0/5	0/5

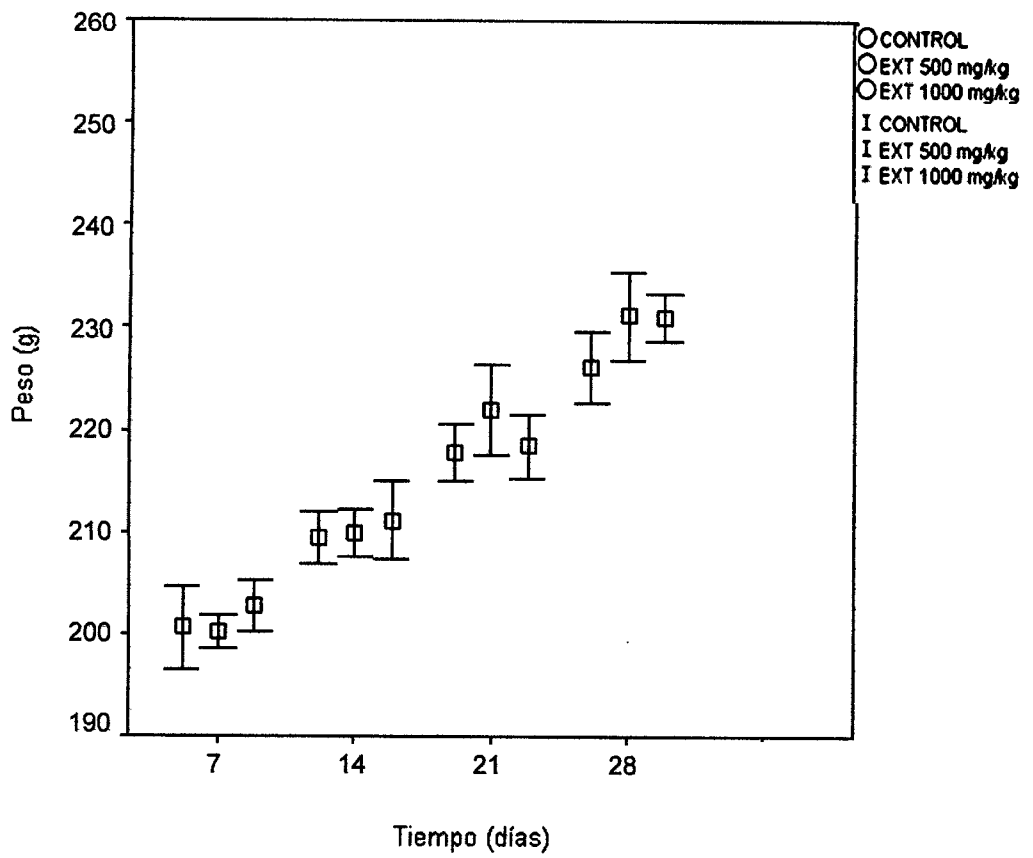


Figura 2. Variación de peso corporal a dosis repetida de "ratas" en los grupos según tiempo

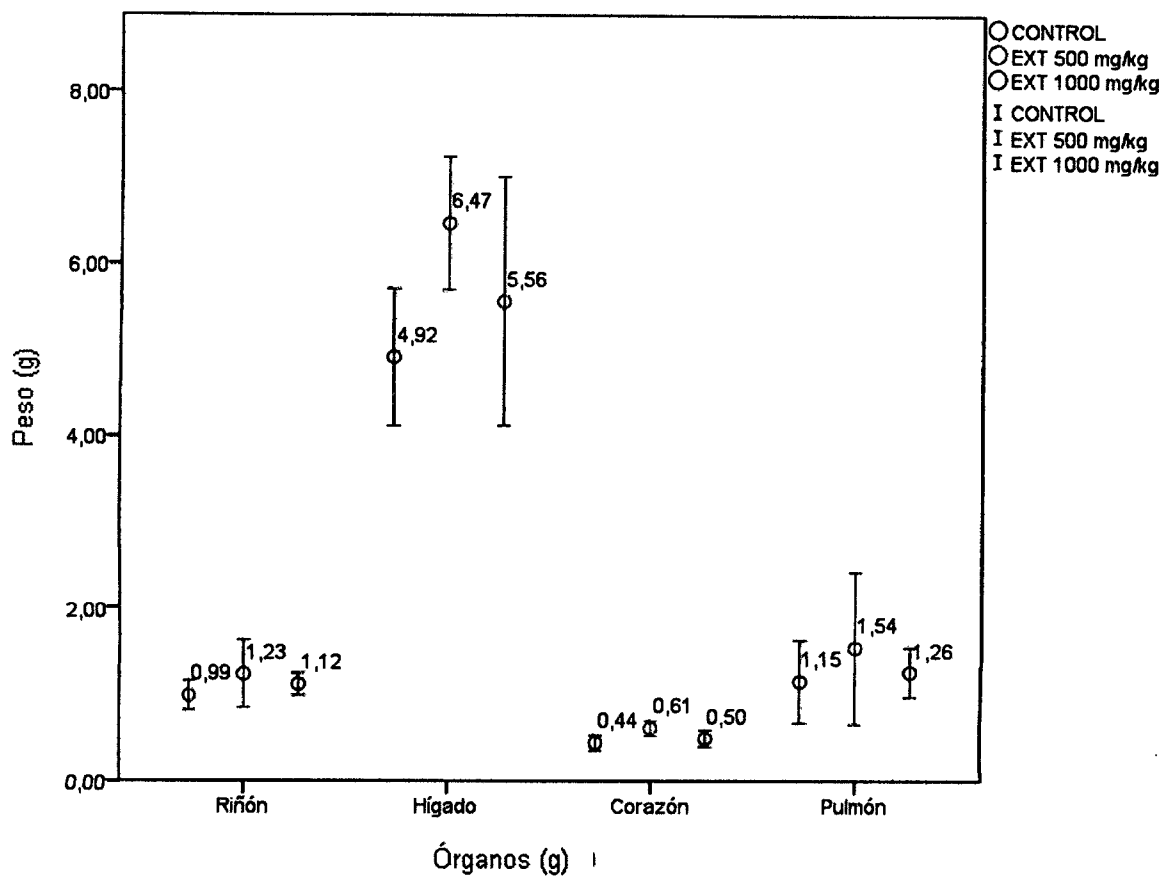


Figura 3. Variación de los pesos de los órganos de los animales según tratamiento

Tabla 3. Parámetros hematológicos a dosis repetidas

Parámetros	Control	500 mg/Kg	1000 mg/Kg
Eritrocitos 10 ⁶ / ul	7,06	7,31	7,49
Hemoglobina g/dl	12,58	15,44	15,5
Hematocrito %	39,68	42,58	42,64
Plaquetas 10 ³ /ul	816,9	828,43	860,14
Leucocitos 10 ³ /ul	6,7	7,36	7,8
Neutrófilos %	14,32	13,38	14,62
Eosinófilos %	1,56	1,16	1,28
Basófilos %	0,26	0,31	0,374
Linfocitos %	77,42	83,14	81,84

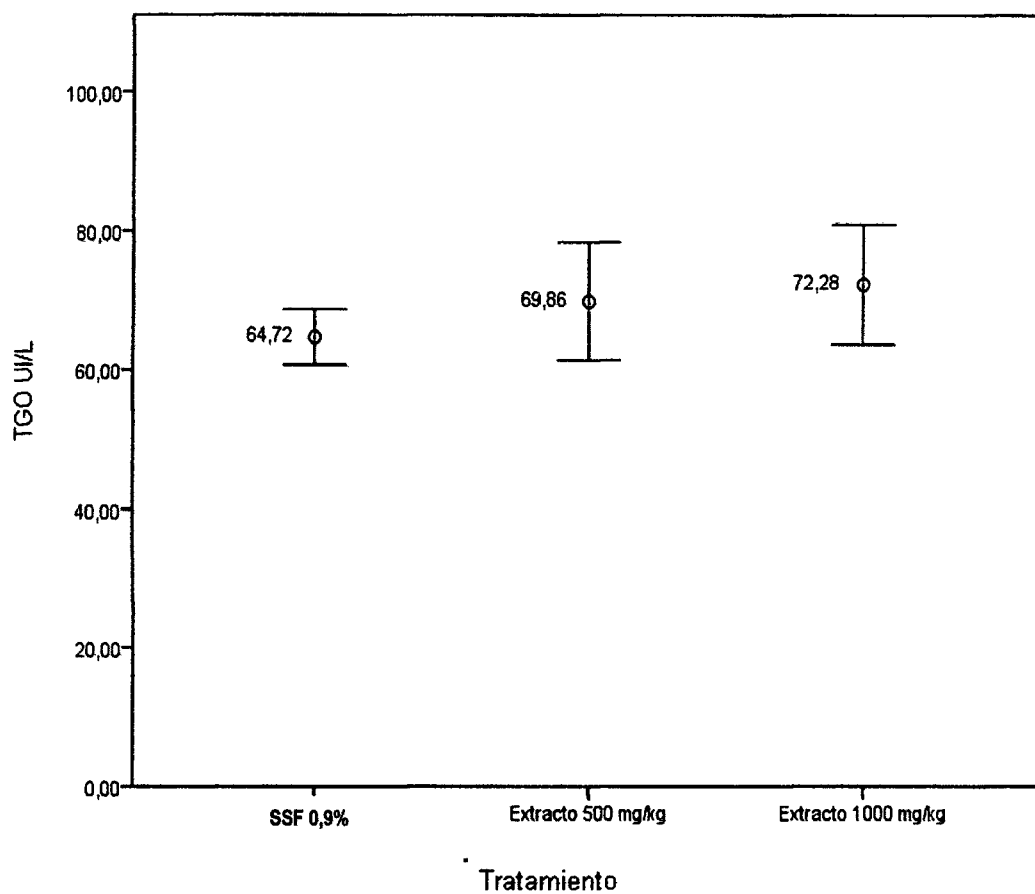


Figura 4. Variación de los niveles de transaminasa glutámico – oxalacética (TGO) sérica de las "ratas" según tratamiento

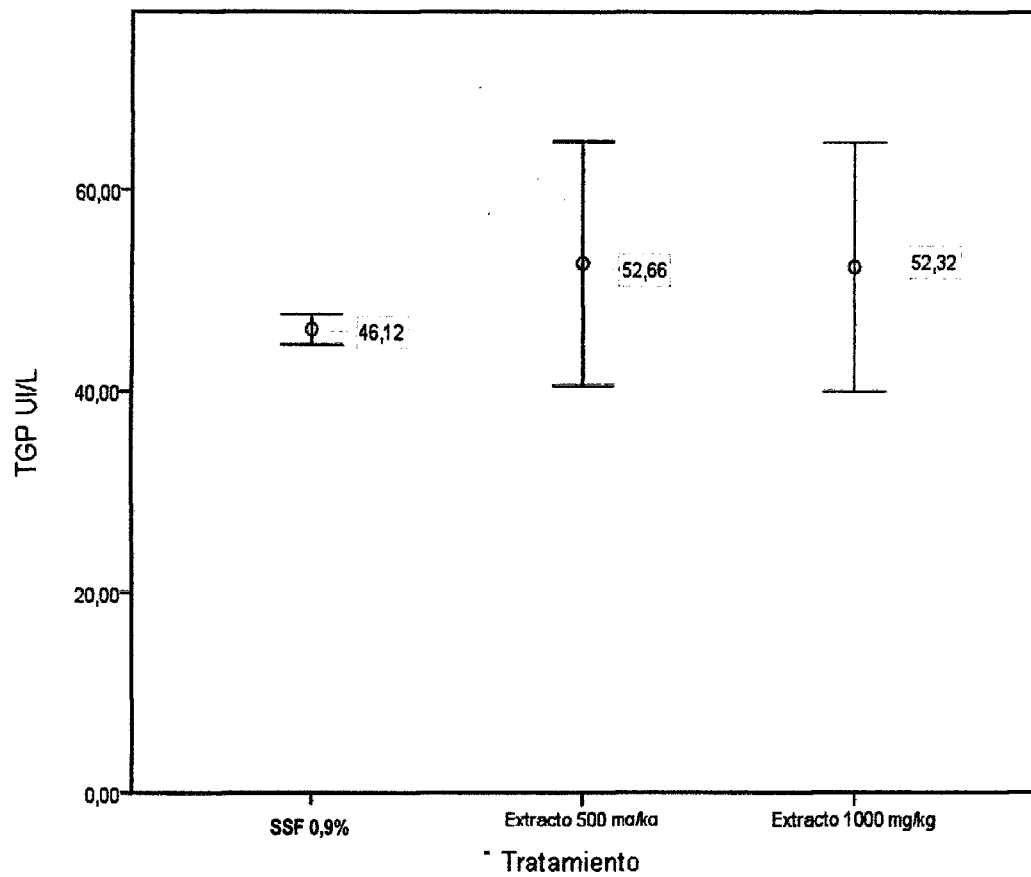


Figura 5. Variación de los niveles de transaminasa glutámico – pirúvica (TGP) sérica de las “ratas” según tratamiento

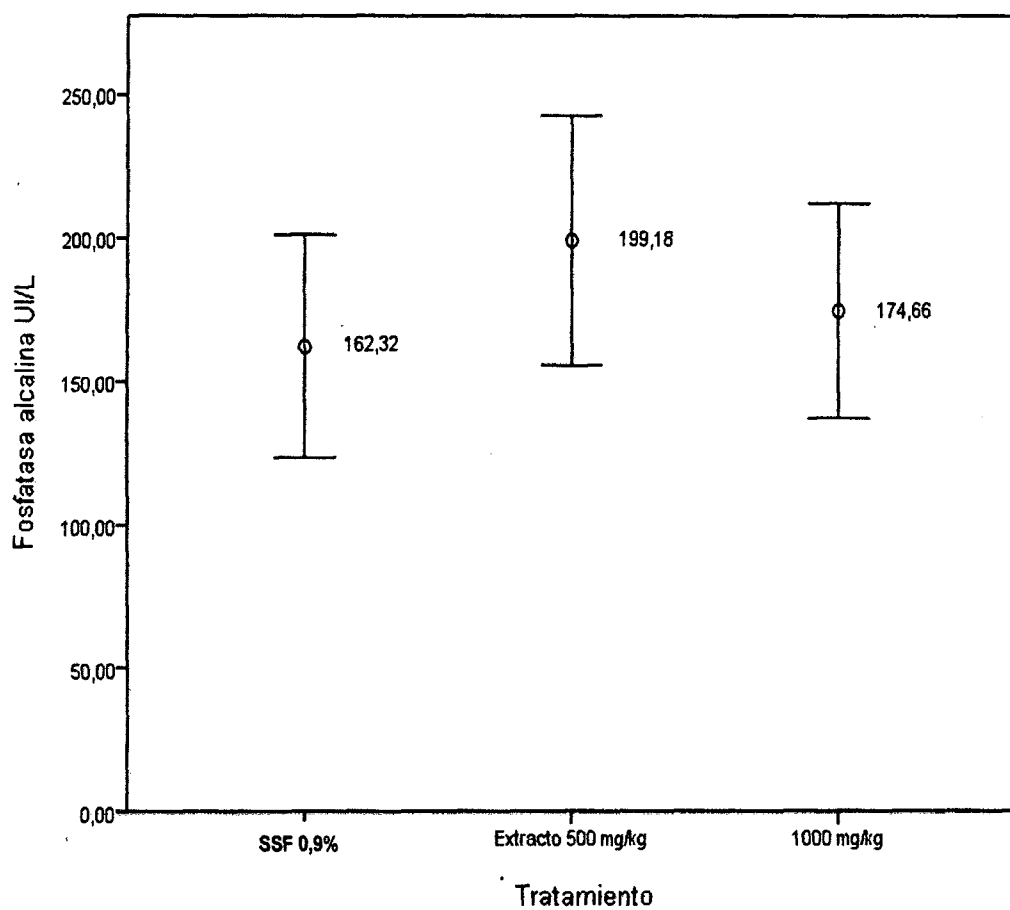


Figura 6. Variación de los niveles de fosfatasa alcalina sérica de las "ratas" según tratamiento

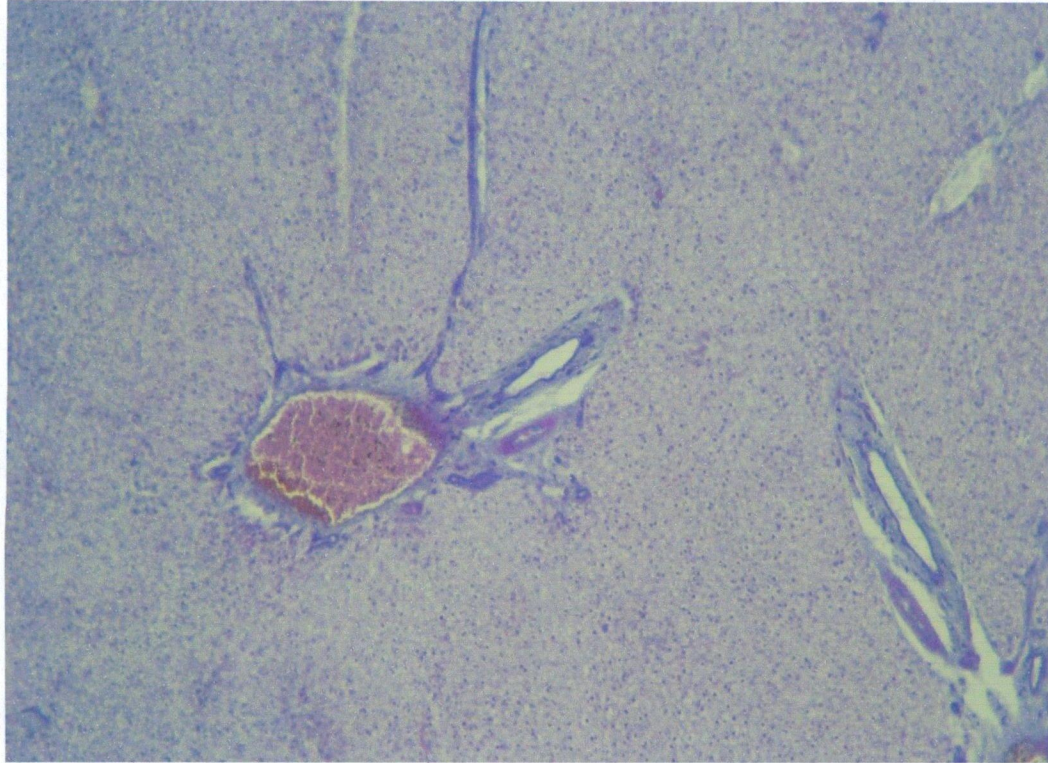


Figura 7. Histología hepática de "ratas" a dosis repetida (10x)

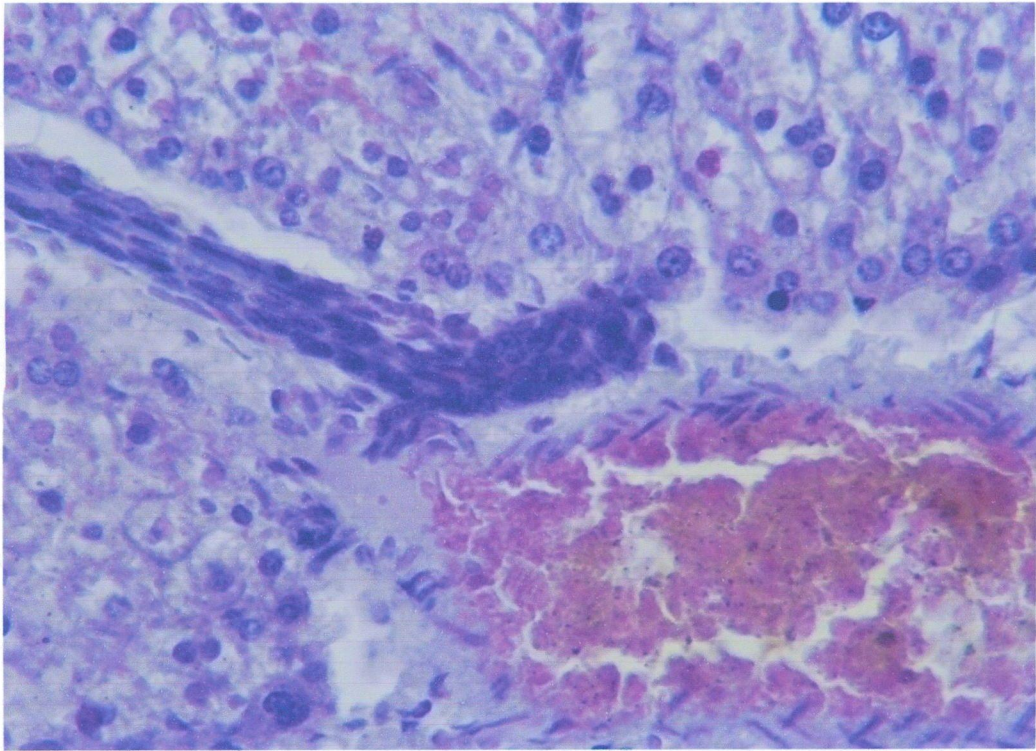


Figura 8. Histología hepática de "ratas" a dosis repetida con 500 mg/kg (10x)

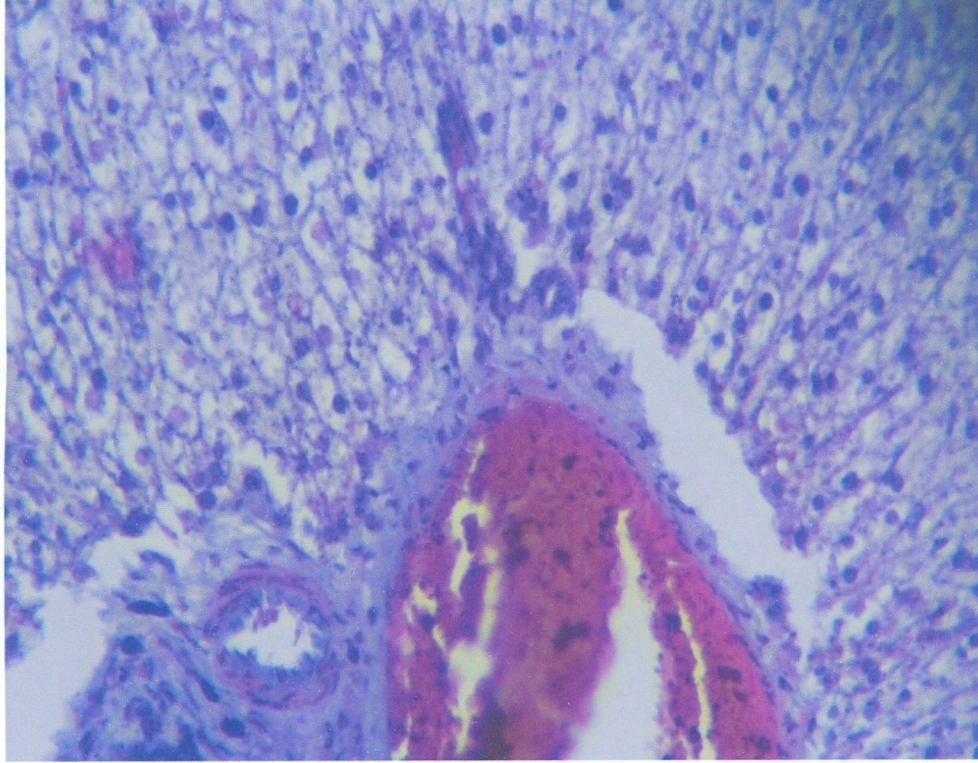


Figura 9. Histología hepática de “ratas” a dosis repetida con 1000 mg/kg (10x)

V. DISCUSIÓN

El principal propósito de las pruebas de toxicidad es de promover una base de datos que pueda ser utilizada para evaluar el riesgo a humanos asociados con la situación en que el agente químico, el sujeto y las condiciones de exposición son definidos.

Los resultados contribuyen al conocimiento de la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla". No se ha encontrado trabajos específicos de la búsqueda del efecto toxicológico pero si existen trabajos relacionados al estudio fitoquímico..

Uno de los parámetros que funcionan como indicador de toxicidad aparente es la variación del comportamiento general de los animales. En la Tabla 1, se muestran que hay disminución en la actividad motora del 60% de los animales debido a la actividad sedante de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla",^{9,17} que se da a nivel del sistema nervioso central. También se observa que el 40% de los animales tratados tienen una disminución del reflejo de enderezamiento, porque hay una disminución en la actividad central del cerebro, por la actividad de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla",⁹ la diarrea presente en estos animales puede ser debido al stress post administración, ya que la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" es antagonista muscarínico y su uso está indicado en trastornos

digestivos, espasmos, cólicos y diarreas, actúan relajando los músculos intestinales.^{9,17}

El peso corporal, de los animales de laboratorio es un parámetro fundamental dentro de un estudio toxicológico, así como en estudios de caracterización de parámetros fisiológicos.²⁸ Los efectos producidos por un compuesto en animales de laboratorio, cuando se califican o realizan de manera apropiada, son aplicables a los seres humanos. En relación a su peso corporal, los efectos tóxicos en seres humanos suelen encontrarse dentro del mismo límite que los que se observan en animales de experimentación, los seres humanos por lo general son más vulnerables que los animales de experimentación, quizá por un factor de alrededor de 10.²³ Se observa en la Figura 1, que la masa corporal como indicador de toxicidad se comportó dentro de los parámetros establecidos para la curva de crecimiento de la especie que tiene oscilaciones pero que se encuentran dentro de la curva de crecimiento normal. La tendencia de los pesos se mantiene a través de la primera y la segunda semana, siendo un indicador que permite demostrar que no existe toxicidad aparente. Al evaluar la diferencia del incremento del peso en el tiempo, se empleó el análisis de varianza, encontrándose diferencias ($p < 0,05$), que indica que el peso aumento en el tiempo que duro el ensayo.

Esto significa que la sustancia administrada no tiene toxicidad o es muy baja, la pérdida o ganancia de peso es un indicador simple pero sensible de los efectos tóxicos.²⁴

En el estudio a dosis repetida del comportamiento de las "ratas" *Rattus norvegicus* se observa que hay una disminución en la actividad motora en los dos grupos tratados con *Matricaria recutita* L. "manzanilla" (Tabla 2), observándose con mayor actividad al grupo tratado con dosis de 1000 mg/kg de

peso corporal por su acción a nivel del SNC como sedante,^{9,17} la pérdida de reflejos de enderezamiento se debe a su actividad sedante ya que involucra la disminución de la actividad motora central, también se observó que hay un grupo de "ratas" que muestran mucosas hipérmicas en el esófago, debido a que en los 28 días de administración, la mucosa que cubre este conducto se fue dañando paulatinamente con la constante administración diaria, el comportamiento agresivo de alguno de los animales se debe a la constante manipulación.

En la prueba a dosis repetida fue necesario analizar la variación del peso corporal (Figura 2), donde se observó que la variación de los pesos corporales se encuentra dentro de la curva de crecimiento normal de la especie y la tendencia de los pesos se mantiene a través de la primera y la segunda semana siendo un indicador que permite demostrar que no existe toxicidad aparente. Para el análisis de la toxicidad aguda se empleó el análisis de varianza donde se encontró por debajo del nivel de significancia, permitiendo observar que hay una variación de peso corporal en relación al tiempo ($p < 0,05$).

En las pruebas de toxicidad fue necesario evaluar la parte externa observable como cambios de comportamiento, muerte y otros parámetros, también fue importante evaluar la parte interna, para ver el daño localizado en órganos determinados como hígado, riñones, pulmones, corazón. Entonces un factor importante en la determinación de toxicidad es la variación de los pesos de los órganos nobles que se muestra en la Figura 4. Los resultados de la determinación del peso de órganos, luego de transcurrir la etapa de evaluación de toxicidad a dosis repetida en 28 días, se procedió a la eutanasia química con halotano de acuerdo al peso corporal de las ratas, para continuar con la remoción de órganos y su pesaje.³⁰ Se observó que la masa de los órganos

como indicador de toxicidad, se comportó dentro de los parámetros establecidos para la curva de crecimiento de la especie, como también se detalla en la evaluación del extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. sobre los parámetros bioquímicos y hematológicos en "ratas" wistar.³¹

En este análisis se evaluó por grupo de órganos, en el caso del riñón ($p > 0,05$), estadísticamente no fue significativa las diferencias, para la comparación de las medias de los pesos del hígado ($p < 0,05$), se encontró que al menos una de las medias es diferente a los demás medias de los grupos, en el corazón también se observa que existen diferencias ($p < 0,05$), mientras en el pulmón no se halló ninguna variación significativa ($p > 0,05$).

Esto significa que la sustancia administrada no tiene toxicidad o es muy baja, la pérdida o ganancia de peso es un indicador simple pero sensible de los efectos tóxicos,²⁴ con los resultados de la masa de los órganos, se ve que no hay daño orgánico y hay crecimiento natural del animal.

Un factor indispensable en la evaluación de toxicidad, fue la determinación de los valores hematológicos que es un parámetro muy sensible en los cambios de equilibrio del ser vivo.

El examen de los elementos formes de la sangre es de importancia clínica, ya que la morfología, el número y las proporciones de los diferentes tipos celulares son indicadores de muchos cambios patológicos en el cuerpo. Uno de los elementos formes importantes son los glóbulos blancos, que permiten diagnosticar patologías y desequilibrios de los seres vivos.³⁴

Al analizar los valores de los parámetros hematológicos que se muestran en la Tabla 3, se determinó que se encuentran dentro de los valores de referencia,³¹ donde se aprecia que el Grupo II y Grupo III en comparación al Grupo I, muestran un ligero aumento en eritrocitos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas que son pequeñas fluctuaciones, pero que no muestran indicios de importancia

clínica.³³ Se muestra un pequeño aumento de Leucocitos en el Grupo III que puede ser por una infección, estrés, alteraciones metabólicas, intoxicaciones, que por las características del ensayo tiende a ser los dos primeros casos anteriormente mencionados.

Estos exámenes hematológicos son de gran valor e importancia en los ensayos toxicológicos a largo plazo (dosis repetidas), porque son indicativos del alcance y profundidad de un daño, además los resultados pueden correlacionarse con los posibles daños sobre un órgano específico o daños hematológicos.²⁹

El análisis de las enzimas es trascendental para el diagnóstico de daño celular hepático o daño celular a nivel del corazón y una serie de procesos dañinos, se tiene como factor indicativo a la enzima TGO (transaminasa glutámico-oxalacética),³¹ que permite la interpretación de su actividad, que se muestran en la Figura 4, en el estudio realizado no se observó aumento de concentración enzimática significativa ya que los valores de actividad enzimática de TGO (transaminasa glutámico-oxalacética) del Grupo I, Grupo II y el Grupo III se encuentran entre los valores normales de (42,9 – 270,8 UI/L),³³ siendo indicador importante de que no hay toxicidad aparente.

Para el análisis de la enzima TGO (transaminasa glutámico-oxalacética) a dosis repetidas en 28 días se empleó, análisis de varianza no existiendo diferencias significativas entre las enzimas del Grupo I, Grupo II y Grupo III al final del proceso a dosis repetidas en 28 días, ($p > 0,05$). Estos resultados de la enzima TGO (transaminasa glutámico-oxalacética) explica que aparentemente no hay daño hepático.

Otra enzima muy importante y trascendental para el diagnóstico de daño celular hepático y como factor indicativo es la actividad enzimática del TGP (transaminasa glutámico-pirúvica),³² que se le llama también unilocular por que se encuentra solo en el citoplasma de las células hepáticas y que su

concentración permite la interpretación de alteraciones hepáticas, en el estudio realizado no se observó aumento de concentración enzimática significativa como se muestra en la Figura 5, ya que los valores de concentración enzimática de TGP (transaminasa glutámico-pirúvica) del Grupo I, Grupo II y el Grupo III se encuentran entre los valores normales de (33,4 – 73,1 UI/L),³³ siendo indicador importante de que no hay toxicidad aparente.

Para el análisis de la enzima TGP (transaminasa glutámico-pirúvica) a dosis repetidas en 28 días se empleó, análisis de varianza no existiendo diferencias significativas entre las enzimas del Grupo I, Grupo II y Grupo III al final del proceso a dosis repetidas en 28 días ($p > 0,05$).

Observando estos resultados de la enzima TGP (transaminasa glutámico-pirúvica) se ve que no hay daño hepático aparente.

En la Figura 6, dentro de los indicadores de daño hepático tenemos también a la enzima fosfatasa alcalina que es un marcador importante de la actividad de la membrana plasmática y retículo endoplasmático y se utiliza para evaluar la integridad de la membrana.³³ Esta enzima fosfatasa alcalina es un indicador de que hay un problema a nivel del hígado, sus fuentes más importantes son el hígado, intestino, riñón, placenta y los huesos,⁶ que su actividad permite la interpretación de alteraciones hepáticas, si hay o no hay daño hepático. En el estudio realizado se recogieron los datos que se muestran en la Figura 6, donde no se observa aumento de actividad enzimática significativa ya que los valores de concentración enzimática de fosfatasa alcalina del Grupo I, Grupo II y el Grupo III se encuentran entre los valores de (69,65 – 227,26 UI/L),³³ siendo indicador importante de que no hay toxicidad aparente.

Para el análisis de la enzima fosfatasa alcalina a dosis repetidas en 28 días se empleó, análisis de varianza no existiendo diferencias significativas entre las enzimas del Grupo I, Grupo II y Grupo III al final del proceso a dosis repetidas en

28 días. Por tanto estos resultados de la enzima Fosfatasa alcalina hacen ver que no hay daño hepático aparente, ($p > 0,05$).

Los exámenes de química sanguínea son de gran valor en los ensayos toxicológicos a largo plazo, porque son indicativos del alcance y profundidad de un daño, además los resultados pueden correlacionarse con los posibles daños sobre un órgano específico.²⁹

En las Figuras 7, 8 y 9 se muestran que las células hepáticas sometidas a las dosis de *Matricaria recutita* L. "manzanilla" a 500 mg/kg, 1000 mg/kg de peso corporal, el análisis anátomo-patológico del hígado de los grupos *pos-mortem* no presentan diferencias a simple vista, que son respaldadas con los datos que brinda Buzzo²⁵, sobre la característica de órganos sanos, lo cual se corroboró con un estudio histopatológico en estos órganos, los cuales permitieron estar seguros que no hay daño a nivel de estos órganos. Un estudio de toxicidad comúnmente está respaldado por un examen histológico de los órganos y tejidos principales en busca de alteraciones. De estas observaciones, uno generalmente puede obtener información más específica de los eventos que llevan al efecto letal, órgano(s) afectados, y a veces sugiere el posible mecanismo de toxicidad.²⁴

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" no presentó toxicidad aguda ni a dosis repetida en 28 días, en ratas administradas por vía oral.
2. El extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" no presentó toxicidad aparente y la DL₅₀ se encuentra por encima de 2000 mg/kg de peso corporal.
3. El extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" no presentó toxicidad aparente en el ensayo a dosis repedita de 500 mg/kg, 1000 mg/kg de peso corporal.
4. El extracto hidroalcohólico de la *Matricaria recutita* L. "manzanilla" no presentó variaciones significativas en el análisis de pesos de los órganos nobles, parámetros hematológicos, perfil bioquímico e histología hepática a dosis repetidas administradas por vía oral.

VII. RECOMENDACIONES

Continuar con los estudios que siguen a la prueba aguda y sub-aguda que nos permitirán tener un bagaje más amplio sobre una planta, como las pruebas para determinar toxicidad crónica, carcinogenicidad, toxicidad reproductiva, toxicidad en el desarrollo, toxicidad dérmica, toxicidad ocular, neurotoxicidad y genotoxicidad.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez M, Jiménez E, Boffill M, Méndez R, Verdecia B. Toxicidad aguda por el procedimiento de dosis fijas de un extracto de *Boldo purpurascens* Cav. [revista en internet] 2008. [acceso Enero 2013] 9(3). Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030308/030822.pdf>.
2. Pérez M, Jiménez E, Boffill M, Méndez R, Verdecia B. Toxicidad aguda de un extracto acuoso de *Boldo purpurascens* Cav. en el modelo sube y baja en ratas. [revista en internet] 2008. [acceso Enero 2013] 13(2). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000200006.
3. Raymond I, Ogochukwu N. Acute and sub-acute toxicological assessment of the aqueous seed extract of *Persea americana* mil (Lauraceae) in rats [revista en internet] 2009. [acceso Febrero 2013] 6(4): 573–578. Disponible en : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2816474/>
4. Gorriti A, Arroyo J, Quispe F. Toxicidad oral a 60 días del aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) y Linaza (*Linum itatissimum* L.) y determinación de la dosis letal 50 en roedores. [revista en internet] 2010. [acceso marzo 2013] Perú Med. Exp. Salud Pública. 27(3):352 - 60. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1726-46342010000300007&script=sci_arttext.
5. Philomena G. Concerns regarding the safety and toxicity of medicinal plants - An overview, [revista en internet] 2011. [acceso agosto 2013]. 01 (06) 2011: 40-44. Disponible en: http://scholar.googleusercontent.com/scholar?q=cache:Jc21wTaDLrUJ:scholar.google.com/+concerns+regarding+the+safety+and+toxicity+of+medicinal+plants+-+an+overview&hl=es&as_sdt=0,5&as_vis=1
6. Subieta X. Evaluación pre-clínica de la toxicidad de savia de *Musa paradisíaca* en modelos animales. [Tesis maestría]. Facultad de ciencias biomédicas de la Universidad Mayor de San Andrés; La Paz – Bolivia; 2005[acceso agosto 2013]. Disponible en: <http://bibliotecadigital.umsa.bo:8080/rddu/bitstream/123456789/399/1/TM566.pdf>
7. Monosson E. Toxicity testing methods. [revista en internet] 2007. [acceso agosto 2013]. Disponible en: <file:///G:/Toxicity%20testing%20methods.htm>.
8. Cornejo V. Estudio Morfológico – Estructural de plantas Medicinales de uso más frecuente en Ayacucho. Ayacucho _ Perú; 1986.
9. Srivastava J, Shankar E, Gupta S. Manzanilla: La medicina herbaria del pasado con futuro brillante. [revista en internet] 2010. [acceso diciembre 2012] 3(6): 895-901 Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2995283/>
10. Silva H, Ríos F, García J, Cerruti T, Nina E. Toxicidad aguda de 12 especies vegetales de la Amazonía peruana con propiedades medicinales. IPS – IMET, Iquitos – Perú; 1997.
11. Bruneton J. Elementos de fitoquímica y farmacognosia. 1ª ed. Zaragoza – España: Acribia; 1991.
12. Instituto ecológico de plantas medicinales (IEPLAM). Plantas Medicinales. 1ra ed. Cusco – Perú: IEPAM – GTZ; 1994.
13. Mosco M. Secretos medicinales de la flora peruana y guía de la maternidad. 4ª ed. Cusco – Perú: ALPHA E.I.R. Ltda.; 1997.
14. Alonso J. Tratado de fito-medicina bases clínicas y farmacológicas, 1ª ed. Buenos Aires – Argentina: ISIS; 1998.

15. Cáceres A. Plantas de uso medicinal en Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala; 1995.
16. Aldave A, Mostacero J. Botánica Farmacéutica. 1^{ra} ed. Trujillo – Perú: Libertad E.I.R.L.; 1988.
17. Srivastava J, Gupta S. Extracción, caracterización, la estabilidad y la actividad biológica de los flavonoides aislados de flores de manzanilla. [revista en internet] 2011. [acceso Mayo 2013] Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2809371/>
18. Loomis A, Fundamentos de toxicología. 2^{da} ed. Zaragoza – España: Acribia; 1982.
19. Enciso E. Toxicología y Química Legal. Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho – Perú; 2003.
20. Klassen J. Fundamento de toxicología. 1^{ra} ed. España – Madrid: Mc Graw–Hill Interamericana; 2006.
21. CYTED. Manual de técnicas de investigación. CEFYB – UNSCH; 1996.
22. Valle P. Toxicología de alimentos. México – D.F.; 2000.
23. Curtis D, Klaassen J. Manual de toxicológico. 1^{ra} ed. México D.F.: Mc. Graw–Hill Interamericana; 2001.
24. Román C. Determinación de la DL₅₀ y de toxicidad retardada a siete días del extracto de *Allium ampeloprasum* en ratones. [tesis de licenciatura]. Facultad de Ciencias Veterinarias de las Universidad Austral de Chile; 2000. [acceso Mayo 2013]. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2000/fvr758d/doc/fvr758d.pdf>
25. Buzzo A. Toxicología. 5^{ta} ed. Buenos Aires – Argentina: López librereros; 1960.
26. Coscon D. Actividad inhibitoria del crecimiento de *Streptococcus mutans* y de flora mixta salival por acción de aceite esencial de la *Matricaria chamomilla* “manzanilla”. [Tesis de pregrado] Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. [acceso Mayo 2013]. Disponible en: http://www.cybertesis.edu.pe/bitstream/cybertesis/2149/1/cosco_rd.pdf
27. OECD. Organization for economic co-operation and development. Guideline for testing of chemicals. Acute Oral Toxicity – Acute Toxic Class Test N° 423. 2001: 1-14.
28. OECD. Organization for economic co-operation and development. Guideline for testing of chemicals. Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents test N° 407. 2008. Pp 1-8.
29. Azalea C, Castillo A, Domínguez A. Toxicidad a dosis repetidas de *Azadirachta indica* A. Juss. (árbol del Nim). [revista en internet] 2010 [acceso enero 2013] 15(3) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962010000300006
30. Loza R, Guarachi L, López Y, Mamani M, Arias J, Almanza G. Evaluación de la toxicidad de los extractos etanólicos de *Bacharis papillosa* en animales de experimentación. [revista en internet] 2011 [acceso diciembre 2012] 19(1) Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1813-53632011000100004&lng=en&nrm=iso&tlng=en.
31. Silva E, Aguiar F, Gonsalves E. Evaluación del tratamiento subcrónica con el extracto hidroalcohólico de *Calendula officinalis* L. sobre los parámetros bioquímicos y hematológicos en ratas Wistar. [revista en internet] 2005. [acceso Abril 2013] 15 (2). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102695X2005000200003>

32. Vijayalakshmi T, Muthulakshmi V, Sachdanandam P. Estudios de tóxicos en los parámetros bioquímicos Realizado en pulg de ratas con extracto de *Anacardium semecarpus* tuerca. V. Ethnopharmacol. [revista en internet] 2000. [acceso Abril 2013]69(1):9-15. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10661878>
33. Goñi L, Caridad A, Diuris B. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CEMPALAB, Cenp: SPRD. [revista en internet] 2011. [acceso Abril 2013] 12 (11) Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revista/redvet/n1111111/111101.pdf>
34. Navarro R. Conteo de células sanguíneas a través de imágenes de microscopía. [Tesis de maestría]. Universidad Autónoma Metropolitana; 1999 [acceso Abril 2013]. Disponible en: <http://148.206.53.231/UAM0794.PDF>
35. Rojas J, Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis Sims* (maracuyá), en ratas.[revista en internet] 2009 [acceso diciembre 2012]. 70(3):175-80 Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962010000300006.
36. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. 1ª ed. Madrid – España: Síntesis; 1999.

ANEXO

Anexo 1

Tabla 4. Certificado de identificación taxonómica



EL JEFE DEL HERBARIUM HUAMANGENSIS DE LA FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

C E R T I F I C A

Que, el Bachiller en Farmacia y Bioquímica, Sr. Klever Dony, PALOMINO QUISPE, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de tesis.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A 1988. y es como sigue:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	ASTERALES
FAMILIA	:	ASTERACEAE
GENERO	:	Matricaria
ESPECIE	:	<i>Matricaria recutita</i> L.
N.V.	:	"manzanilla"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 29 de Agosto del 2012

Anexo 2

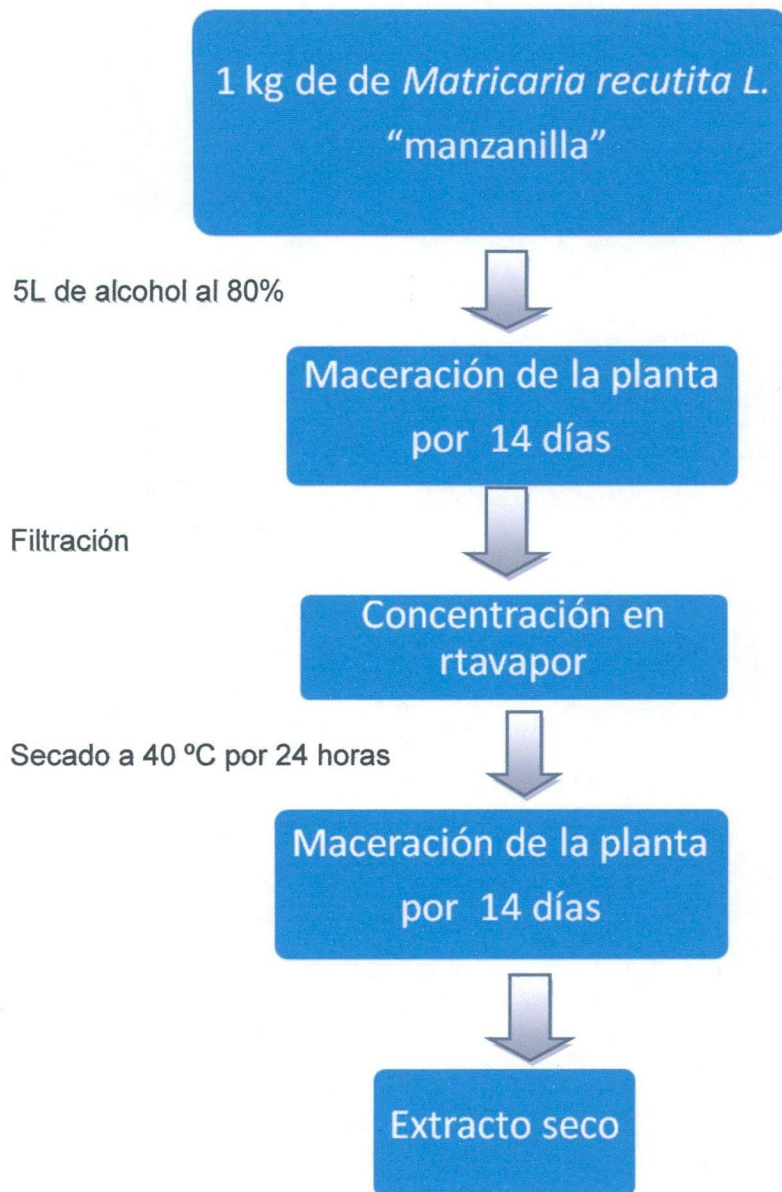


Figura 10. Flujograma de la extracción del extracto

Anexo 3

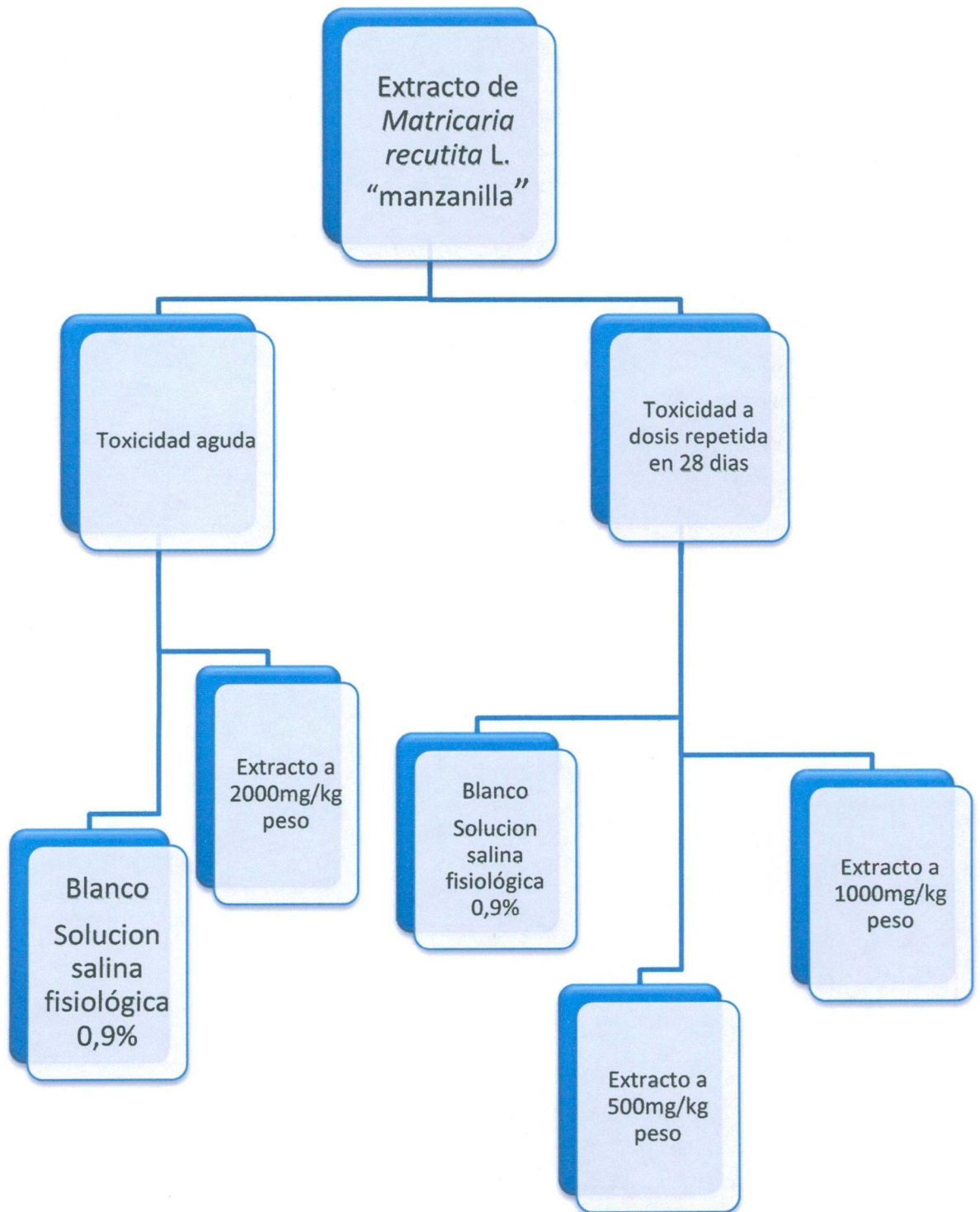


Figura 11. Flujograma experimental de toxicidad aguda y a dosis repetida

Anexo 4

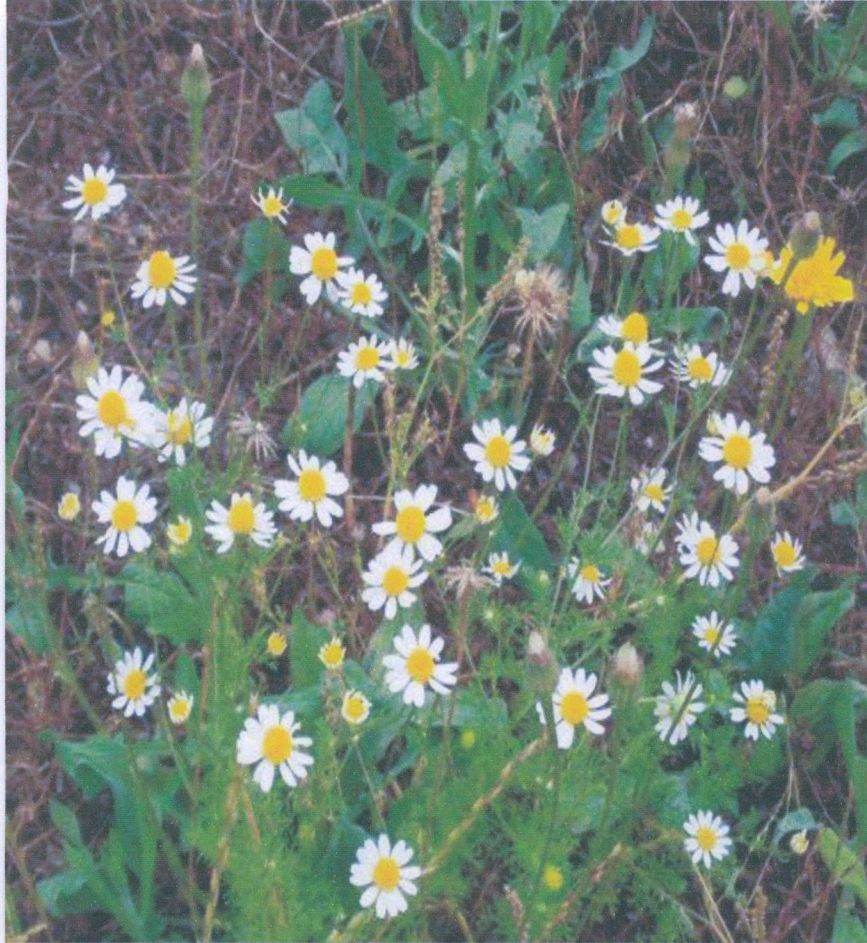


Figura 12. *Matricaria recutita* L. "manzanilla" en estado silvestre

Anexo 5



Figura 13. Jaula de "ratas" *Rattus norvegicus* por grupo de tratamiento

Anexo 6



Figura 14. Extracción de sangre por punción cardiaca de "ratas"

Anexo 7

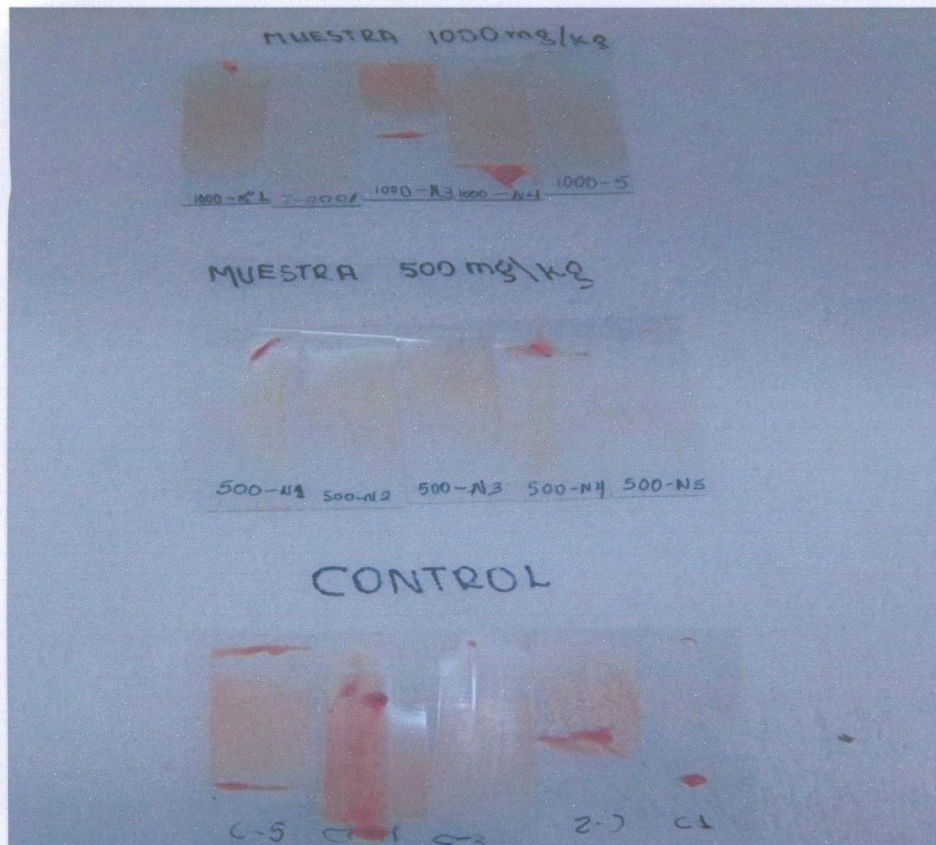


Figura 15. Frotis de sangre para análisis hematológicos

Anexo 8

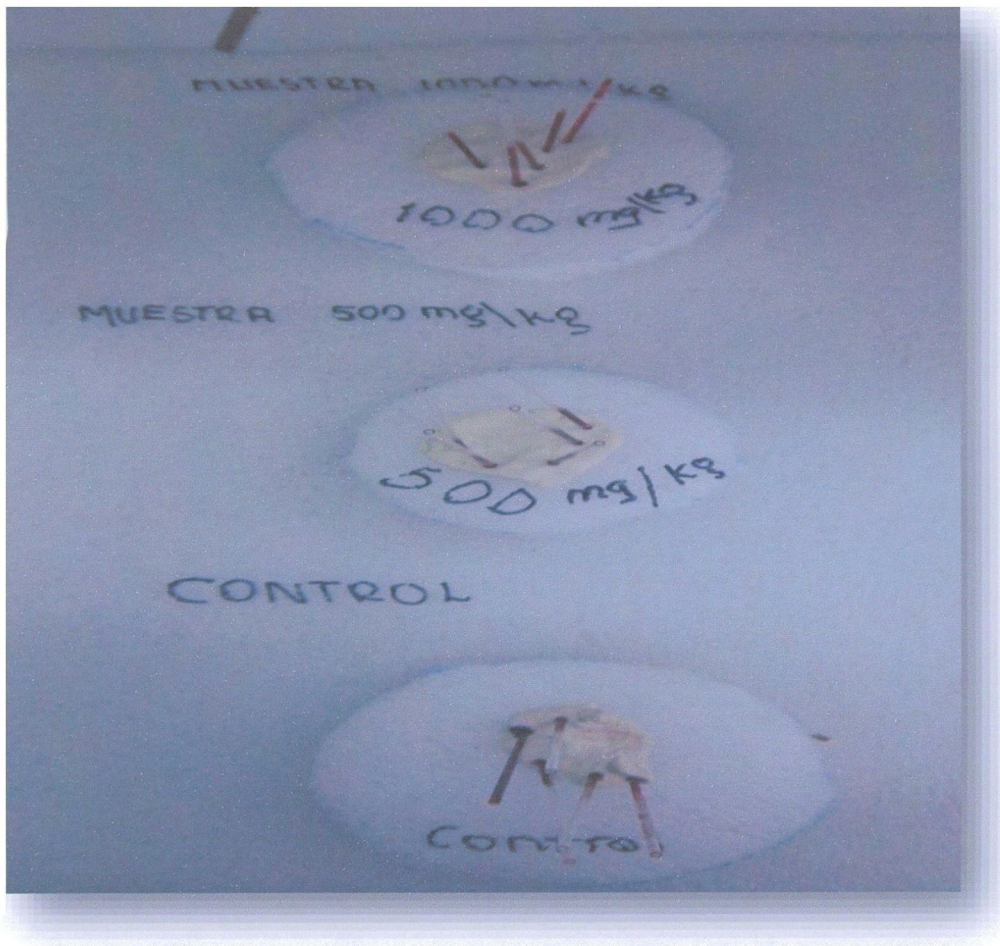


Figura 16. Muestra de sangre preparada para lectura de hematocrito

Anexo 9



Figura 17. Órganos aislados por grupo de tratamiento

Anexo 10



Figura 18. Pesado de órganos de “ratas”

Anexo 12

Tabla 5. Compuestos fitoquímicos del extracto hidroalcohólico

<i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla". ²⁶		
Alpha-bisabolol	Acido-caprico	Kaempferol
Colina	Ácido-caprilico	Acido-linoléico
Acido-Galacturonico	Taninos catechin	Glucosidosluteolin
Glucosa	Chamazulene	Matricarin
2,4- ácido dihidroxybenzoico	Esteres chamomilla	Matricin
2,5- ácido dihidroxybenzoico	Chamomillo	Niacina
3,4- ácido dihidroxcinamico	Acido-chlorogenico	O-ácido cuomerico
3-carene	Crisoeriol	P-ácido cuomerico
3-hidroxy-2-metilidene-ácido butirico agelato	Crisoeriol	Acido palmítico
4-hidroxy-3-ácido metoxy benzoico	Crisoeriol-7-glucosido	Patuletin
4-ácido metoxy benzoico	Crisosplenol	Acido-pectico
6-3- dimetoxyquercetin	Crisosplentin	Perillyl alcohol
6,7 dimetoxyquercetin	Cis-cariophyllene	Polyacetileno
6-hidroxy-luteolin-7-glucosido	Cis-en-yn-dicycloeter	Quercetagetin 3,5,6,7,3',4'
6-methoxykaempferol	Etil benzoato	Quercetin
Alpha-óxido bisabolol-a	Etildecanoato	Quercetin-3-galactosido
Alpha-óxido bisabolol-b	Etilpalmitito	Quercetin-7-glucosido
Alpha-óxido bisabolol-c	Etil-fenil-acetato	Quercetrina
Apha-neoxidobisabolol-a	Eupaletin	Quecimeritrin
Alpha-murolene	Farnesene	Rhamnosa
Apigeninglucosidos	Farnesol	Rutin
Acido- ascórbico	Furfural	Acidosalicilico
Axillarin	Galactosa	Acidosinapico
Azulene	Acido-galico	Spathulenol
Betacario-phyllene	Acido-gentistico	Spinacetin
Beta-damascenona	Geraniol	Tanin
Bisabolene	Herniarin	Tiamina
Borneol	Hiperosido	Triaconta
Bornyl-acetato	Ácido-isoferulico	Umbeliferona
Acido-caféico	Isorhamnetin	Xantoxylina
Calamene	Jaceidin	Xylosa

Anexo 13

Tabla 6. Análisis de varianza del control de pesos, en la prueba de toxicidad aguda

Control de pesos en 14 días (Toxicidad aguda)		Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
CONT	Inter-grupos	1423,600	2	711,800	410,654	,000
	Intragrupos	20,800	12	1,733		
	Total	1444,400	14			
EXT	Inter-grupos	1786,533	2	893,267	105,921	,000
	Intra-grupos	101,200	12	8,433		
	Total	1887,733	14			

Anexo 14

Tabla 7. Análisis de varianza del control de pesos, en la prueba de toxicidad a dosis repetida

		Método único		Media	F	Sig.
		Suma de	gl	Cuadrática		
		cuadrados				
Peso (g)	covariables	128,000	1	128,000	14,187	,000
Tratamientos						
Efectos principales	Tiempo (días)	4211,813	4	3552,95	393,800	,000
Modelo		4339,813	5	2867,963	317,878	,000
Residual		622,533	69	9,022		
total		4962,347	74	202,194		

- a. Peso (g) por tiempo (días) con tratamiento
b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

Anexo 15

Tabla 8. Análisis de varianza de pesos para órganos, en la prueba de toxicidad a dosis repetida

	Método único				
	Suma de	gl	Media	F	Sig.
	cuadrados		Cuadrática		
Peso (g) covariables	0.943	1	0,943	2,662	,108
Tratamientos					
Efectos principal tipo de órgano	242.243	8	0,74 22	7,92	,000
Modelo	243.183	5	60,79617	1,612	,000
Residual	19.484	5	50,354		
total	262.667	5	94,452		

a. Peso (g) por tipo de órgano con tratamiento

b. Todos los efectos introducidos simultáneamente

Anexo 16

Tabla 9. Análisis de varianza de pesos de los riñones expuestos al extracto hidroalcohólico

	Suma de cuadrados		gl	Método único Media Cuadrática	F	Sig.
Peso (g) del Inter- grupo	0,183	216	3	E-02	2,202	,153
Riñon (g) Inter- grupo	0,498	121	4	E-02		
Total	0,682	14				

Anexo 17

Tabla 10. Prueba de Tukey de pesos de los riñones expuestos al extracto

Tratamientos	N	Subset for alpha =,05
		1
Blanco		,9645
1000 mg/kg	5	1,1189
500 mg/kg	5	1,2344
Sig.	5	,133

Se muestra las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

a. Uses Harmonic Mean

Sample

Size = 5,000

Anexo 18

Tabla 11. Análisis de varianza de pesos de los hígados expuestos al extracto hidroalcohólico

	Suma de cuadrados	gl	Método único Media Cuadrática	F	Sig.
Peso (g) del Inter- grupo	8,0102	4	,005	5,665	,019
Hígado (g) Inter- grupo	8,48312		0,707		
Total			16,49214		

Anexo 19

Tabla 12. Prueba de Tukey de pesos de los hígados expuestos al extracto hidroalcohólico

Tratamientos	N	Subsetfor alpha =.05	
		1	2
Blanco		4,6763	5,5641
1000 mg/kg	5	5,5641	6,4662
500 mg/kg	5		
Sig.	5	,256	,246

Se muestra las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

- a. Uses Harmonic Mean
Sample
Size = 5,000

Anexo 20

Tabla 13. Análisis de varianza de pesos de los corazones expuestos al extracto hidroalcohólico

	Suma de cuadrados	gl	Método único Media Cuadrática	F	Sig.
Peso (g) del Inter- grupo	0,377E-02	2	,689E-02	6,836	,010
Corazón (g) Inter- grupo	0,475E-02	12	,396E-03		
Total			0,13914		

Anexo 21

Tabla 14. Prueba de Tukey de pesos de los corazones expuestos al extracto hidroalcohólico

Tratamientos	N	Subsetfor alpha =,05	
		1	2
Blanco	5	,4436	
1000 mg/kg	5	,4954	,4954
500mg/kg	5		,6114
Sig.		,523	,068

Se muestra las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

b. Uses Harmonic Mean
Sample
Size = 5,000

Anexo 22

Tabla 15. Análisis de varianza pesos de los pulmones expuestos al extracto hidroalcohólico

	Suma de cuadrados	gl	Método único Media Cuadrática	F	Sig.
Peso (g) del Inter- grupo	,457	2	,228	1,031	,386
Pulmón (g) Inter- grupo	2,658	12	,222		
Total	3,115	14			

Anexo 23

Tabla 16. Prueba de Tukey de pesos de los pulmones expuestos al extracto hidroalcohólico

Tratamientos	N	Subset for alpha =,05
		1
Blanco		1,1255
1000 mg/kg	5	1,2598
500 mg/kg	5	1,5441
Sig.	5	,369

Se muestra las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos

a. Uses Harmonic Mean Sample

Size = 5,000

Anexo 24

Tabla 17. Análisis de varianza de la concentración de enzimas hepáticas

Enzimas hepáticas		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
TGO	Inter-grupos	149,049	2	74,525	2,129	,162
	Intra-grupos	420,008	12	35,001		
	Total	569,057	14			
TGP	Inter-grupos	135,545	2	67,773	1,036	,385
	Intra-grupos	785,128	12	65,427		
	Total	920,673	14			
FA	Inter-grupos	3521,013	2	1760,507	1,693	,225
	Intra-grupos	12480,944	12	1040,079		
	Total	16001,957	14			

Anexo 25
Tabla 18. Matriz de consistencia

TÍTULO	PROBLEMA	OBJETIVOS	MARCOTEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES INDICADORES	METODOLOGÍA
Evaluación de la toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en ratas, Ayacucho 2012.	¿Presentará toxicidad a dosis límite y a dosis repetida el extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en ratas?	<p>OBJETIVO GENERAL</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar toxicidad aguda y a dosis repetida del extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en "ratas" <i>Rattus norvegicus</i>. <p>OBJETIVO ESPECÍFICO</p> <ul style="list-style-type: none"> Evaluar la toxicidad aguda por el método de dosis límite del extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en "ratas" <i>Rattus norvegicus</i>. Evaluar la toxicidad a dosis repetida a 28 días del extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" en "ratas" <i>Rattus norvegicus</i>. Determinar la variación, de pesos de los diferentes órganos nobles, parámetros hematológicos, perfil bioquímico, histología hepática después de la exposición al extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" a dosis repetida en 28 días en "ratas" <i>Rattus norvegicus</i>. 	<p>MARCO TEÓRICO</p> <p>DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Hierba anual de hasta 25 cm. de altura, propia de zonas de clima templado. Tallo cilíndrico, ramificado, verde, de cuatro a cinco ángulos o partes salientes. Inflorescencia; de capítulo o cabezuela con ramas terminales. El capítulo que rodea la cabezuela está formado por hojas verdes. El cáliz es membranoso, blanquecino, pequeño y denticulado. La corola de 5 pétalos fusionados en un tubo, con las partes apicales libres en número de 5, de color amarillo.</p> <p>USOS MEDICINALES La droga se utiliza en infusión (que contiene únicamente un 10 -15% de la esencia presente inicialmente) y en forma de preparados galénicos. También tiene capacidad sedante, tónico y antiespasmódico en infusión.</p> <p>TÓXICO Es el agente químico, físico o biológico que puede producir algún efecto nocivo sobre un ser vivo. Cualquier sustancia puede actuar como tóxico, tanto los productos exógenos como los propios constituyentes del organismo.</p> <p>CLASIFICACION DE LAS SUSTANCIAS TÓXICAS Según su intensidad se clasifican en Extremadamente tóxico, altamente tóxico, moderadamente tóxico, ligeramente tóxico, prácticamente atóxico y relativamente inocuo.</p> <p>FACTORES IMPLICADOS EN LA TOXICIDAD Hay por lo menos cinco factores que están íntimamente ligados al fenómeno del tóxico como el carácter tóxico del agente xenobiótico, sistema biológico en el cual actúa el agente tóxico que es de suma importancia, la vía de absorción ya que el agente tóxico, el tiempo de interacción con el agente tóxico y la excreción del agente tóxico.</p> <p>RELACION DOSIS - RESPUESTA Esto se basa en la premisa de que cualquier sustancia química puede ponerse en contacto con un mecanismo biológico sin que produzca un efecto, con tal que la concentración del agente químico este por debajo del mínimo efectivo. En consecuencia todo agente químico produce efectos indeseables de un nivel significativo.</p>	El extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" no presenta toxicidad manifiesta a la dosis límite y a dosis repetida en ratas.	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE Extracto hidroalcohólico de la <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla".</p> <p>INDICADOR Concentraciones: de 2000 mg/Kg, 1000 mg/kg, 500 mg/kg.</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE tóxico</p> <p>INDICADOR 4.2.1. Toxicidad aguda - Pelaje: ganancia o pérdida de peso - Ojos: miosis, midriasis -Mucosa: sequedad, salivación - Sistema nervioso: depresión, estimulación, convulsiones - Peso: ganancia, pérdida -Sistema respiratorio: Taquipnea, bradipnea</p> <p>4.2.2. Toxicidad a dosis repetida -Hematológicos: hemoglobina, Eritrocito -Bioquímicos: transaminasa, fosfatasa alcalina -Anatomo-patológicos: normal, dañado</p>	<p>POBLACIÓN <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla" recolectadas en el distrito de Pacaycasa, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, ubicado a 2740 m.s.n.m.</p> <p>MUESTRAS 5 kilogramos de <i>Matricaria recutita</i> L. "manzanilla".</p> <p>UNIDAD EXPERIMENTAL Ratas</p> <p>DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD TÓXICA Toxicidad aguda oral. Toxicidad oral a dosis repetida de 28 días en ratas.</p> <p>DISEÑO EXPERIMENTAL Acimatar a los animales por una semana, sometidos a ayuno con libre acceso de agua 12 horas antes. La sustancia experimental es administrada en una sola dosis por gavage. Los animales son distribuidos aleatoriamente en dos grupos de cinco ratas hembras tratados vía oral, al grupo control solo se le dará el vehículo y al otro grupo extracto hidroalcohólico 2000 mg/kg. Los animales son observados los primeros 30 minutos, periódicamente durante las primeras 24 horas, para un total de 14 días. Registrar todas las observaciones. Los pesos individuales serán determinado poco antes de que la sustancia experimental sea administrada, Al final los animales supervivientes serán pesado y sacrificados. Si los animales no mueren a la dosis límite, no será necesario ensayos a dosis menores.</p> <p>ANÁLISIS DE DATOS Los resultados fueron representados de acuerdo a su media, a los tratamientos y desviación estándar en tablas y figuras, que fueron evaluados mediante el análisis de varianza (ANOVA) y la prueba complementaria de Tukey con un nivel de confianza del 95% (p> 0,05).</p>