

DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD SUBCRÓNICA DE LA *Zebrina pendula* EN RATONES

Gustavo Isaza M¹
María Cristina Arango M¹
Olga Patricia Buriticá²
Henry Marulanda²

RESUMEN

La *Zebrina pendula* (n.vulgar. panameña, siempreviva) se usa en la región del eje cafetero en forma empírica para el tratamiento de la diabetes mellitus; en experimentos realizados en ratas y ratones mostró efectos hipoglicemiantes. Se evaluó la toxicidad subcrónica de la *Zebrina pendula* administrando diariamente, durante 90 días, un extracto acuoso de la planta a 12 ratones normales y agua destilada a 12 ratones del grupo control. Se realizaron pruebas de glicemia, hemoleucograma, función hepática (AST y ALT) y renal (urea y creatinina), necropsia y un examen histopatológico a 13 órganos.

No hubo diferencias significativas en los valores de los exámenes paraclínicos entre el grupo control y el tratado con *Zebrina pendula*. Se halló congestión hepática en siete individuos de cada grupo, y cuatro animales del grupo tratado y tres del control tuvieron congestión renal. Dos animales del grupo tratado presentaron tumefacción hepática más congestión pulmonar y renal. El peso del corazón, hígado y pulmones fue significativamente mayor en los animales del grupo tratado que en los del grupo control.

No hubo diferencias significativas entre ambos grupos con respecto a la mortalidad, consumo de alimento y variaciones de peso.

Con los resultados obtenidos en la presente investigación, se puede concluir que los

extractos acuosos de *Zebrina pendula*, en nuestras condiciones experimentales, tienen toxicidad, con el tejido hepático como órgano blanco de efectos tóxicos a dosis altas.

Palabras claves: *Zebrina pendula*, diabetes mellitus, toxicidad subcrónica, congestión hepática.

ABSTRACT

Zebrina pendula (also known as Panamanian) is used in the coffee region in an empirical form for the treatment of the diabetes mellitus. Experiments carried out in rats and mice showed hypoglycemic effects. The *zebrina pendula* subchronic toxicity was evaluated by administering daily a watery plant extract during 90 days to 12 normal mice and distilled water to 12 mice of the control group. Glycemia, hemoleukogram, hepatic (AST and ALT) and renal (urea and creatinine) function tests were carried out, as well as the autopsy and a histopathologic examination to 13 organs.

There were no significant differences in the values of the paraclinical examinations between the control group and the group treated with *Zebrina pendula*. The hepatic congestion was found in seven individuals of each group, and four animals of the treated group and three of the control group. Two animals of the treated group and three of the control group presented renal congestion. Two animals of the treated group showed hepatic swelling, in addition to pulmonary and renal congestion. The weight

¹ Profesores Departamento de Ciencias Básicas para la Salud. Facultad de Ciencias para la Salud. Universidad de Caldas. Manizales.

² Estudiantes de pregrado, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia- Facultad de Ciencias Agropecuarias- Universidad de Caldas

of the heart, liver and lungs were significantly greater in the treated animals than in those of the control group.

There were not any differences between both groups in regards to mortality, food intake and weight variations.

With the results obtained in the present investigation, it can be concluded that with the results obtained in the present investigation, it can be concluded that the watery extracts of *Zebrina pendula* under the experimental conditions described, have toxicity, with the hepatic tissue as the white organ with poisonous effects at high doses.

Keywords: *Zebrina pendula*, diabetes mellitus, subchronic toxicity, hepatic congestion.

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales constituían en la antigüedad un medio terapéutico empleado por el hombre y conformaban la mayor fuente de sus medicamentos.

Hoy se sabe que las propiedades medicinales de las plantas se deben a algunos grupos de sustancias de diversa composición química, cuya acción farmacológica sobre el organismo humano y animal les confiere su valor medicinal; sin embargo, estas sustancias pueden tener también efectos tóxicos, por lo cual es necesario realizar investigaciones con el objeto de determinar su actividad farmacológica y su toxicidad (1, 2).

Debido a que el 80% de la población mundial utiliza las plantas como principal medicamento, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha insistido en que el uso de plantas medicinales puede ser de gran aplicación en la atención primaria de los sistemas de salud, pero sobre bases científicas que sustenten seguridad, efectividad y calidad requeridas para

administración en humanos (3, 4). Esto ha dado lugar a un auge no sólo en el uso de plantas medicinales sino también en la investigación farmacológica siguiendo normas serias de investigación científica que puedan dar credibilidad a los hallazgos (5, 6).

También en los países tercermundistas que poseen en su gran mayoría una rica flora y una valiosa tradición popular en la utilización de plantas medicinales, este recurso natural comienza a ser rescatado, validando a través de la investigación sus propiedades medicinales, así como sus posibilidades de uso y comercialización como medicamentos (7, 8).

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico producido por alteraciones en el metabolismo de la glucosa. Existen dos tipos: diabetes mellitus tipo 1 (DMT 1) y diabetes mellitus tipo 2 (DMT 2). La DMT1 es esencialmente una enfermedad juvenil e infantil de evolución muy rápida, caracterizada por la deficiencia de insulina en la sangre, causada por una alteración en la producción de insulina. La DMT2 aparece en la edad adulta y se asocia con resistencia de los tejidos a la acción de la insulina, la cual puede estar aumentada o disminuida en sangre (9).

La DMT1 se trata con insulina. Para la DMT2 existen además tratamientos con hipoglicemiantes orales, productos sintéticos que si bien son eficaces, pueden desencadenar reacciones adversas a veces fatales.

Del total de diabéticos en el mundo, el 90% sufre de diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), y afecta alrededor del 3% de la población. La prevalencia mundial de DMT2 se está incrementando y se espera un aumento del 3% anual, con más de 300 millones de casos para el 2010 (10, 11).

La patogénesis de la DMT2 involucra tres defectos claves: resistencia a la insulina, disfunción en la secreción de insulina y una sobreproducción hepática de glucosa (1, 2). El tratamiento actual va dirigido a aumentar los niveles plasmáticos de insulina y en la gran

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Preparación del extracto acuoso

mayoría de los casos se busca revertir la resistencia a la insulina (12, 13). Dado que los tratamientos convencionales con hipoglicemiantes orales pueden desencadenar reacciones adversas como hipoglicemia, ictericia y elevación de las concentraciones de las enzimas hepáticas, así como depresión de médula ósea y discrasias sanguíneas que pueden ser fatales (14, 15, 16), por esto se ha creado la necesidad de realizar investigaciones en busca de fármacos que los puedan reemplazar. Muchas de estas sustancias siguen siendo moléculas sintéticas y en algunos casos se investigan sustancias endógenas como las incretinas, hormonas derivadas del intestino o sustancias semejantes a ellas tales como el Glucagón Péptido 1 (GLP-1) y el Péptido Gástrico Inhibitorio (GPI) (17, 18).

Otra fuente de fármacos antidiabéticos de investigación es la evaluación de plantas que la comunidad usa en forma empírica, como coadyuvantes en el manejo de la DMT2. Nuestro grupo de investigación había evaluado la *Zebrina pendula*, una planta de amplio uso tradicional empírico en el Eje Cafetero para el tratamiento de la DMT2, y realizó trabajos experimentales en los que además de hacer un análisis fitoquímico, se confirmó su efecto hipoglicemiante en ratas y ratones diabéticos por aloxano (19, 20). En otro trabajo se determinó que no produce efectos tóxicos en ratones ni efectos adversos en los estudios hematológicos, química sanguínea e histopatológicos en exposición aguda durante 14 días (21). En la presente investigación se evaluó la toxicidad subcrónica de la *Zebrina pendula* en ratones de laboratorio, administrando extractos acuosos durante un período de 90 días.

La planta fue recolectada en la vereda “Gallinazo”, municipio de Villamaría (Caldas), a una altura de 2.150 m.s.n.m., una temperatura promedio de 18°C. La planta fue clasificada por el herbario del programa de Agronomía de la Universidad de Caldas; un ejemplar se conserva con el No.039. Las hojas se secaron en estufa a una temperatura de 40°C, se pulverizaron, se maceraron en agua destilada durante 48 horas a 40°C y se concentró en rotavapor hasta obtener una concentración del 15%.

2. Estudios toxicológicos

Se usaron 24 ratones *Suiza* de ambos sexos del bioterio de la Universidad de Caldas, con peso promedio de 35 g, edad promedio de 9 semanas. Los animales fueron divididos aleatoriamente en grupos control y tratados con el extracto, cada uno conformado por seis machos y seis hembras, que se mantuvieron en cuatro cajas separadas, a una temperatura aproximada de 20°C, con una luminosidad diaria de 12 horas. Se suministró agua *ad libitum* y 5 g/animal/día de concentrado comercial *Solla*® S.A. con 22% de proteína.

Para el cálculo de las dosis en ratones se hizo un estudio aleatorio en 15 personas adultas que tomaban empíricamente infusiones de *Zebrina pendula* para el control de su diabetes tipo 2, y con base en la cantidad de planta que tomaban al día (aprox. 5 mg/kg/día) se calculó una dosis para los ratones, que fuese suficientemente alta para detectar alteraciones tóxicas; por lo tanto, la dosis seleccionada para los ratones fue de 150 veces la dosis equivalente a la del adulto; es decir, cada ratón recibió 750 mg/kg/día. En ayunas, se les administró por medio de una sonda esofágica el extracto acuoso al grupo tratado y agua destilada al grupo control.

Las muestras para los exámenes hematológicos y de glicemia se tomaron de la vena coccígea dorsal, los días 0, 30, 60, 90. A cada ratón se le midió glicemia, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, linfocitos, neutrófilos, eosinófilos, monocitos y basófilos y adicionalmente urea, creatinina, ALT y AST el día 90 del experimento. La glicemia se midió con un glucómetro *Ascencia Bayer®*; para la hemoglobina se tomaron 20 μ de sangre, que se depositaron en un tubo con 5 ml de solución *Drabkin* y se cuantificó en espectrofotómetro *Metertek®*.

El volumen globular agregado se cuantificó tomando muestras en tubos de microhematocrito heparinizados y se utilizó una microcentrífuga; el recuento total de leucocitos se realizó tomando 20 μ de sangre, mezclándolos con 380 μ de solución *Turk* y leyéndolo en una cámara de *Neubauer* marca *Boeco®*. Para el recuento diferencial de leucocitosis se hizo un extendido y se tiñó con reactivo de *Wright*.

Los estudios anatomopatológicos se hicieron en todos los ratones el día 90, previa eutanasia por inhalación con éter etílico; se procedió a un examen macro y microscópico de los siguientes órganos: bazo, cerebro, corazón, estómago, hígado, intestino delgado y grueso, ovarios, páncreas, pulmón, riñones, testículos, vejiga y útero; el diagnóstico microscópico lo realizó el

laboratorio de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Caldas y cada placa fue analizada por médicos patólogos. A todos los ratones se les hizo control de consumo de alimento y estado general todos los días y controles de peso cada 30 días (22, 23, 24). Los análisis estadísticos se hicieron mediante la prueba de *Student*, con un nivel de significancia de $p < 0.05$.

Para el manejo de los animales se tuvieron en cuenta los aspectos éticos de los Derechos Internacionales de los Animales, aprobados por la ONU y la UNESCO (25), las pautas generales del Ministerio de Salud (26) y el instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional de Colombia (27) y el visto bueno del Comité de Ética de la Facultad de Ciencias para la salud-Universidad de Caldas.

RESULTADOS

En la tabla 1 se presentan los valores hemáticos y la glicemia del grupo que recibió extracto de *Zebrina pendula* durante 90 días y los valores del grupo control.

En el día 30 del tratamiento se presentó una moderada disminución de la glicemia en los animales control que, comparada con el día 0, es estadísticamente significativa ($p < 0.05$); en la glicemia del grupo tratado se observó un

TABLA 1. Evolución de los parámetros hematológicos en el curso de 90 días de tratamiento, en los grupos control y con extracto de *Zebrina péndula*.

PARÁMETRO	DÍA 0	DÍA 30	DÍA 60	DÍA 90
Glicemia (mg/dL)				
Control	130.16±24.88	91.83±26.40*	111±28.27	110.54±21.69
Extracto	108.75±27.406	82.45±10.72*	93.63±9.22	75.4±18.39*
Hemoglobina (g/dL)				
Control	15.75±1.218	13.69±1.72*	13.78±2.64*	13.13±0.89*
Extracto	19.33±3.276	14.57±1.27*	15.21±1.46*	14.35±1.65*
Hematocrito (%)				
Control	52.33±2.806	53.25±2.52	53.45±3.64	50.90±2.98
Extracto	50.33±1.825	55.36±2.76*	53.54±2.46*	52.2±3.35
Leucocitos (mm ³)				
Control	8312.5±1353.13	6983.33±1033.38*	7927.27±1038.95	10713.64±1670.94*
Extracto	7995.8±1109.96	8000±694.26	7850±597.07	11665±1897.66*

Los valores se expresan como la media \pm E.S.M.* $p < 0.05$; $p > 0.05$ en los demás

descenso durante todo el tratamiento y es estadísticamente significativo los días 30 y 90; estos valores para ambos grupos se encontraron dentro de los rangos normales.

Cuando se compara la hemoglobina de los días 30, 60, 90 con el día 0 se encuentra una disminución con diferencias significativas para todos los casos, tanto para el grupo control como para el grupo tratado ($p < 0.05$); sin embargo, los valores de hemoglobina permanecen en los límites normales. Las variaciones del hematocrito no sobrepasan los valores normales, con leves incrementos para el grupo que recibió el extracto los días 30 y 60 ($p < 0.05$). El recuento leucocitario permaneció dentro de los valores normales, si bien es de resaltar un aumento de los leucocitos el día 90 en el grupo tratado ($p < 0.05$).

En la tabla 2 se muestran los valores del recuento diferencial de ambos grupos.

Se observan variaciones en estos recuentos pero en ninguna se encuentra que estas células estén por debajo o por encima de los valores normales.

Tabla 2. Variaciones medias del recuento total y diferencial de leucocitos en el curso de 90 días de tratamiento, en los grupos control y con extracto

Observación	Leucocitos (mm ³)	Linfocitos %	Neutrófilos %	Eosinófilos %	Monocitos %	Basófilos %
Día 0						
Control	8312.5	79.08±6.17	14.16±5.44	4.91±1.88	1.75±1.48	0.25±0.62
Extracto	7995.83	71.66±17.88	15.66±3.74	5.66±1.23	1.83±1.4	0.16±0.38
Día 30						
Control	6983.33	71.33±6.44*	25.25±7.12*	2.41±2.11*	1.5±1.22	0.16±0.57
Extracto	8000	71.54±10.79	18.81±7.64	6±1.9	3.27±1.9	0.72±0.65*
Día 60						
Control	7927.27	70.54±6.54*	21.81±5.6*	5.45±2.54	1.81±0.93	0.36±0.5
Extracto	7850	65.36±11.95	24.54±12.04*	7.18±2.27	2.36±1.5	0.54±0.89
Día 90						
Control	10713.64	63.18±17.18*	30.72±17.7*	5.09±3.94	0.81±0.75	0.09±0.3
Extracto	11665	64.3±18.32	30.9±17.47*	3.5±1.9*	1.3±1.16	0.0±

Los valores se expresan como la media ± E.S.M. $p < 0.05$ y $p > 0.05$ en los demás.

Tabla 3. Valores medios de transaminasas (ALT, AST), urea y creatinina después de 90 días de tratamiento, en los grupos control y con extracto.

GRUPO	AST (U/L)	ALT (U/L)	Urea (mmol/L)	Creatinina (µmol/L)
Control	75.9±23.16	12.2±3.88	5.87±1.61	40.32±8.41
Extracto	82±14.59	14.11±3.91	6.98±1.70	39.26±14.78

Los valores se expresan como la media ± E.S.M. $p > 0.05$ en todos los casos.

El efecto del extracto sobre la función hepática y renal de los ratones, medida a través de los cambios de transaminasas (ALT, AST), de urea y de creatinina aparecen en la tabla 3.

En los valores de química sanguínea no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratado ($p > 0.05$).

El índice de peso de cada órgano dividido por el peso del animal aparece en la tabla 4.

Los índices de peso del corazón, hígado y pulmones del grupo tratado son mayores que los del control ($p < 0.05$). En los otros 10 órganos no hubo diferencias significativas.

Durante los 90 días el peso de los animales tratados no mostró diferencias significativas con respecto al peso ($p > 0.05$ en todos los casos); en el grupo control se presentó un aumento significativo los días 60 y 90 ($p < 0.05$) pero estos valores permanecen aún dentro de los rangos normales de peso, que oscilan entre 25 y 45 g.

Tabla 4. Relación del peso de los órganos versus el peso del animal en los grupos control y con extracto (g/g).

ORGANO	GRUPO CONTROL	GRUPO TRATADO
Bazo	0.0042±0.0011	0.0054±0.0021
Cerebro	0.0115±0.0029	0.0134±0.0037
Corazón*	0.0046±0.0005	0.0056±0.0011
Estómago	0.0114±0.0046	0.0145±0.0044
Hígado*	0.0440±0.0041	0.0502±0.0060
Páncreas	0.0052±0.0021	0.0065±0.0019
Pulmones*	0.0090±0.0018	0.0132±0.0048
Riñon derecho	0.0086±0.0017	0.0090±0.0008
Riñon izquierdo	0.0089±0.0008	0.0080±0.0028
Testículo derecho	0.0045±0.0004	0.0046±0.0010
Testículo izquierdo	0.0050±0.0004	0.0047±0.0012
Útero y ovarios	0.0110±0.0062	0.0108±0.0035
Vejiga	0.0010±0.0002	0.0012±0.0003

Los valores se expresan como la media ± E.S.M. * p < 0.05 y p > 0.05 en los demás.

Tabla 5. Evolución del peso de los ratones en el curso de 90 días de tratamiento en los grupos control y con extracto.

PARÁMETRO	DÍA 0	DÍA 30	DÍA 60	DÍA 90
Peso g				
Control	36.75±3.646	37.66±3.77	40.18±3.40*	41.72±3.71*
Extracto	37.66±5.80	37.81±6.54	37.36±7.08	35.6±7.01

Los valores se expresan como la media ± E.S.M. * p < 0.05; p > 0.05 en los demás.

En el día 87 del tratamiento un macho del grupo tratado presentó estertores, murió el día 89 y a la necropsia se observó distensión gástrica por acumulo de gases; ninguna otra manifestación clínica de importancia apareció durante la inspección diaria en el resto de individuos.

El consumo de alimento fue en promedio de 4.06 g/ratón/día para el grupo control y 3.62 g/ratón/día para el grupo tratado.

En el examen macroscópico durante la necropsia de los animales, siete individuos del grupo control y tres del grupo tratado presentaron pulmones hemorrágicos. No se observó ninguna otra alteración macroscópica de importancia.

Los resultados del estudio histopatológico mostraron congestión pulmonar en nueve individuos del grupo tratado y seis del control; congestión hepática en siete individuos del grupo control y siete del grupo tratado; congestión esplénica en un individuo del grupo

control; congestión renal en cuatro individuos del grupo tratado y tres del control; inflamación intersticial pulmonar en dos individuos del grupo tratado; inflamación intersticial renal en dos individuos del grupo tratado; inflamación renal crónica en dos individuos del grupo control; hígado graso en tres individuos del grupo control y tumefacción celular hepática en dos individuos del grupo tratado. Estos resultados se discriminan así:

Cuatro individuos del grupo tratado presentaron congestión pulmonar, renal y hepática; además uno de ellos presentó inflamación intersticial pulmonar y tumefacción hepática. Dos individuos del grupo tratado presentaron congestión pulmonar y hepática, uno de ellos presentó además inflamación intersticial renal y tumefacción hepática; tres del grupo control presentaron también congestión pulmonar y hepática, dos de ellos tenían además inflamación renal crónica y el otro con hígado graso.

Cuatro individuos presentaron sólo congestión pulmonar, tres del grupo tratado y uno del

grupo control. Congestión hepática, inflamación intersticial pulmonar y renal en un animal del grupo tratado. Las siguientes alteraciones se presentaron en el grupo control: congestión pulmonar y renal en dos animales. Congestión esplénica y hepática e hígado graso en un individuo. Congestión hepática e hígado graso en un individuo. Congestión hepática y renal en un individuo y congestión hepática solamente en un individuo.

El examen histopatológico reporta que estómago, intestinos, páncreas, corazón, testículos, cerebro, vejiga urinaria, útero y ovarios aparecen sin lesiones diagnósticas.

DISCUSIÓN

Varios estudios han demostrado que las complicaciones crónicas de la diabetes, como los trastornos cardiovasculares, neuropatía periférica, daño retiniano y cataratas, pueden disminuirse con tratamientos más agresivos administrando varios hipoglicemiantes con mecanismo de acción diferente, buscando producir niveles de glicemia lo más cercano a los valores normales (12, 15). Por eso es importante la búsqueda de moléculas nuevas que puedan aportar otras interrelaciones moleculares diferentes a las ya conocidas, entre ellas las que se pueden obtener de fuentes naturales, pero un eventual uso debería tener evaluación toxicológica con el fin de valorar su seguridad (1, 28).

Los resultados de la presente investigación toxicológica muestran que la administración oral diaria del extracto de *Zebrina péndula* produce cambios en la glicemia y parámetros hematológicos que se mantienen dentro de los rangos normales. La glicemia disminuyó en ambos grupos, pero estos descensos fueron más intensos en el grupo tratado, lo cual concuerda con hallazgos experimentales anteriores donde se demostró el efecto hipoglicemiante en ratones por el uso crónico de la *Zebrina péndula* (19, 20, 21).

El hematocrito en todas las mediciones realizadas se encuentra un poco por encima del valor normal de referencia, lo cual puede ser atribuido al malestar que se ocasionaba a los animales al suministrarles el extracto y el agua destilada, con la consecuente liberación de corticosteroides que provocan contracción esplénica y aumento leve del hematocrito. Este fenómeno se conoce como *policitemia emocional* (29).

Durante los 90 días del ensayo, si bien hubo variaciones significativas en algunos de los recuentos totales y diferencial de leucocitos, en ningún momento estuvieron por encima o por debajo de los rangos normales; estas variaciones pueden corresponder a un aumento leucocitario fisiológico por estrés, que puede obedecer a causas físicas, emocionales o inducidas por enfermedad; bajo estas circunstancias los cambios en los leucocitos se producen como respuesta a la liberación de corticosteroides, la respuesta típica se caracteriza por una leucocitosis, neutrofilia, linfopenia y eosinopenia y puede también presentarse una monocitosis leve (30).

En los valores de la química sanguínea no se encontraron diferencias significativas entre el grupo control y el tratado, y a pesar de que se hallaron lesiones histológicas en hígado y riñón, los valores de las enzimas fueron normales, pues no hubo lesiones celulares de importancia.

Las diferencias entre índices de peso que se hallaron entre los animales del grupo control y el tratado se deben a que nueve de los animales tratados presentaron congestión pulmonar, contra seis del grupo control. Los pulmones congestionados son más pesados que los normales ya que los capilares y las venas de éstos se encuentran dilatados y llenos de sangre, lo que no ocurre en un pulmón normal (31).

La congestión pulmonar que apareció es probable que se deba al éter usado para la eutanasia, ya que éste produce irritación de las vías aéreas al ser inhalado (32); no es atribuible

al extracto, pues además los animales no mostraron síntomas de enfermedad pulmonar durante los 90 días de tratamiento y apareció en ambos grupos. Además por el orden de sacrificio de los ratones, los animales del grupo control estuvieron menos expuestos al éter.

La congestión hepática observada en los animales aparece como un trastorno inespecífico común en análisis post-mortem y, sin otras lesiones crónicas, no está relacionada con toxicidad química. La tumefacción celular hepática, que sólo apareció en el grupo tratado, es muy probable que sea un efecto directo del extracto. Dado que no se reportaron lesiones celulares hepáticas no son de esperar cambios en las enzimas ALT y AST (31, 33).

La diferencia de peso del hígado se explica porque tres animales del grupo control presentaron degeneración grasa. En esta alteración la presencia de grasa disminuye la gravedad específica del tejido. Los hígados grasos se reconocieron macroscópicamente por ser más grandes, de color más claro, más livianos y friables (31).

Las lesiones inflamatorias intersticiales renales en dos individuos del grupo control y dos individuos del grupo tratado es posible que no sean efectos tóxicos del extracto, sino lesiones

que aparecen con alguna frecuencia en esta especie animal y que algunos autores atribuyen a las proteínas de la dieta (34).

La diferencia de peso entre el grupo control y el tratado posiblemente se deba a un efecto anorexante de la planta; también se ha reportado que una situación estresante intensa o prolongada puede tener efectos negativos como disminución del apetito o en el crecimiento (34, 35); no obstante, ni la anorexia o el estrés produjeron cambios significativos en el peso de ambos grupos, dado que todos permanecieron en sus rangos normales.

Por estudios anteriores de toxicidad aguda y subaguda (21, 36) y por hallazgos de la presente investigación, se puede concluir que la *Zebrina pendula* en dosis altas no produce alteraciones tóxicas en el sistema sanguíneo, y la función renal y hepática no se alteran significativamente; sí produce un porcentaje bajo de alteraciones hepáticas como fue la tumefacción celular. Por tanto se puede concluir que, en nuestras condiciones experimentales, el hígado es el órgano blanco de dosis altas de *Zebrina pendula*. El uso en humanos teniendo en cuenta los resultados de la presente investigación, requeriría precaución o contraindicación en pacientes con antecedentes de enfermedad hepática.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Mundial de la Salud. Pautas generales para las metodologías de investigación y evaluación de la medicina tradicional. World Health Organization (ed). Ginebra 2002. Documento WHO 2000. 1.
2. ZANG X. Traditional Medicine WHO. *Hardard Medicus* (ed) 1996; 39(3): 103.
3. BRUNDTLAND G. Access to essential medicines: a global necessity. In: *Essential drugs monitor*. World Health Organization (ed), Switzerland 2003; 32:12-13.
4. ZULUAGA G. Uso tradicional de las plantas medicinales en Colombia. En: *Simposio de plantas medicinales*. Memorias Universidad Javeriana (ed) 1992; 19-39.
5. MUKHERIEE PK. Quality Control of Herbal Drugs *Business Horizons* (ed). New Delhi. 2002.
6. SÁNCHEZ L, FONSECA G, CAPIRO N, FERNÁNDEZ D. Propuesta de ruta crítica para la evaluación genotóxica de plantas medicinales en Cuba. *Rev cubana de farmacología*, La Habana 2000; 34:34-43.
7. SANABRIA A. Biodiversidad, tradiciones e investigación al servicio de la salud. En: *Memorias del Seminario Internacional Plantas Medicinales y sus Derivados*. Viceministro de Ambiente. Bogotá, Grupo Mercados Verdes (ed). Nov. 20-21 de 2003
8. PALADINI A. ¿Como se descubre o investiga un nuevo medicamento?. *Rev Ciencia Hoy* 1996; 6(24):1-5
9. Expert committee on the Diagnosis and Classifications of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the Diagnosis and Classifications of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003 Jan; 26 Suppl 1:S5-20.
10. American Diabetes Association. Standards of Medical Care for patients with Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26, supplement 1.
11. ROSENSTOCK J. Management of Type 2 Diabetes Mellitus in the Elderley, Special Considerations. *Drugs and Aging* 2001; 18 (1): 31-44.
12. TURNER RC. Glycemic control with diet, sufonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *JAMA* 1999; 281 (21):2005-12.

13. BURLANDO G, SÁNCHEZ R, RAMOS F, MOGENSEN C, ZANCHETTI A. Latin American consensus on diabetes mellitus and hipertensión. *J Hipertensión* 2004; 22: 2229-2241
14. INZUCCHI S. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 diabetes: scientific review. *JAMA* 2002; 287: 360-72.
15. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphomylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998; 352 (9131):837-53.
16. ISAZA CA, ISAZA G, FUENTES J, MARULANDA T (ED). *Fundamentos de farmacología en terapéutica*. 4ª edición. Pereira R. Editorial Postergraph; 2002. pp317-321.
17. DRUCKER DJ. Development of glucagón-like peptide-1-based pharmaceuticals as therapeutic agents for the treatment of diabetes. *Curr Pharm Des* 2001; 14: 1399-412.
18. FLINT A, RABBEN A, ASTRUP A, HOLST JJ. glucagón-like peptide 1 promotes satiety and suppresses energy intake in humans. *J Clin Invest* 1998; 101:515-20.
19. ARANGO MC, DUQUE N, ISAZA G. Efecto de la *Zebrina péndula* en ratones normales y con diabetes experimental. *Manizales. Rev. Universidad de Caldas* ; 1991; 12: 91-94.
20. ARANGO MC, DUQUE N, ISAZA G. Análisis fitoquímico preliminar efecto hipoglicemiante de la *Zebrina péndula* en ratas diabéticas y en conejos normales e hipoglicémicos. *Manizales. Rev. Universidad de Caldas*; 1993; 13: 55-76.
21. GIRALDO U, ARANGO MC, DUQUE N, ISAZA G. Estudio toxicológico de las hojas de *Zebrina péndula*. *Manizales. Rev. Universidad de Caldas*; 1995; 15: 51-57.
22. BIRCHARD SJ, SHERDING MS. *Manual clínico de pequeñas especies*. México. Editorial McGraw Hill Interamericana (ed) 2000. p1631.
23. MRAD A, ROSENCRANY A. *Animales de laboratorio: Estado actual de la ciencia y la tecnología a nivel internacional y en Colombia*. Santafé de Bogotá D.C. *Rev. Colombiana de Ciencias Químicas Farmacéuticas*; 1990; No.18: 7-10.
24. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. CYTED (ed). *Manual de Técnicas de Investigación. Toxicidad subcrónica*. 1995; p 54-57.

25. Derechos Internacionales de los Animales. ONU y UNESCO. Citado el 05-08-2004. Disponible en <http://www3.cricyt.edu.ar/mn/etica.htm>
26. Normas Científicas, Técnicas y Administrativas para la investigación en Salud. Santafé de Bogotá D.C., Resolución No.008430, Ministerio de Salud (ed), División de Desarrollo Científico y Tecnológico. 1993.
27. MRAD A, CARDOZO CA. Utilización de animales de laboratorio en la experimentación biológica. Santafé de Bogotá D.C. Universidad Nacional de Colombia (ed). Instituto de Biotecnología. 2000.
28. BARNES J. Quality, efficacy and safety off complementary medicines: fashions, facts and the future. Part I. Regulation and Quality. Brith J Clin Pharmacol 2003; 55:226-233.
29. GUTIERREZ F, GONZÁLEZ C. Fisiología aplicada a la veterinaria y zootécnia. Manizales: Centro editorial Universidad de Caldas (ed) 1998, p22.
30. CEBALLOS A. Generalidades sobre hematología. Manizales. Centro editorial Universidad de Caldas (ed) 2000, p. 24-30.
31. THOMAS CJ, UNCAN HR. Patología Veterinaria. Buenos Aires: editorial Hemisferio Sur (ed) 1990; 1:169, 361-367.
32. CLOSE B, BANISTER K, BAUMANS V. Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. Laboratory Animals 1997; 31:1-32.
33. WITTWER F, BOHMWALD H. Manual de Patología Clínica Veterinaria. Valdivia, República de Chile (ed). Universidad Austral de Chile (ed). 1986.
34. ZUÑIGA J, TUR M, MILOCCO S, PIÑERO R. Ciencia y tecnología en protección y experimentación animal. McGraw Hill-Interamericana (ed) 2001; pp84, 486.
35. FUENTES YM. Peso de los órganos en relación al peso corporal en ratones. Influencia en las variables edad sexo y su combinación. Venezuela. Rev. Universidad Centro-Occidente Lisandro Alvarado 2000.
36. CHICA LF, LÓPEZ R. Determinación de la toxicidad subaguda de la *Zebrina péndula* en ratas. Tesis de grado en Medicina Veterinaria y Zootécnia. Universidad de Caldas. Programa de Medicina Veterinaria y Zootécnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias. Manizales. Colombia 2004.