



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**Efecto del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina*
y cinaguaiacina sobre los parámetros
bioquímicos y biomarcadores de estrés oxidativo
en ratas Wistar**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

MARTHA MANZANO ZAMORANO

ASESORA:

Dra. ROSA ISABEL HIGUERA PIEDRAHITA

COASESORA:

Dra. PATRICIA RAMÍREZ NOGUERA

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2024



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos

Al proyecto PAPIIT IA204822: "Evaluación del efecto tóxico del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y cinaguaiacina sobre los parámetros bioquímicos en sangre y alteraciones anatomopatológicas en ratas Wistar después de su administración por vía oral", que financió esta investigación.

Al laboratorio 9 por su apoyo en el proceso de las muestras, análisis de resultados.

Dedicatorias

Dedico este trabajo a mis papás, les agradezco infinitamente que aunque muchas veces no estaban de acuerdo en mis decisiones, carácter y forma de ser, jamás dejaron de apoyarme y creer en mí, siempre dispuestos a guiarme con paciencia y amor.

A mis hermanos, por siempre escucharme, pero principalmente gracias a Quique por siempre apoyarme, por dejarse lazar para mis clases de exterior y manejo, por despertarme para estudiar justo cuando se lo pedía, aunque no me levantara, por apagarme la luz y taparme cuando me quedaba haciendo trabajos hasta tarde. Este trabajo también es para ti, gracias tonto.

A Cacharro, ese gatito que se fue hace ya tiempo, pero encontrarlo tan pequeño y enfermo, tener que llevarlo muchas veces al veterinario, fue un factor muy importante para que yo decidiera estudiar esta hermosa profesión.

Para Alberto, por todo su apoyo, comprensión, palabras de aliento y amor durante todo este proceso, fuiste un motor muy importante.

También le quiero dedicar este trabajo a la Dra. Rosa Isabel Higuera, quien ha sido una fuente de inspiración, apoyo incondicional y paciencia. Que me conocía y sabía que tenía que meterme presión para que me apurará.

A mi, que me costó mucho trabajo reconocirme y aprender que soy la principal persona que debe de estar orgullosa de sus propios logros, esfuerzo y dedicación.

Contenido

Resumen	9
Introducción	11
Usos de la familia, quienes conforman a la familia y usos tradicionales	11
Artemisia cina	13
Usos en medicina tradicional	14
Artemisia cina como antihelmíntico	17
Estudio de toxicidad	18
OECD 420 (2001)	20
Parámetros bioquímicos	21
Evaluaciones de parámetros relacionados al estrés oxidativo	26
Estrés oxidativo	26
Proteínas	27
Glutación (GSH)	27
TBARS	28
Justificación	30
Objetivos	31
Objetivos específicos	31
Metodología	32
Localización	32
Elaboración del extracto a partir de materia vegetal	32
Aislamiento e identificación de 3'-demetoxi-6-O-demetilisoguaiacina y norisoguaiacina del extracto <i>n</i> -hexánico de <i>A. cina</i>	32
Diseño experimental	33
Tratamiento de ratas Wistar con extracto <i>n</i> -hexánico y cinaguaiacina de <i>A. cina</i>	33
Evaluación de parámetros bioquímicos en la sangre	35
Evaluación de parámetros relacionados al estrés oxidativo	35
Cuantificación de glutación (GSH)	36
Cuantificación de TBARS	36
Análisis estadístico	36
Cuidado y uso de los animales	37
Biomarcadores de estrés oxidativo	39
Discusión	45
Conclusiones	48

Perspectivas	48
Bibliografía.....	49

Contenido de tablas

Tabla 1. Estructuras químicas de algunas de las moléculas reportadas del género <i>Artemisia</i>	14
Tabla 2 . Analitos e interpretación de una bioquímica sanguínea.....	22
Tabla 3. Tratamientos de las ratas Wistar con extracto n-hexánico y cinaguaiacina obtenidas a partir de <i>Artemisia cina</i>	33
Tabla 4. Resultados de bioquímica sanguínea de las ratas tratadas con extracto <i>n</i> -hexánico de <i>A. cina</i> y cinaguaiacina.....	38

Contenido de figuras

Figura 1. Imagen de la planta <i>Artemisia cina</i>	14
Figura 2. Estructura química de A 3'-demetoxi-6- O -desmetilisoguaiacina y B Norisoguaiacina	18
Figura 3. Vía del glutatión en la célula.	28
Figura 4. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutatión (GSH) B en cerebro de ratas Wistar tratadas con extracto <i>n</i> -hexano de <i>Artemisia cina</i> y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanos) tratadas por vía oral.....	41
Figura 5. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutatión (GSH) B en hígado de ratas Wistar tratadas con extracto <i>n</i> -hexano de <i>Artemisia cina</i> y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanos) tratadas por vía oral.....	42
Figura 6. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutatión (GSH) B en pulmón de ratas Wistar tratadas con extracto <i>n</i> -hexano de <i>Artemisia cina</i> y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanos) tratadas por vía oral.....	43
Figura 7. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutatión (GSH) B en riñón de ratas Wistar tratadas con extracto <i>n</i> -hexano de <i>Artemisia cina</i> y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanos) tratadas por vía oral.	44

Anexos

Anexo 1. Oficio FESC/CICUAE	54
Anexo 2. Principales plantas de la familia Asteraceae con posible actividad hipoglucemiante en México.	55
Anexo 3. Ensayos disponibles en la OECD para la evaluación de toxicidad de fármacos...	57

Resumen

Actualmente las plantas se han convertido en una alternativa sustentable para el tratamiento de afecciones parasitarias o antibacterianas que posean multi-resistencia y se pueden utilizar en sistemas orgánicos con mínimos residuos en leche y carne. En este sentido, las plantas de la familia *Asteraceae* han demostrado tener efecto potencial antiparasitario sobre endoparásitos, ectoparásitos y hemoparásitos. Las especies de *Artemisia* son muy importantes debido a su uso como medicinas, forrajes y alimentos. Las diferentes especies de este género han sido utilizadas desde la antigüedad en la medicina tradicional para tratar diversos malestares y enfermedades como la malaria, el cáncer, la inflamación, infecciones por hongos, bacterias y virus, así como actuar de forma antipirética y analgésica. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y el principio activo cinaguaiacina sobre los parámetros bioquímicos y biomarcadores de estrés oxidativo en ratas Wistar. Para llevar a cabo este trabajo se realizaron dos etapas importantes, la primera, se realizó el extracto *n*-hexánico de *A. cina* y se obtuvo la cinaguaiacina a través de métodos cromatográficos según lo describió Higuera-Piedrahita, (2021). En la segunda etapa el tratamiento se administró por vía oral siguiendo las guías de evaluación de toxicidad oral aguda de la OECD (Guía para pruebas de productos químicos). Cincuenta ratas Wistar se distribuyeron aleatoriamente en diez grupos de la siguiente manera: A cuatro grupos se les administró extracto *n*-hexano oral de *A. cina*, a los siguientes cuatro grupos se les administró los lignanos: cinaguaiacina y por último se utilizaron dos grupos controles con agua destilada y polivinilpirrolidona respectivamente. Se observaron las ratas después del tratamiento cada cuatro horas durante 14 días. Se documentaron los cambios de comportamiento y se realizó el porcentaje de mortalidad. A los 14 días las ratas fueron sacrificadas y se tomó muestra de sangre intracardiaca, hígado, cerebro, riñón y pulmón para análisis bioquímicos y evaluación de TBARS y GSH. Dentro de los resultados encontrados se determinó que la glucosa se elevó en todos los grupos y el tratamiento con extracto mostró alteraciones en el colesterol y el fósforo. Los valores de GSH con 20 y 120 mg/Kg de lignanos aumentaron y el mismo comportamiento se observó en el grupo de cerebro TBARS. En hígado, la actividad de GSH aumentó mientras que las dosis aumentaron en el tratamiento con lignanos, además, la actividad de TBARS fue mayor en los grupos tratados con 4 y 40 mg/Kg de extracto de *n*-hexano. La actividad de GSH en

el pulmón demostró una actividad similar entre los tratamientos con extracto; sin embargo, las ratas tratadas con lignanos demostraron una actividad reducida. En cuanto a TBARS se encontró un incremento en lignanos y K30. Con respecto a los resultados obtenidos en el riñón se puede observar una homogeneidad en la mayoría de las dosificaciones. En conclusión el extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y los lignanos denominados cinaguaiacina no mostraron alteraciones relevantes en los parámetros bioquímicos en sangre de ratas postratamiento.

Introducción

Familia *Asteraceae*

Usos de la familia, quienes conforman a la familia y usos tradicionales

Actualmente las plantas se han convertido en una alternativa sustentable para el tratamiento de afecciones parasitarias o antibacterianas que posean multi-resistencia, así mismo, se utilizan como alternativas a sistemas que están certificados como libres de uso de antibióticos o antihelmínticos (Kamaraj et al., 2022). Las plantas de la familia *Asteraceae* han demostrado tener efecto antiparasitario sobre endo, ecto y hemoparásitos (Akhtar et al., 2000).

La familia *Asteraceae* o *Compositae* ha sido objeto de estudio en las últimas décadas, por lo que cuenta con un gran acervo bibliográfico de investigaciones en cuanto a su riqueza florística (Villaseñor, 2018). México registra 26 tribus, 417 géneros y 3,113 especies de *Asteraceae*, de las cuales 3,050 son especies nativas y 1,988 son endémicas del territorio nacional. Son 31 los géneros que no cuentan con revisión taxonómica o con la suficiente información para determinar sus especies, cabe mencionar que también es necesaria la actualización de la información taxonómica para las nuevas especies descritas o realizar los cambios pertinentes de sus especies (Villaseñor, 2018).

La familia *Asteraceae* está compuesta por plantas herbáceas, arbóreas, trepadoras o rastreras, aromáticas, con hojas simples o ausentes, flores múltiples pero escasas, morfológicamente radiados, discoideos, tubulosas o liguladas. Tienen frutos envueltos y semillas oleaginosas (Angulo, 2019). Dentro de esta amplia familia, están las que se utilizan con actividad alimenticia, medicinal, ornamental e industrial, otras se consideran malezas y/o plantas tóxicas (Angulo, 2019). Gracias a su evolución ha sido capaz de desarrollar diversos mecanismos de defensa, propiciando la producción de diferentes metabolitos como ácidos clorogénicos, isoflavonoides, lactonas sesquiterpénicas, alcoholes triterpénicos pentacíclicos, aceites esenciales, alcaloides, glúcidos y diversos derivados acetilénicos (Angulo, 2019).

Las plantas utilizadas en la industria alimentaria son principalmente las oleaginosas como el cártamo, caléndula, *Heliantus*, *Matricaria*, *Artemisia* y el girasol, este último

se utilizan las semillas y el aceite, en la medicina popular para el asma (Angulo, 2019). Dentro de los ejemplos relevantes se encuentra la planta *Stevia rebaudiana* la cual es usada como edulcorante, de ella se obtiene un glicósido diterpénico, poco tóxico y no calórico. Por otro lado, la *Artemisia absinthium L* y *Centaurea benedicta L*, son utilizadas en la industria licorera para preparar *vermouth* (vino macerado en hierbas) se obtiene para adquirir una considerable concentración de lactonas sesquiterpénicas, las cuales se usan en la industria farmacéutica y como eupépticos (Angulo, 2019).

En la literatura, las plantas que pertenecen a la familia *Asteraceae* presentan clasificaciones de acuerdo con su uso como lo son los insecticidas, especias, ornamentales, forestales, especies restauradoras de suelos, forrajeras, malezas de cultivos, entre otras. Sin embargo, uno de los usos más importantes de la familia de las *Asteraceae*, es su uso farmacológico dependiendo de sus propiedades biológicas: por ejemplo, antibacteriano, antihelmíntico, anticanceroso; como ejemplo de lo anterior está la planta *Matricaria recutita* conocida de forma coloquial como manzanilla, la cual es utilizada ampliamente por sus propiedades digestivas, hepáticas, sedativas, emolientes, antitusivas, entre otras (Angulo, 2019; Villaseñor, 2018).

Entre los medicamentos a base de hierbas, los que contienen extractos de *Asteraceae* (*Compositae*), como *Echinacea spp.*, *Árnica montana*, *Matricaria recutita* y *Caléndula officinalis*, son especialmente populares en el entorno de atención primaria siendo utilizadas como infusiones, emplastos, extractos e incluso como compuestos homeopáticos (Lans et al., 2007). Además, la familia *Asteraceae* es una de las más amplias y utilizadas por la medicina tradicional a través del conocimiento empírico, en este sentido, mucha de la información sobre su naturaleza y beneficios es empírico (Hernández, 2022). Por otro lado, los estudios etno-farmacológicos indican que se utilizan más de 300 plantas para tratar la diabetes, algunas de ellas han reportado fitoquímicos que retienen la capacidad regenerativa de las células beta pancreáticas, la secreción de insulina y contra el problema de la resistencia a la insulina (Hernández, 2022).

La diabetes representa un problema especialmente alto en las poblaciones rurales que carecen de acceso a los servicios de salud en México, por lo cual, las plantas

juegan un papel fundamental en la forma en que la población trata la diabetes mellitus, indicando la relevancia de seguir investigándolas para seguir aportando principios activos para el desarrollo de nuevos fármacos (Hernández, 2022). Los posibles usos de las plantas de la familia Asteraceae se observan en el Anexo 2.

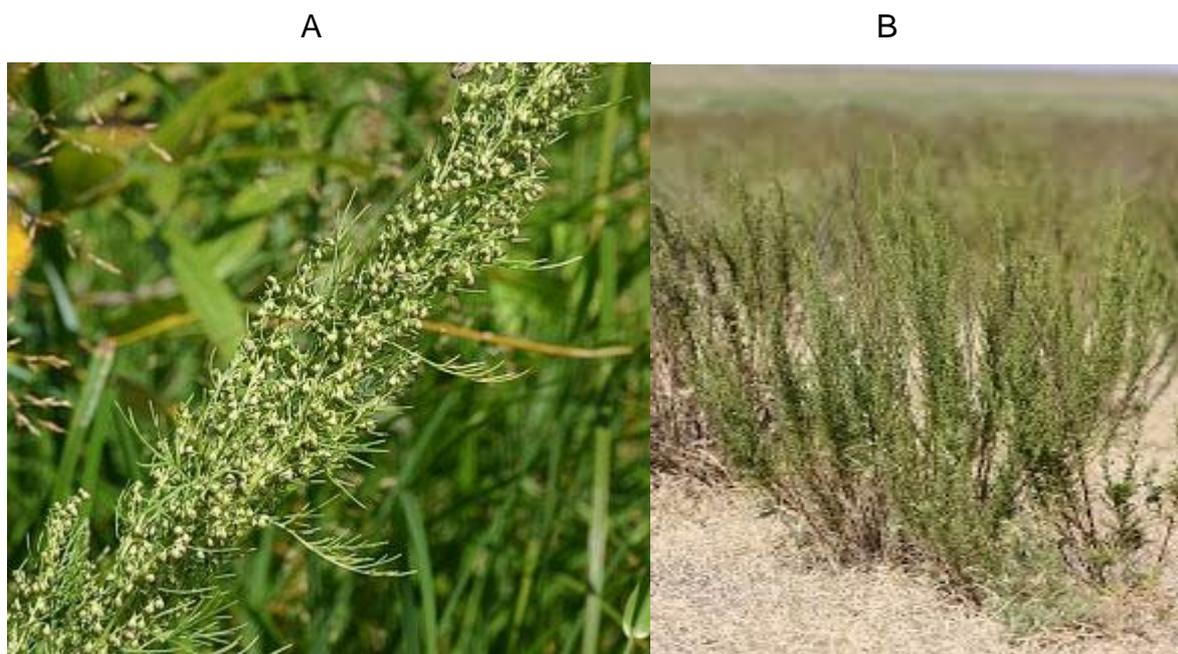
Numerosos estudios se han realizado utilizando terapias alternativas, dentro de ellas el uso de plantas en diferentes presentaciones como tabletas, jarabes, infusiones, cremas, las cuales se han propuesto como herramientas preventivas o coadyuvantes en el proceso curativo (Martínez, 2014). La evaluación de prescripciones y reacciones adversas es importante para determinar la cantidad de consumo de dichas plantas sea como planta completa o a través de extractos e incluso como metabolitos puros (Martínez, 2014). Las reacciones adversas que más se reportado se consideran leves, por lo cual el uso de remedios a base de plantas de la familia *Asteraceae* en general, no está asociado a riesgos altos de reacciones adversas (Jeschke et al., 2009).

Artemisia cina

Artemisia pertenece a la familia *Asteraceae*, la cual está conformada por numerosos géneros de plantas, alrededor de 200 a 400 especies que se localizan principalmente en zonas de Asia, Europa y Norte-América. *Artemisia cina* (Figura 1) es un arbusto de la familia *Asteraceae*, crece en el este del mar Caspio en Afganistán, con olor aromático, tallos erectos y algodonosos; las hojas son pequeñas, peciolo cortos y sésiles en las hojas superiores (Zhang et al., 2019). Es conocida popularmente como cina o ajeno marino y se ha utilizado en la medicina tradicional como antiparasitario en humanos e incluso para el control de malaria en soldados en la antigua China. *Artemisia cina* posee la siguiente clasificación taxonómica como lo describe Zhang et al. (2019):

Reino: Plantae
Subreino: Tracheobionta
División: Angiospermae
Clase: Magnoliopsida
Orden: Asterales
Familia: Asteraceae
Género: *Artemisia*

Figura 1. Imagen de la planta *Artemisia cina*



A Tallos erectos, hojas pequeñas. B arbusto *Artemisia cina*

Tomado de: Fotografía de naturaleza Montarano (s.f).

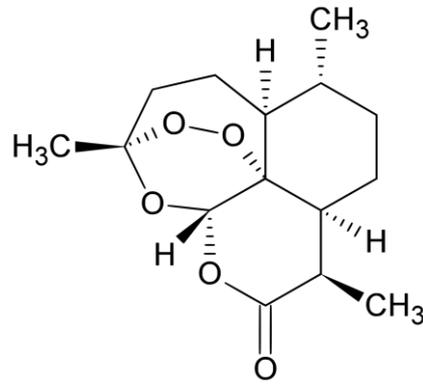
Usos en medicina tradicional

Algunas sustancias biológicamente activas aisladas de plantas pertenecientes al género *Artemisia* son la artemisinina, la guaianolida, la capilarisina, la fisetina y la quercetina; las estructuras químicas se muestran en la Tabla 1. (Sakipova et al., 2020).

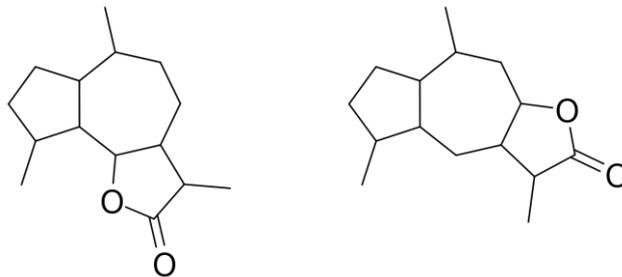
Tabla 1. Estructuras químicas de algunas de las moléculas reportadas del género *Artemisia*

Nombre	Molécula
---------------	-----------------

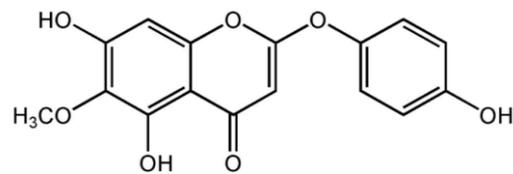
Artemisinina



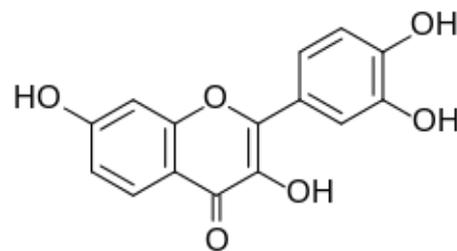
Guaianolida



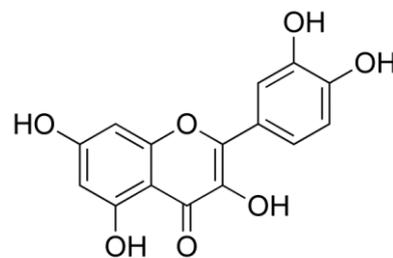
Capilarisina



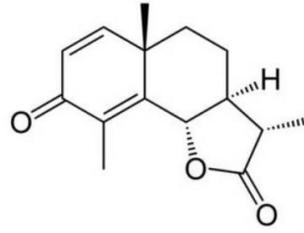
Fisetina



Quercetina



Santonina



Adaptado de (Sakipova et al., 2020)

Las especies de *Artemisia* son muy importantes debido a su importancia económica como medicinas, forrajes y alimentos. Las diferentes especies de este género han sido y son utilizadas desde la antigüedad en la medicina tradicional para tratar diversos malestares y enfermedades como la malaria, el cáncer, la inflamación, infecciones por hongos, bacterias y virus, así como antipirética y analgésica (Irum et al., 2015). Según Montes, (2015) el taxón *Artemisia* se ha utilizado como antirreumático, favorable en enfermedades oftálmicas, cutáneas, urinarias, alopecia, indigestión, cólicos estomacales, hemorragias, úlceras y gastritis, así mismo, se le ha demostrado capacidad para estimular el sistema nervioso, inducir el sueño, reducir dolores postparto e inducción de la posición cefálica en nacimientos. En los años 1950 y 1970 se utilizaban formulaciones de plantas con base en *Artemisia cina* para desparasitar niños utilizando como ingrediente activo la santonina (Zhang et al., 2019). Otros derivados de *A. cina* notificados por de Ridder et al., (2008) identificaron la presencia del compuesto artemisinina en las hojas, atribuyéndose a este el efecto antimalárico y posteriormente se descubrió el anillo endoperóxido que posee este sesquiterpeno que induce la actividad antimalárica (Zhang et al., 2019).

Un estudio en el cual se utilizaron diferentes extractos de plantas, las cuales fueron seleccionadas previamente de acuerdo con reportes de sus diferentes actividades biológicas. De los extractos probados, la santonina obtenida de la flor de *A. cina* mostró actividades contra virus de la influenza humana y aviar, la cual podría atacar el virus de la influenza con un efecto viricida, el cual posee unión al receptor del huésped e inhibición de la replicación (Hegazy, 2022). Se comprobó el efecto bactericida de *A. cina* utilizando acetato de etilo a diferentes concentraciones, posteriormente se aplicaron sobre discos de papel estériles sobre placas de agar

previamente sembradas con *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*, como control positivo y negativo utilizando estreptomicina y acetato de etilo al 100% (Kasmiyati, 2021). Se demostró que el extracto de acetato de etilo de *A. cina* de ambos genotipos (diploide y poliploide) mostró inhibición contra las bacterias Gram-positivas probadas (*Bacillus subtilis* y *Staphylococcus aureus*) y que los extractos de todos los genotipos probados de *A. cina* inhiben *B. subtilis* máximo a una concentración de 50 mg/L (Kasmiyati, 2021). Por otro lado, en cuanto a su uso en el control de parásitos, Higuera (2022) evaluó un extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* como tratamiento antihelmíntico contra los nematodos *Haemonchus contortus* y *Teladorsagia circumcincta* en cabras periparto, en el cual se registró un importante efecto contra los estadios adultos de *H. contortus*.

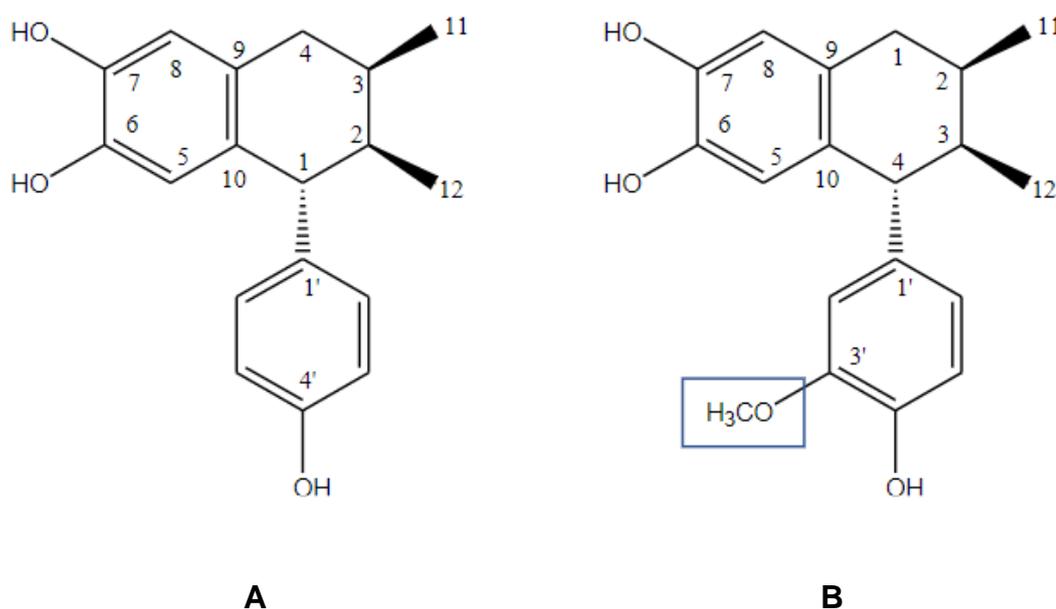
***Artemisia cina* como antihelmíntico**

Higuera-Piedrahita (2016) demostraron el efecto antihelmíntico de *A. cina* en infecciones naturales e inducidas de *H. contortus* en ovinos, utilizando extractos hidroalcohólicos y etanólicos donde se observó reducción de la infección parasitaria de 7 a 14 días post tratamiento, utilizando la vía oral en corderos natural y artificialmente infectados. González-Torres (2019) en cuanto a su uso en el control de parásitos mostró un posible efecto antihelmíntico sobre *Meriones unguiculatus* infectados con *H. contortus* utilizando las fracciones obtenidas a partir del extracto etanólico de *A. cina* en donde se determinó que el grupo de animales tratados con la fracción *n*-hexánica de *A. cina* redujo en un 95.4% los estadios endoparásitos de *H. contortus*. Higuera-Piedrahita, (2021) determinaron la composición parcial de una mezcla de compuestos obtenidos a partir del extracto *n*-hexánico de *A. cina*, dichos compuestos se obtuvieron mediante una separación por medio de cromatografía al vacío en columna, los cuales poseen actividad antihelmíntica contra huevos, larvas infectantes (L3), larvas hematófagas y adultos de *H. contortus in vitro*. Esta mezcla contiene los lignanos 3'-demetoxi-6- O -desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina en proporción del 60% y 40%, con efecto antihelmíntico sobre *H. contortus* a los cuales se les denomina en conjunto como cinaguaiacina (Higuera-Piedrahita, 2022). Esta combinación de moléculas no ha sido reportada en la literatura respecto a sus efectos relacionados a los cambios en los analitos en la sangre de los pacientes tratados o en parámetros relacionados al estrés oxidativo a nivel celular, por lo cual, se hace

necesaria la evaluación de estos compuestos cuando se desafían al metabolismo *in vivo* (Higuera-Piedrahita, 2023).

Uno de los lignanos obtenidos por Higuera-Piedrahita, (2023) fue reportado con efecto antibacteriano en el año 1989 (Konno, 1989). 3'-demetoxi-6- O -desmetilisoguaiacina ha sido reportado con actividad elevada sobre *S. aureus* (Favela, 2015). La actividad está relacionada a la alteración metabólica de los procesos en la bacteria (Favela, 2015). El otro lignano que compone la mezcla se denomina norisoguaiacina el cual posee inhibición sobre enzimas relacionadas a la función de la mitocondria (Pardini, 1973). Higuera-Piedrahita, (2021) probó dichos compuestos sobre fases de vida libre de *H. contortus* y se plantean como posibles antihelmínticos, aunque dicha actividad no ha sido reportada por otros autores, por lo que el mecanismo de acción es aún desconocido. La estructura propuesta se muestra en la figura 2.

Figura 2. Estructura química de A 3'-demetoxi-6- O -desmetilisoguaiacina y B Norisoguaiacina



Tomado de: Higuera-Piedrahita, 2020

Estudio de toxicidad

De acuerdo con Roldan (2016) un tóxico es toda radiación física o agente que, tras generarse internamente, entrar en contacto, penetrar o ser absorbido por un organismo vivo, en dosis lo suficientemente alta, puede producir un efecto adverso

directo o indirecto en el mismo, de forma tal, que en los últimos años y debido al renovado interés en las plantas medicinales, algunas de ellas han sido objeto de investigación, pero sus reportes son escasos; gran parte de los estudios realizados tienen como objeto demostrar alguna actividad biológica y/o aislar los compuestos responsables de dicha actividad. A pesar de que, por tradición popular, los individuos de las distintas comunidades han descartado aquellas plantas detectadas como tóxicas, la evaluación científica de su toxicidad es crucial para establecer una relación riesgo-beneficio mínima (Gorzalczany, 1999). Sin embargo, la información existente acerca de la toxicidad de muchas de las plantas actualmente usadas como medicinales es muy poca, por lo que estudios de toxicidad aguda y crónica en animales de experimentación se hacen imprescindibles al momento de evaluar su utilización en terapéutica (Gorzalczany, 1999).

El descubrimiento de un alto porcentaje de fármacos de origen vegetal es resultado del estudio científico de plantas bien conocidas y empleadas en la medicina tradicional (Berenguer, 2013). No obstante, se debe tener en cuenta que ciertas plantas medicinales no han mostrado las propiedades que les atribuye la experiencia popular, e incluso algunas han resultado peligrosas. De ahí la necesidad de realizar estudios farmacológicos y toxicológicos, estos últimos son los que cumplen la finalidad de determinar la seguridad de su uso. Los exámenes hematológicos y 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 (Berenguer, 2013).

En el mercado existe un gran número de nuevos productos naturales y aunque muchos de estos han contribuido a mejorar la calidad de vida, otros están relacionados con determinados riesgos por su toxicidad. Por esta razón, se recomienda que la aplicación de las plantas medicinales tradicionales se efectúe sobre una base científica que valide la efectividad terapéutica y la relativa inocuidad de estas (Berenguer, 2013).

OECD 420 (2001)

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE, 2023) es una organización internacional cuya misión es diseñar mejores políticas que favorezcan la prosperidad, la igualdad, las oportunidades y el bienestar para todas las personas. Trabaja en colaboración con gobiernos, responsables de políticas públicas y ciudadanos para establecer estándares internacionales y proponer soluciones basadas en datos empíricos a diversos retos sociales, económicos y medioambientales.

Antiguamente, los métodos tradicionales para evaluar la toxicidad aguda utilizaban la muerte de los animales como criterio de valoración. Actualmente, dichos criterios se basan en la observación de signos claros de toxicidad en una serie de niveles de dosis fijos (OECD, 2001). Los estudios *in vivo* han demostrado que el procedimiento es reproducible, se utilizan menos animales, causa menos sufrimiento que los métodos tradicionales y es capaz de clasificar las sustancias de manera similar a otros métodos de prueba de toxicidad aguda (OECD, 2001).

En un principio en el método de estudio solo se utilizan dosis moderadamente tóxicas, y se debe evitar la administración de dosis que se espera que sean letales. Además, no es necesario administrar dosis que se sabe que causan dolor y angustia marcados, debido a acciones corrosivas o irritantes severos (Gorzalczany, 1999). Los animales moribundos, con dolor evidente o que muestren signos de angustia grave y duradera, se sacrificarán y se considerarán en la interpretación de los resultados de la prueba de la misma manera que los animales que murieron en la prueba (Gorzalczany, 1999). El nivel de dosis inicial se selecciona con base en un estudio de avistamiento como la dosis que se espera que produzca algunos signos de toxicidad sin causar efectos tóxicos graves o incluso mortales (Berenguer, 2013). Normalmente se utiliza un total de cinco animales para cada nivel de dosis investigado. El intervalo de tiempo entre la dosificación en cada nivel está determinado por el inicio, la duración y la gravedad de los signos tóxicos (Berenguer, 2013). Los animales se observan individualmente después de la dosificación al menos una vez durante los primeros 30 minutos y de forma periódica durante las primeras 24 horas, con especial atención durante las primeras 4 horas, y diariamente a partir de entonces, durante un total de 14 días. Es

necesario realizar observaciones adicionales si los animales continúan mostrando signos de toxicidad (Genovese & Newman, 2008). Las observaciones deben incluir cambios en la piel y el pelaje, los ojos y las membranas mucosas, sistema respiratorio, circulatorio, nervioso autónomo y nervioso central, así como la actividad motora y el patrón de comportamiento (Genovese & Newman, 2008). Se debe prestar atención a la presencia de temblores, convulsiones, salivación, diarrea, letargo, sueño y coma. Los animales que se encuentren en un estado moribundo, que muestren un dolor intenso o signos duraderos de angustia grave deben sacrificarse (Genovese & Newman, 2008).

Actualmente, dentro de la categoría de “Seguridad Química y Bioseguridad”, la OECD ha hecho diferentes divisiones temáticas, con el fin de garantizar la seguridad química y las buenas prácticas de laboratorio. Dentro de estas divisiones temáticas se encuentran: pruebas de productos químicos, asesoría en el manejo de productos químicos, prevención de accidentes químicos, liberación de contaminantes, seguridad de nanomateriales, pesticidas y biocidas usados en la agricultura y bioseguridad. De acuerdo con las necesidades del experimento y los reportes encontrados a las moléculas se sugiere el uso de la guía 420 (Castro, 2019). El catálogo de guías para ensayos de sustancias químicas de la OECD consta, hasta el 2017, de sesenta y siete guías aprobadas y actualizadas. Cuarenta y cuatro de estas guías se desarrollan *in vivo*, veintidós *in vitro* y uno *in chemico*, éstas se describen en el Anexo 3 (Castro, 2019).

Parámetros bioquímicos

La bioquímica clínica es una disciplina que se encuentra en el área de la medicina que consiste en tomar una muestra de sangre de un individuo y comprende en el estudio metabólico y molecular en relación con los cambios fisiológicos, patológicos o inducidos por alguna terapia administrada. Para dicho estudio se utilizan diferentes métodos y técnicas de la química y bioquímica analítica con el objetivo de obtener la información necesaria para diagnosticar dar seguimiento a alguna enfermedad o pronosticarla (Ríos, 2019). Los parámetros evaluados más comúnmente se observan en la tabla 2.

Tabla 2 . Analitos e interpretación de una bioquímica sanguínea.

Prueba	¿Dónde se encuentra?	Interpretación	
		Rango alto	Rango bajo
Albúmina	Proteína sintetizada en hígado	<p>Hipoalbuminemia</p> <ul style="list-style-type: none"> - Deshidratación 	<p>Hipoalbuminemia</p> <ul style="list-style-type: none"> - Hipo producción - Malabsorción intestinal - Mal digestión (IPE) - Desnutrición: parasitaria / dietética - Hepatopatía crónica - Pérdidas <ul style="list-style-type: none"> - Insuficiencia renal - Hemorragia externa - Enteropatía perdedora de proteínas
Amilasa	Páncreas	<ul style="list-style-type: none"> - Enfermedad pancreática: inflamación aguda, neoplasias, necrosis, obstrucción del conducto pancreático. - Enfermedad intestinal - Enfermedad hepática 	Sin relevancia médica
Bilirrubina total	Hígado	<ul style="list-style-type: none"> - Anemia hemolítica - Enfermedad hepática y obstrucción extrahepática 	- Sin relevancia médica
Colesterol	Proviene principalmente de los	<ul style="list-style-type: none"> - Hipotiroidismo - Diabetes mellitus - Hiperadrenocorticism 	<ul style="list-style-type: none"> - Enteropatía perdedora de proteínas - Hepatopatías graves

	hepatocitos, sin embargo, también de células de la mucosa intestinal, gónadas y glándulas adrenales	o - Enfermedad hepática por colestasis - Síndrome nefrótico - Pancreatitis	- Desnutrición grave
Creatinina	Metabolito generado en los músculos a partir de la fosfocreatina	- Insuficiencia renal - Incremento de la actividad muscular - Hipertiroidismo	- Insuficiencia hepática - Dieta hipoprotéica - Masa muscular reducida (falsa reducción de la creatinina por caquexia pronunciada asociada a un incremento del metabolismo proteico)
Urea	Producto terminal del metabolismo de las proteínas y sintetizado en el hígado a partir del amonio	- Insuficiencia renal - Deshidratación o hipovolemia (shock, fallo cardiaco, hemorragia, pancreatitis) - Hipoadrenocorticismos.	- Dieta hipoproteica (anorexia prolongada, malabsorción) Insuficiencia hepática crónica
Creatinina	Músculo	- Procesos que cursan con rotura de fibras musculares	- Sin relevancia médica

		<ul style="list-style-type: none"> - Miositis: enfermedades infecciosas - Miocarditis e infarto de miocardio - Medicación con tetraciclina, penicilina, diazepam - Hemólisis. 	
Alanina aminotransferasa	Hígado	<ul style="list-style-type: none"> - Alteración de la permeabilidad de la membrana de los hepatocitos - Ligeras elevaciones en trastornos gastrointestinales, enfermedades metabólicas - Terapia prolongada con anticonvulsivantes y corticosteroides en el perro. - Anoxia (anemia) 	<ul style="list-style-type: none"> - Sin relevancia médica
Fosfatasa alcalina	Riñón	<ul style="list-style-type: none"> - Normal en animales jóvenes en crecimiento - Síndrome de Cushing - Fármacos (glucocorticoides, fenobarbital) - Osteopatía: 	<ul style="list-style-type: none"> - Malnutrición - Hipotiroidismo - Deficiencia de zinc y/o magnesio

		osteosarcoma, osteomielitis	
Globulinas	Proteína sintetizada en hígado y tejidos linfoides	<ul style="list-style-type: none"> - Infecciosas: bacterianas (pioderma, procesos crónicos), virales (PIF), parasitarias (filariosis, demodicosis, escabiosis), leishmania, ehrlichia, micosis sistémicas - Enfermedad inmunomediada: por complejos inmunes (infecciones), glomerulonefritis, anemia hemolítica y trombocitopenia autoinmune, poliartritis, pénfigo, artritis reumatoide. - Neoplasia. 	<ul style="list-style-type: none"> - Hemorragia, enteropatía perdedora de proteínas, nefropatía con pérdida de proteínas, inmunodeficiencia combinada
Glucosa	Sangre	<ul style="list-style-type: none"> - Diabetes mellitus - Hiperadrenocorticism o - Pancreatitis aguda, neoplasias páncreas exocrino iatrogénica: glucocorticoides - Exceso de progesterona 	<ul style="list-style-type: none"> - Hiperinsulinismo (iatrogénico, insulinoma...) - Insuficiencia hepática - Hipoadrenocorticism o. - Malnutrición, malabsorción, diarrea, vómito graves. - Septicemia

		(gestación,diestro) - Insuficiencia renal	
Proteínas totales	Hígado	- Hiperalbuminemia - Hiperglobulinemia - Artificios: lipemia, hemólisis, hiperbilirrubinemia, hiperglucemia - Fármacos: esteroides anabólicos, corticoides, progesterona, insulina	- Hipoalbuminemia - Hipoglobulinemia - Fármacos: estrógenos, anticonvulsivos, antineoplásicos
Calcio	El calcio es un catión que predomina en el extracelular en forma libre y unida a proteínas u otros componentes	- Hiperparatiroidismo primario, - Neoplasias óseas (mieloma múltiple, linfoma). - Enfermedad de Addison.	- Hipoalbuminemia. - Falla renal crónica. - Hipoparatiroidismo primario. - Intoxicación con etilén glicol.

Adaptado de Ríos, 2019

Evaluaciones de parámetros relacionados al estrés oxidativo

Estrés oxidativo

Actualmente el estrés oxidativo es considerado como un desequilibrio bioquímico favorecido por la producción excesiva de especies oxidantes que provoca daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes. Así, el concepto de estrés oxidativo como desequilibrio implica que en condiciones fisiológicas normales debería existir un equilibrio o una situación de casi equilibrio, entre oxidantes y antioxidantes (Rodríguez, 2013). Otra definición es que

el estrés oxidativo es un estado de la célula en la cual se encuentra alterada la homeostasis de óxido-reducción (redox) intracelular, es decir el balance entre prooxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a un daño celular (Guzmán Báez, 2021). Los radicales libres son átomos, moléculas o iones con electrones desapareados que son altamente inestables y activos en reacciones químicas con otras moléculas. Derivan de tres elementos: oxígeno, nitrógeno y azufre, creando así ROS, estos se producen como parte normal del metabolismo dentro de las mitocondrias (Carocho, 2013). Los principales objetivos de ROS son moléculas de ADN (ácido desoxirribonucleico), ARN (ácido ribonucleico), proteínas, azúcares y lípidos lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, citotoxicidad y apoptosis (Carocho, 2013).

Proteínas

Las principales modificaciones que sufren las proteínas ante la oxidación son: la pérdida de la actividad catalítica, modificaciones en aminoácidos, formación de grupos carbonilo, formación de enlaces covalentes, formación de puentes disulfuro y mayor susceptibilidad a proteólisis. Las proteínas poseen diversos grupos con diferentes grados de oxidación, los cuales pueden sufrir varios grados de modificación al exponerse ante agentes oxidantes, entre ellas se encuentra la aparición de grupos carbonilo (aldehídos y cetonas), oxidación de residuos de histidina a oxo-histidina, de fenilalanina a orto y meta-tirosina, la conversión de metionina a metioninsulfóxido o la degradación oxidativa de triptofano a quinureninas (Díaz, 2006).

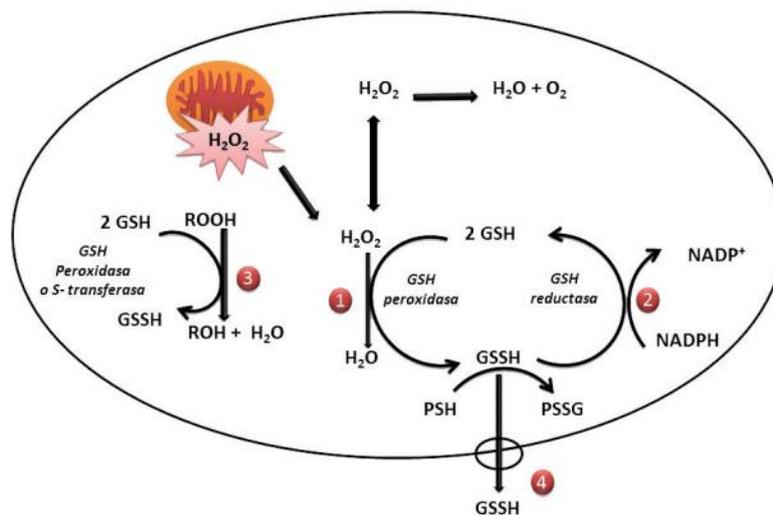
Glutación (GSH)

El glutati3n (GSH) es un tripéptido compuesto de glutamato, cisteína y glicina. Las funciones del GSH están relacionadas con diversas actividades a nivel celular como uno de los principales responsables de eliminar a los radicales libres, por ende, desempeña un papel importante en el mantenimiento del equilibrio redox intracelular (Liu et al, 2022).

El GSH contiene un grupo tiol activo que se oxida y deshidrogena fácilmente, como uno de los principales secuestrantes fisiológicos de radicales libres, responsable de eliminar los radicales libres de O₂ (oxígeno) y proporcionar electrones para enzimas

como la glutatión peroxidasa (GPX) para reducir el H_2O_2 (peróxido de hidrógeno) a H_2O (agua), que desempeña un papel en el mantenimiento del equilibrio redox intracelular, reduciendo los daños oxidativos y previniendo la apoptosis (Liu et al., 2022). El GSH participa en la neutralización de H_2O_2 en el citosol en colaboración con la glutatión peroxidasa (GPx) que toma hidrógenos de dos moléculas de GSH, convirtiendo una molécula de H_2O_2 en dos de H_2O y uno de GSSG (glutatión disulfuro). La glutatión reductasa (GSR) reduce el GSSG de nuevo a GSH utilizando NADPH como donante de electrones (Figura 3) (Mota, 2022).

Figura 3. Vía del glutatión en la célula.



Tomado de: Mota, 2022

TBARS

Uno de los marcadores de estrés oxidativo más frecuentemente utilizado para estimar la peroxidación lipídica es el TBARS (sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico) en donde predomina el malondialdehído (Rojas, 2022). La interacción de los radicales libres con los lípidos séricos y tisulares se le denomina peroxidación lipídica, este proceso da lugar a diversos metabolitos de degradación, uno de ellos el malondialdehído (MDA), el cual es el único aldehído medible y puede ser detectado por la reacción con el ácido tiobarbitúrico en condiciones ácidas que lleva a la formación de un producto coloreado en tonos rosáceos que se puede medir por espectrofotometría o HPLC (Cromatografía líquida de alta eficacia) (Melgarejo, 2017; Muñiz, 2014).

Los ácidos poliinsaturados (linoléico, araquidónico) que forman parte de la membrana celular son atacados por ERO, en sus enlaces dobles conjugados iniciando el daño oxidativo y los radicales libres de los lípidos resultantes propagan el proceso de peroxidación (Rojas, 2022). Lo explicado anteriormente permite la acumulación de hidroperóxidos que finalmente se descomponen en una gran variedad de productos terminales, los principales son el malondialdehído (MDA) y el 4-hidroxinonenal (Rodríguez, 2013). El MDA es utilizado como biomarcador de lipoperoxidación, es un producto mutagénico y tóxico porque se une al ADN para formar aductos, es decir, la unión de dos moléculas mediante un enlace covalente. Sin embargo, en la lipoperoxidación enzimática los ácidos grasos oxidados son liberados de los lípidos de las membranas por fosfolipasas y otras lipasas (Rodríguez, 2013).

Justificación

Actualmente la resistencia de bacterias y parásitos a diversos medicamentos es un problema que afecta a la población a nivel mundial, por ende, se buscan alternativas más eficaces y seguras. A lo largo de la historia se han reportado diversas plantas a las cuales se les atribuyen propiedades medicinales, las cuales han sido objeto de estudio para comprobar dichos efectos, dosis terapéuticas y su toxicidad.

Artemisia cina es una planta ampliamente utilizada por su efecto antimalárico, anti-inflamatorio, infecciones por hongos, bacterias y virus, así como antipirética y analgésica. Recientemente se demostró el efecto antihelmíntico de *A. cina* en infecciones naturales e inducidas de *H. contortus* en ovinos, utilizando extractos hidroalcohólicos y etanólicos. Posteriormente se determinó una mezcla de compuestos obtenidos a partir del extracto *n*-hexánico de *A. cina* la cual posee actividad antihelmíntica contra huevos, larvas infectantes (L3), larvas hematófagas y adultos del mismo parásito *in vitro*. Esta mezcla contiene los lignanos 3'-demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina; sin embargo, no se conocen efectos subsecuentes a la administración de estos compuestos en la salud del animal. De acuerdo con lo anteriormente mencionado, se observó la necesidad de evaluar sus efectos relacionados a los parámetros bioquímicos en la sangre de los pacientes tratados a diferentes dosis y en parámetros relacionados al estrés oxidativo a nivel celular, por lo cual, se hace necesaria la evaluación de estos compuestos cuando se desafían al metabolismo *in vivo*.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar el efecto del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y las moléculas cinaguaiacina en ratas Wistar sobre los parámetros bioquímicos y biomarcadores de estrés oxidativo.

Objetivos específicos

- Elaborar el extracto *n*-hexánico a partir de la planta *Artemisia cina* y fraccionarlo para separar y purificar los lignanos denominados cinaguaiacina.
- Determinar el efecto de extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y cinaguaiacina sobre los parámetros bioquímicos en sangre de ratas Wistar postratamiento.
- Determinar el efecto del extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y cinaguaiacina sobre biomarcadores de estrés oxidativo en tejidos de ratas Wistar.

Metodología

Localización

La preparación de los tratamientos administrados utilizados (cinaguaiacina y extracto *n*-hexánico de *A. cina*), la evaluación de los parámetros bioquímicos y de marcadores relacionados al estrés oxidativo se llevaron a cabo en los laboratorios 3 y 9 de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria. La administración de dichos tratamientos, así como la observación, cuidado y posterior eutanasia de las ratas Wistar se llevaron a cabo en el bioterio de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán respectivamente.

Elaboración del extracto a partir de materia vegetal

Las hojas y tallos frescos en prefloración de *A. cina* O. Berg ex Poljakov (Asteraceae) (3 Kg) se compraron en el laboratorio de Hunab y se confirmó la autenticidad de la planta a través del herbario de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán donde se obtuvo el número de voucher (No 11967). Las condiciones de crecimientos de la planta fueron 80% de humedad, 24°C de temperatura y pH = 6.3 suelo.

El material vegetal se molió y se colocaron en recipientes de cristal de un litro. La extracción se realizó con *n*-hexano por 24 h a temperatura ambiente (23 - 25 °C). El extracto se filtró con papel Whatman No. 4 y el solvente se eliminó por destilación a baja presión en un rotavapor (Heidolph Laborota 4000, Heidolph Instruments, Schwabach, Alemania), el extracto se dejó al alto vacío hasta su sequedad total, se pesó y posteriormente se realizó la separación e identificación de cinaguaiacina utilizando cromatografía en columna abierta con sílica. La mezcla de lignanos se concentraron con un rotaevaporador, se secó y se pesó para su posterior uso en las ratas.

Aislamiento e identificación de 3'-demetoxi-6-O-demetilisoguaiacina y norisoguaiacina del extracto *n*-hexánico de *A. cina*

El extracto de *n*-hexano se procesó mediante técnicas cromatográficas con gel de sílice en columna abierta (200 g, malla 70-230; Merck, Darmstadt, Alemania). El extracto se eluyó mediante un sistema de gradiente con *n*-hexano y acetato de etilo, con polaridad creciente como fase móvil comenzando con *n*-hexano al 100 % y

finalizando con acetato de etilo al 100%. Las fracciones se agruparon según su similitud química y se monitorearon mediante cromatografía en capa fina y se concentraron mediante un rotaevaporador.

Diseño experimental

Las dosis de tratamiento se administraron según los lineamientos de la guía 420 de la OECD (2001) para la evaluación de toxicidad oral, para ello, se utilizó el siguiente procedimiento: se tomaron 50 ratas Wistar de 14 semanas de edad las cuales se distribuyeron en 10 grupos experimentales de forma aleatoria, cada grupo conformado por 5 ratas. A los grupos experimentales se les administró vía oral los tratamientos y se distribuyeron de la siguiente forma: extracto *n*-hexánico de *A. cina*: grupo 1: 4 mg/kg; grupo 2: 40 mg/kg; grupo 3: 240 mg/kg; grupo 4: 1600 mg/kg; cinaguaiacina: grupo 5: 2 mg/kg; grupo 6: 20 mg/kg; grupo 7: 120 mg/kg; grupo 8: 800 mg/kg. Grupo 9: se le administró polivinilpirrolidona a una dosis de 1600 mg/kg y al Grupo 10: se administró agua destilada. Las ratas se observaron cada cuatro horas después de la administración de los tratamientos durante 14 días como lo mencionan las guías OECD (2001) para la evaluación de toxicidad oral en moléculas químicas y se documentaron los cambios comportamentales.

Tratamiento de ratas Wistar con extracto n-hexánico y cinaguaiacina de A. cina

Los tratamientos aplicados se muestran en la tabla 3 que se presenta a continuación.

Tabla 3. Tratamientos de las ratas Wistar con extracto *n*-hexánico y cinaguaiacina obtenidas a partir de *Artemisia cina*

Grupo	Tratamiento	n	Sexo	Dosis	Fecha de inicio	Fecha de sacrificio
1	Extracto <i>n</i> -hexánico de <i>Artemisia cina</i>	5	3 machos 2 hembras	4 mg/Kg	18/04/2022	2/05/2022
2	Extracto <i>n</i> -hexánico de <i>Artemisia cina</i>	5	3 machos	40 mg/Kg	18/04/2022	2/05/2022

			2 hembras			
3	Extracto <i>n</i> - hexánico de <i>Artemisia cina</i>	5	3 machos 2 hembras	240 mg/Kg	18/04/2022	2/05/2022
4	Extracto <i>n</i> - hexánico de <i>Artemisia cina</i>	5	3 machos 2 hembras	1600 mg/Kg	18/04/2022	2/05/2022
5	Cinaguaiacina	5	3 machos 2 hembras	2 mg/Kg	18/04/2022	2/05/2022
6	Cinaguaiacina	5	3 machos 2 hembras	20 mg/Kg	17/05/2022	1/06/2022
7	Cinaguaiacina	5	3 machos 2 hembras	120 mg/Kg	17/05/2022	1/06/2022
8	Cinaguaiacina	5	3 machos 2 hembras	800 mg/Kg	17/05/2022	1/06/2022
9	Polivinilpirrolidona	5	3 machos 2 hembras	1600 mg/Kg	17/05/2022	1/06/2022
10	Testigo	5	3 machos	0	17/05/2022	1/06/2022

			2 hembras			
--	--	--	--------------	--	--	--

Evaluación de parámetros bioquímicos en la sangre

A los 14 días las ratas se llevaron a eutanasia utilizando cámara de CO₂ y se recuperó la mayor cantidad de sangre en tubos con heparina de litio para determinar los parámetros bioquímicos de la sangre mediante un analizador bioquímico siguiendo el procedimiento reportado por Reitman y Frankel (1957). Los parámetros que se evaluaron son los siguientes: Albúmina (ALB), total proteína (TP), globulina (GLO), relación albúmina – globulina (A/G), calcio (Ca), glucosa (GLU), urea (BUN), fósforo (P), amilasa (AMY), colesterol (CHOL), alanina aminotransferasa (ALT), total bilirrubina (TBIL), fosfatasa alcalina (ALP), creatinina (CRE), relación urea – creatinina (BUN/CRE) y creatinina cinasa (CK). Las muestras se procesaron en un analizador automático de química seca (Celercare V5, Minchip®).

Evaluación de parámetros relacionados al estrés oxidativo

Se evaluaron tres parámetros: glutatión reducido (GSH), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y proteína, este último no se incluye en el trabajo, ya que es necesario para obtener TBARS y GSH. Se siguió el protocolo descrito por Guzmán y Pacheco (2021) en cerebro, riñón, corazón, pulmón e hígado de rata. Para este ensayo se pesaron 100mg de tejido, se realizó la inmersión de estos en buffer de lisis y posteriormente se homogenizaron. Las muestras se centrifugaron a 13,000 rev/15 min a 4°C, se recolectó el sobrenadante y con él se llevó a cabo la prueba de proteínas, GSH y TBARS.

Para la cuantificación de proteínas se realizó el ensayo de Bradford, se tomaron 10 µL del sobrenadante de muestra y se diluyó en 990 µL de solución PBS 1x, de la anterior dilución, se tomaron 40 µL y se adicionan 960 µL de solución diluida de Bradford en agua (1:4). La reacción se dejó por 10 minutos protegida de la luz y se leyó en el espectrofotómetro de UV/visible a 595 nm (Multiscan Go, Thermo Fisher®). Los datos se analizaron mediante una regresión lineal utilizando como curva patrón las concentraciones conocidas de albúmina sérica.

Cuantificación de glutatión (GSH)

La cuantificación de glutatión se llevó a cabo según la técnica reportada por Mota, (2022) en donde a través del método espectrofotométrico basado en la reacción del GSH/GSSG, contenido en la muestra, con el ácido 5,5'-dithio-bis(2-nitrobenzoico) (DTNB), reactivo de Ellman, reacciona con los residuos sulfhídrico, para producir GS-TNB y TNB (ácido 5-tio-2-nitrobenzoico) de color amarillo, que es espectrofotométricamente activo a 400-430 nm. Se tomaron 200µL de sobrenadante de muestra con 10 µL de ácido sulfosalicílico al 5% (SSA), se incubó en hielo durante 15 min y se centrifugó a 13000 rpm durante 15 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se agregó 800 µL de solución de reacción (S-Rx) de GSH (0.1 M PBS, 0.2 mM DTNB, 0.15 mM EDTA) y se dejó incubando a 37°C durante 30 min. La lectura se llevó a cabo en un espectrofotómetro a 405 nm (Multiscan Go, Thermo Fisher®). El análisis de resultados se llevó a cabo mediante una regresión lineal utilizando como curva patrón de tejidos con concentraciones conocida de GSH. El valor se dividió entre el resultado obtenido de proteínas.

Cuantificación de TBARS

El ensayo se llevó a cabo según lo reportado por Mota, (2022) , se utilizaron 250 µL de sobrenadante de muestra, se adicionaron 250 µL de ácido perclórico al 2.5%, se incubaron en hielo durante 15 minutos y se centrifugaron a 13000 rpm durante 15 min a 4°C. Se recuperó el sobrenadante y se agregaron 500 µL de TBA al 0.67% el cual se dejó incubando a 90°C durante 60 min. Se realizó la lectura en espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm. La concentración de TBARS de los tejidos se obtuvo usando una curva estándar de MDA conocida. El resultado se dividió entre la concentración de proteínas de la misma muestra.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados con un ANOVA mediante un diseño completamente al azar usando un procedimiento lineal general (PROC GLM) del paquete estadístico del SAS versión 9.0. El valor de confianza utilizado fue de 95%. Posteriormente se realizó una prueba de Tukey con el fin de comparar la diferencia entre las medias.

Cuidado y uso de los animales

El cuidado y uso de las unidades experimentales se llevó a cabo conforme a los lineamientos del Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales en Experimentación de la FESC (CICUAE-FESC) bajo la clave de registro C22_06. El documento se muestra en el Anexo 1.

Resultados

Química sanguínea

De acuerdo con la tabla 4 se muestran los resultados de química sanguínea de los grupos tratados (promedio y desviación estándar), en todos los animales se encontró un aumento significativo en la glucosa, fósforo, colesterol, fosfatasa alcalina y creatinin cinasa respectivamente. En el caso de cinaguiacina a 2 mg/kg hubo un aumento en colesterol, creatinin cinasa y urea, siendo este último el valor más elevado comparado con los demás tratamientos, a 20 mg/kg se observó un incremento en fosfatasa alcalina y creatinin cinasa, a 120 mg/kg colesterol y fosfatasa alcalina se vieron elevados.

Por otro lado, la cinaguiacina a 800 mg/kg aumentó la glucosa, colesterol, fosfatasa alcalina y creatinin cinasa, resultados comparables al grupo testigo en el cual se encontraron resultados similares excepto por el colesterol. Cinaguiacina a 1600 mg/kg y K30 a 1600 mg/kg incrementó glucosa y creatinin cinasa en ambos grupos.

Tabla 4. Resultados de bioquímica sanguínea de las ratas tratadas con extracto *n*-hexánico de *A. cina* y cinaguaiacina.

Tratamientos	Promedio \pm desviación estándar															
	ALB	TP	GLO	A/G	Ca	GLU	BUN	PI	AMY	CHOL	ALT	TBL	ALP	CRE	BUN CRE	CK
Extracto hexánico de <i>Artemisia cina</i> (mg/mL)																
4	39.94 ^a ± 1.49	65.00 ^a ± 4.86	27.05 ^a ± 2.77	1.64 ^{abc} ± 0.42	2.79 ^{ab} ± 0.35	12.21 ^a ± 2.94	7.89 ^b ± 1.31	4.38 ^a ± 0.40	765.20 ^a ± 45.07	3.98 ^a ± 0.68	43.60 ^{bc} ± 8.29	3.79 ^a ± 0.53	363.20 ^{ab} ± 43.10	43.25 ^a ± 1.28	37.25 ^a ± 10.72	1299.75 ^a ± 607.87
40	38.78 ^a ± 2.07	52.52 ^{bc} ± 5.15	13.74 ^c ± 3.46	2.94 ^a ± 0.56	2.64 ^{ab} ± 0.17	11.79 ^a ± 2.92	6.69 ^{bcd} ± 1.30	4.23 ^a ± 0.81	561.60 ^{ab} ± 90.24	3.68 ^{ab} ± 0.81	61.00 ^a ± 21.69	3.23 ^a ± 0.99	438.50 ^a ± 61.92	42.00 ^a ± 1.05	33.50 ^a ± 9.95	1374.00 ^a ± 885.30
240	37.32 ^a ± 2.40	57.96 ^{ab} ± 3.17	22.43 ^a ± 3.92	1.68 ^{abc} ± 0.43	2.80 ^a ± 0.23	9.96 ^{abc} ± 0.43	7.01 ^{bc} ± 0.76	3.77 ^{ab} ± 0.28	756.00 ^a ± 59.49	2.92 ^{bc} ± 0.24	53.00 ^{ab} ± 5.10	4.19 ^a ± 0.76	421.40 ^a ± 67.98	41.67 ^a ± 4.51	37.50 ^a ± 9.18	911.40 ^a ± 791.80
1600	36.82 ^a ± 3.15	58.18 ^{ab} ± 6.54	21.36 ^a ± 3.60	1.74 ^{abc} ± 0.15	2.82 ^a ± 0.22	10.57 ^a ± 1.27	7.15 ^{bc} ± 0.86	3.41 ^{abc} ± 0.27	418.00 ^b ± 45.65	2.96 ^a ± 0.47	56.25 ^{ab} ± 8.18	3.72 ^a ± 1.07	351.25 ^{abc} ± 57.93	40.00 ^a ± 9.83	35.00 ^a ± 11.92	764.50 ^a ± 287.85
Cinaguaiacina (mg/mL)																
2	26.28 ^a ± 15.32	53.83 ^{bc} ± 4.60	23.16 ^a ± 2.06	1.38 ^{bc} ± 0.39	2.21 ^a ± 0.18	6.53 ^c ± 1.19	11.25 ^a ± 0.83	2.67 ^c ± 0.58	406.75 ^b ± 53.35	2.53 ^a ± 0.27	22.80 ^d ± 1.30	4.00 ^a ± 0.60	153.25 ^d ± 36.85	59.50 ^a ± 1.83	44.25 ^a ± 5.80	654.75 ^a ± 114.85
20	15.50 ^b ± 16.15	38.90 ^d ± 7.47	21.40 ^a ± 5.16	1.32 ^c ± 1.21	2.20 ^b ± 0.41	6.41 ^c ± 2.05	5.99 ^{bed} ± 0.86	2.52 ^c ± 0.54	370.25 ^b ± 40.20	2.13 ^a ± 0.15	38.50 ^{cd} ± 4.65	2.65 ^a ± 0.74	308.00 ^{abc} ± 48.83	44.75 ^a ± 1.31	25.50 ^a ± 8.58	732.75 ^a ± 158.66
120	33.28 ^a ± 1.28	46.68 ^{cd} ± 1.70	13.40 ^c ± 1.27	2.50 ^{abc} ± 0.24	2.56 ^{ab} ± 0.14	7.76 ^{bc} ± 0.78	5.17 ^{cd} ± 0.55	2.79 ^{bc} ± 0.09	424.80 ^b ± 42.43	2.56 ^a ± 0.13	39.40 ^{bc} ± 3.51	3.31 ^a ± 0.46	381.75 ^{ab} ± 51.23	67.00 ^a ± 1.71	21.00 ^a ± 7.75	517.80 ^a ± 92.18
800	35.00 ^a ± 3.00	48.34 ^{bc} ± 4.03	13.34 ^a ± 1.23	2.62 ^{abc} ± 0.13	2.76 ^{ab} ± 0.13	10.63 ^a ± 1.26	4.77 ^d ± 0.93	3.01 ^{bc} ± 0.29	438.40 ^b ± 66.25	2.42 ^a ± 0.15	42.80 ^{ab} ± 4.60	2.69 ^a ± 0.29	346.00 ^{abc} ± 50.38	50.80 ^a ± 2.35	22.00 ^a ± 7.44	637.75 ^a ± 134.76

1600	36. 23 ^a ±1. 59	49. 80 ^{bc} ±1. 94	13. 58 ^c ±0. 64	2.2 4 ^{abc} ±0. 98	2.50 ab ±0. 39	10. 99 ^a b ±1. 24	5.63 cd ±0. 77	2.92 bc ±0.5 1	382. 00 ^b ±36. 03	2.3 9 ±0. 21	46. 80 ^{ab} c ±8. 61	3.4 1 ^a ±1 .05	253. 60 ^{bc} d ±30. 66	66. 50 ^a ±2 1.2 5	22.7 5 ^a ±9.5 4	591.2 0 ^a ±113. 04
Testigo	37. 42 ^a ±1. 11	51. 10 ^{bc} ±1. 77	13. 90 ^c ±0. 59	2.7 6 ^{ab} ±0. 09	2.71 ab ±0. 12	11. 17 ^a b ±1. 03	5.27 cd ±0. 52	2.95 bc ±0.2 4	435. 80 ^b ±55. 02	2.3 9 ±0. 15	44. 80 ^{ab} c ±3. 56	2.9 5 ^a ±0 .96	315. 00 ^{abc} ±53. 35	57. 00 ^a ±1 1.4 3	22.7 5 ^a ±4.7 9	536.0 0 ^a ±66.6 7
K30 (1600 mg/mL)	31. 08 ^a b ±11 .58	46. 54 ^{cd} ±7. 48	15. 46 ^b c ±4. 25	2.2 4 ^{abc} ±0. 97	2.49 ab ±0. 38	9.8 6 ^{abc} ±2. 73	5.59 cd ±0. 85	2.92 bc ±0.5 1	360. 60 ^b ±57. 12	2.3 9 ±0. 21	46. 80 ^{ab} c ±8. 61	3.4 1 ^a ±1 .05	203. 30 ^{cd} ±11 6.34	58. 60 ^a ±2 5.5 1	29.2 0 ^a ±16. 61	5810. 20 ^a ±127. 21
Valores de referencia	30- 48	53- 82	10- 50	--	1.8- 3.55	2.8 - 7.9	1.8- 10.3	1.06 - 3.55	200- 250 0	0.5 - 2.4	20- 61	0- 12	16- 302	18- 71	--	48- 520
Unidades	g/L	g/L	g/L	--	mm ol/L	mm ol/ L	mm ol/L	mm ol/L	U/L	um ol/ L	U/L	um ol/ L	U/L	um ol/ L	--	U/L
Medias dentro de la misma columna con distinta literal estadísticamente difieren, P<0.5																
Nomenclatura: ALB Albúmina; TP Total proteína; GLO Globulinas; A/G Relación Albúmina- Globulina; Ca Calcio; GLU glucosa; BUN Urea; P potasio; AMY Amilasa; CHOL Colesterol; ALT Alanina aminotransferasa; TBIL Total bilirrubina; ALP Fosfatasa alcalina; CRE Creatinina; BUN/ CRE Relación urea/ creatinina; CK Creatinin cinasa.																

Biomarcadores de estrés oxidativo

En la fase post-destete, los animales que recibieron extracto de *n*-hexano y lignanos y después de 14 días tuvieron una reducción en los niveles de TBARS en algunos órganos en comparación con los animales control. En general, la actividad de la enzima antioxidante como el GSH en el caso de las ratas tratadas con extracto y lignanos aumentó ($p < 0,05$) en comparación con el control. Es importante señalar que no todas las actividades enzimáticas cambiaron concomitantemente, ni observamos efectos en todos los experimentos. Los resultados por órgano se observan en la figura 4, 5, 6 y 7. En los cerebros analizados se observó un aumento de los valores de GSH con 20 y 120 mg/Kg de lignanos y k30 a una dosificación de 1600 mg/kg. El mismo comportamiento se observó en el grupo cerebral TBARS como se puede observar en la figura 4 (A y B) marcadas en cada gráfica.

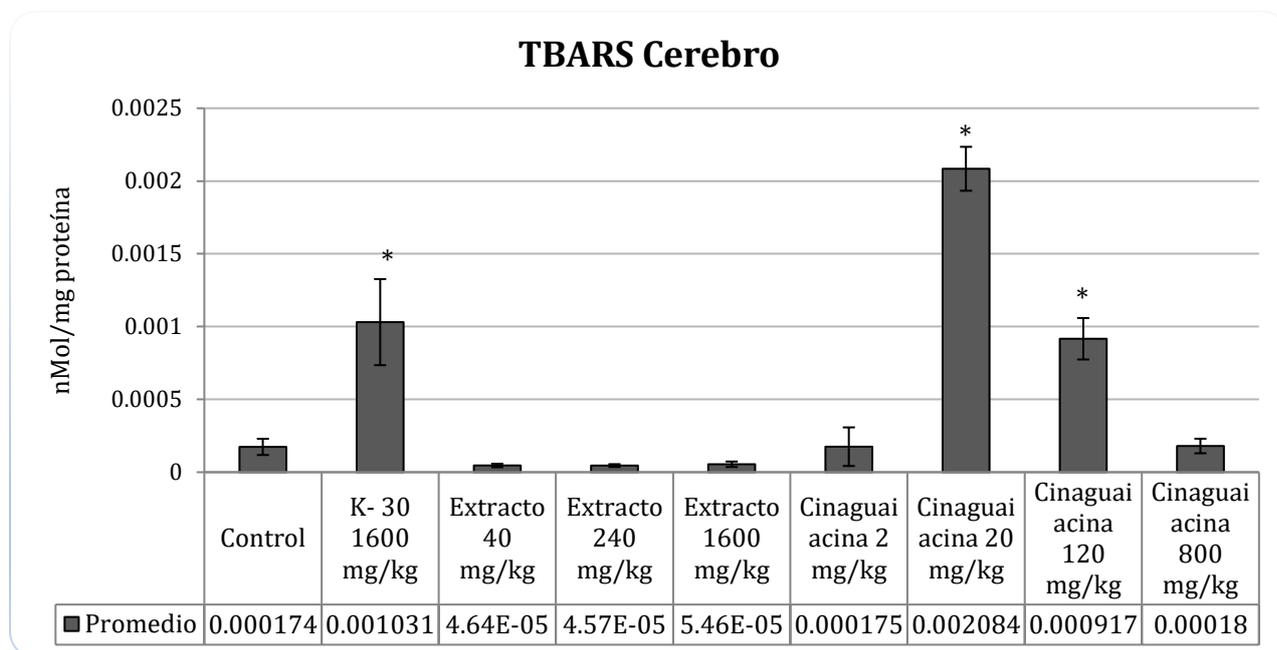
En los hígados analizados la actividad de GSH se observó un aumento en los tratamientos con lignanos como se puede observar en el caso de 20 y 120 mg/kg, además la actividad de TBARS fue mayor significativamente en los grupos tratados con 4 y 40 mg/Kg de extracto de *n*-hexano de acuerdo a la figura 5.

La actividad de GSH en el pulmón demostró una actividad similar entre los tratamientos con extracto; sin embargo, las ratas tratadas con lignanos demostraron una actividad reducida a excepción de la dosis 2 mg/kg. En cuanto a TBARS se encontró un incremento con cinaguiacina a 20 y 120 mg/kg, así como K30 a una dosis de 1600 mg/kg, como se muestra marcado en la figura 6.

Con respecto a los resultados obtenidos en el riñón se puede observar una homogeneidad en la mayoría de las dosificaciones, siendo la más alta K30 a 1600 mg/kg y cinaguiacina a 20 mg/kg de acuerdo a la figura 7.

Figura 4. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutación (GSH) B en cerebro de ratas Wistar tratadas con extracto *n*-hexano de *Artemisia cina* y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanós) tratadas por vía oral.

A



B

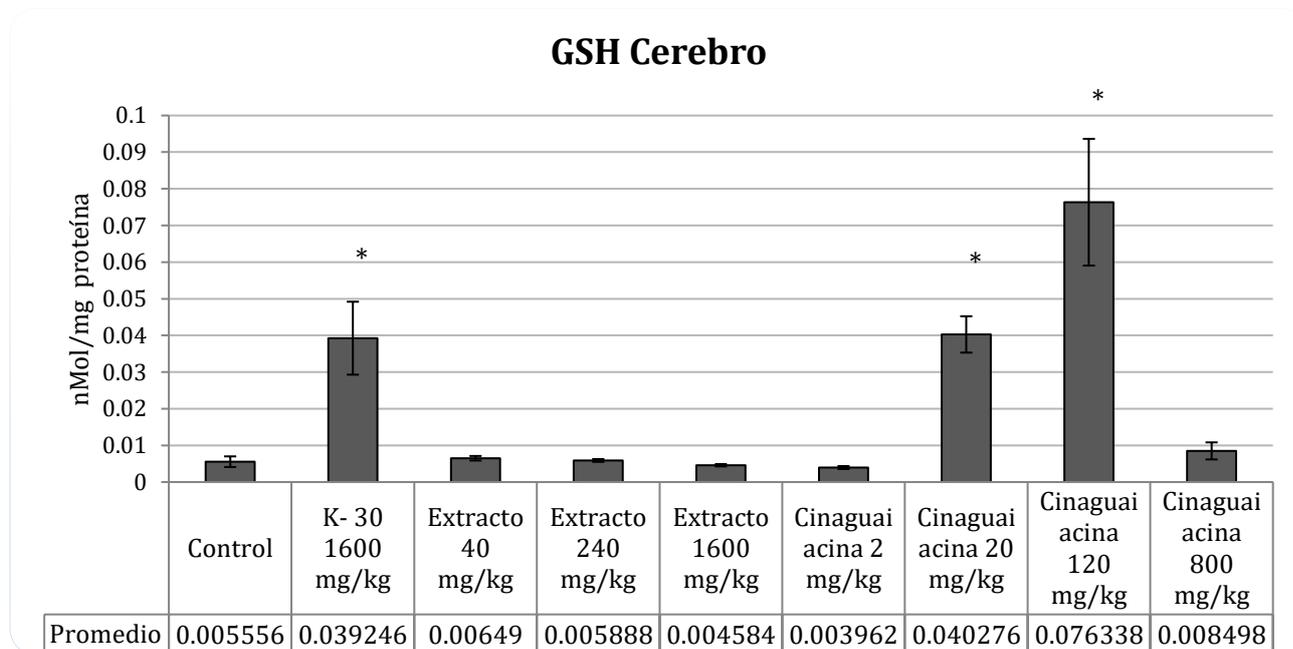
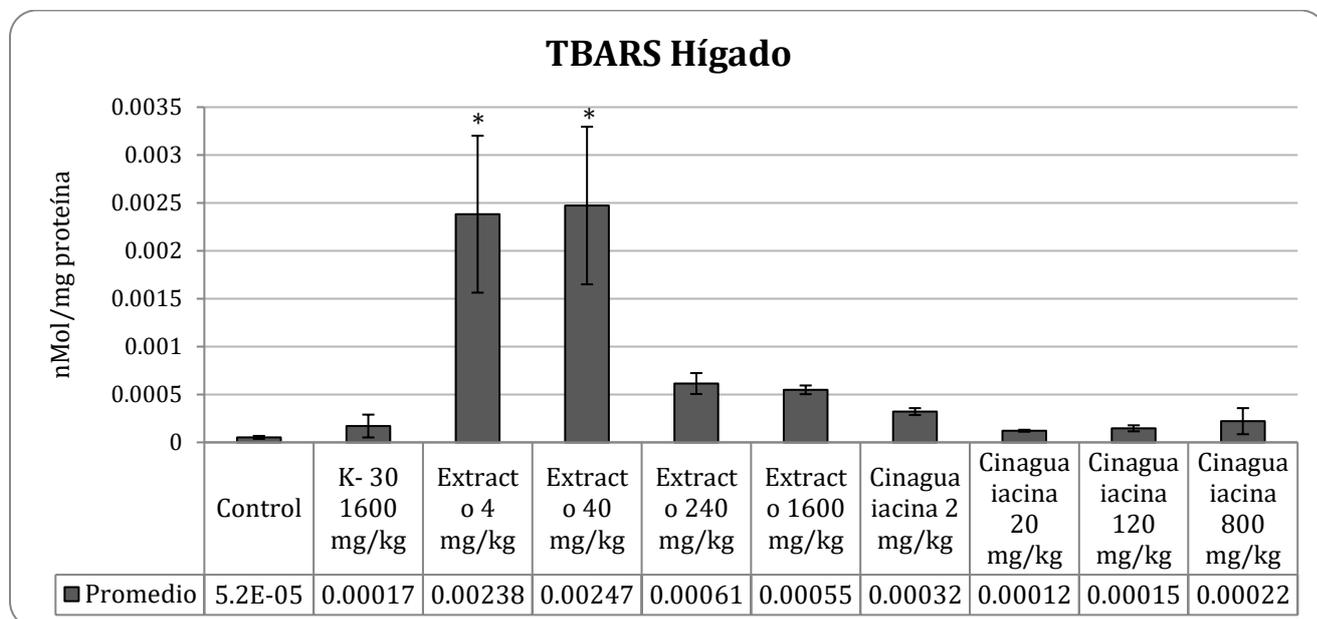


Figura 5. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutación (GSH) B en hígado de ratas Wistar tratadas con extracto n-hexano de *Artemisia cina* y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanós) tratadas por vía oral.

A



B

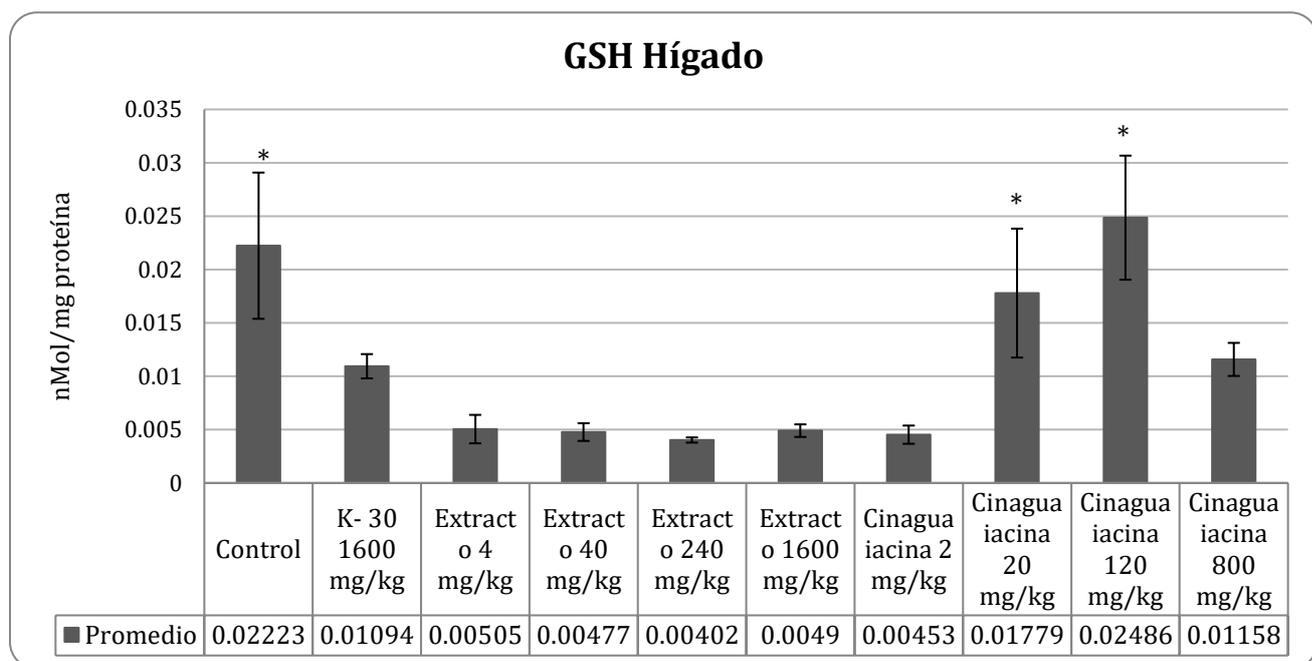
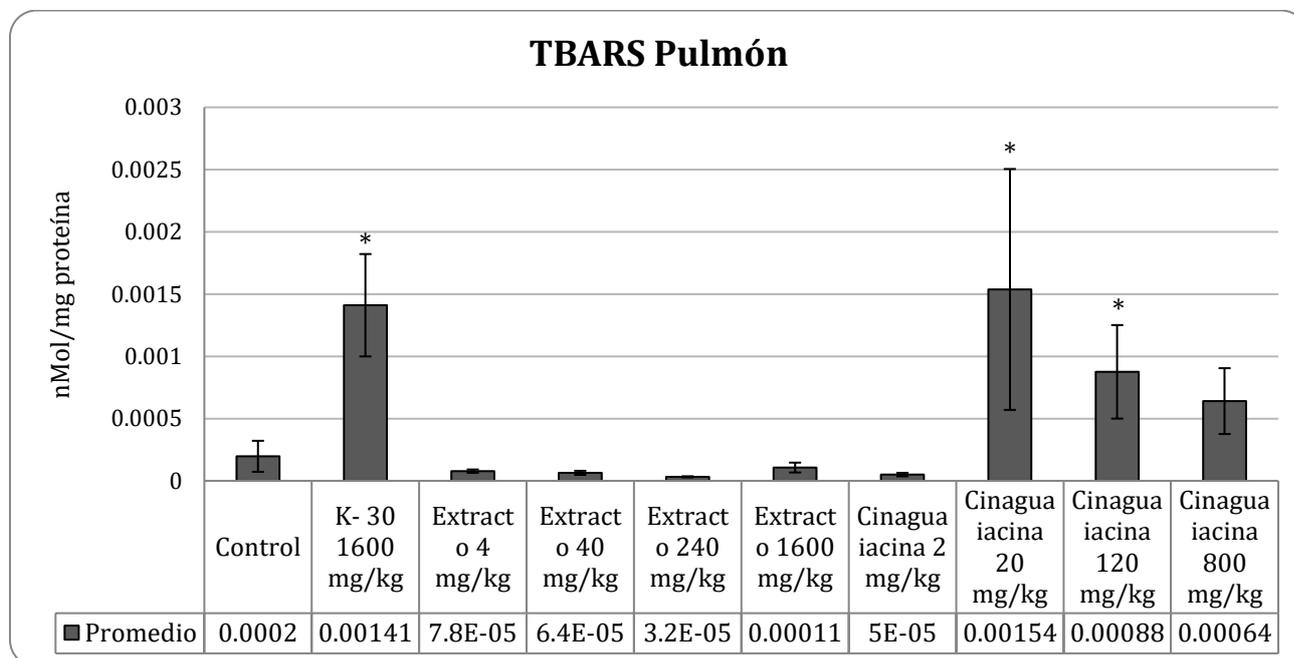


Figura 6. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutación (GSH) B en pulmón de ratas Wistar tratadas con extracto n-hexano de *Artemisia cina* y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignan) tratadas por vía oral.

A



B

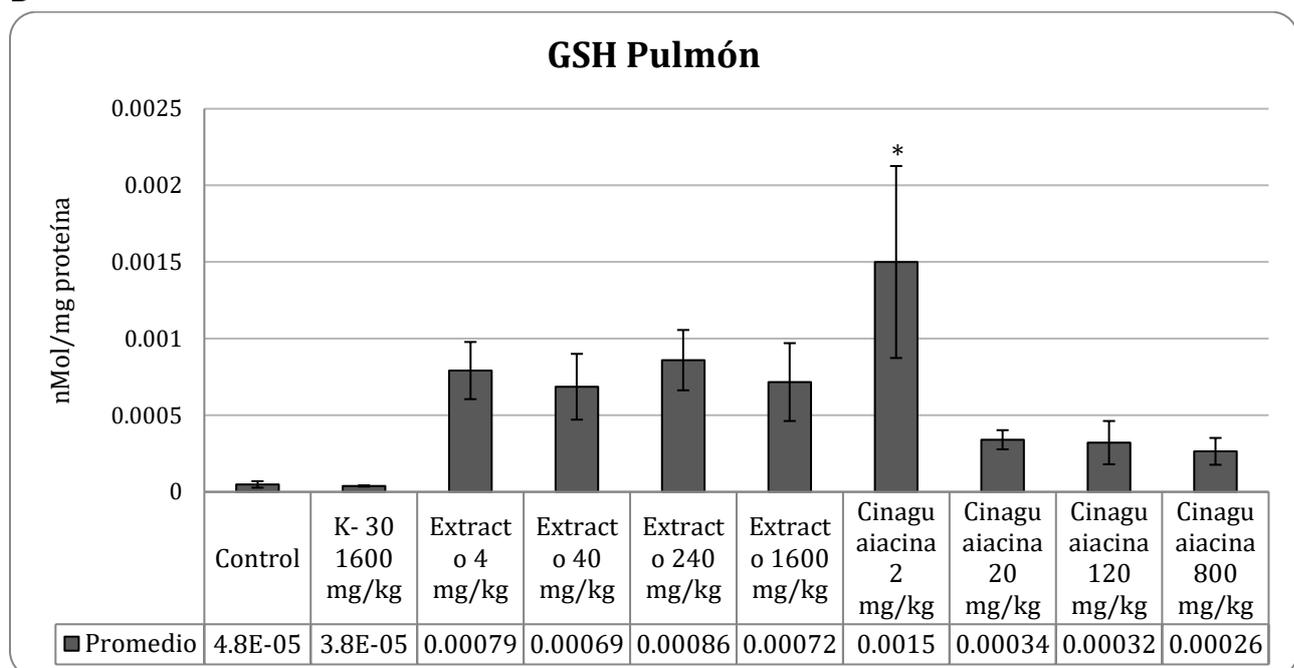
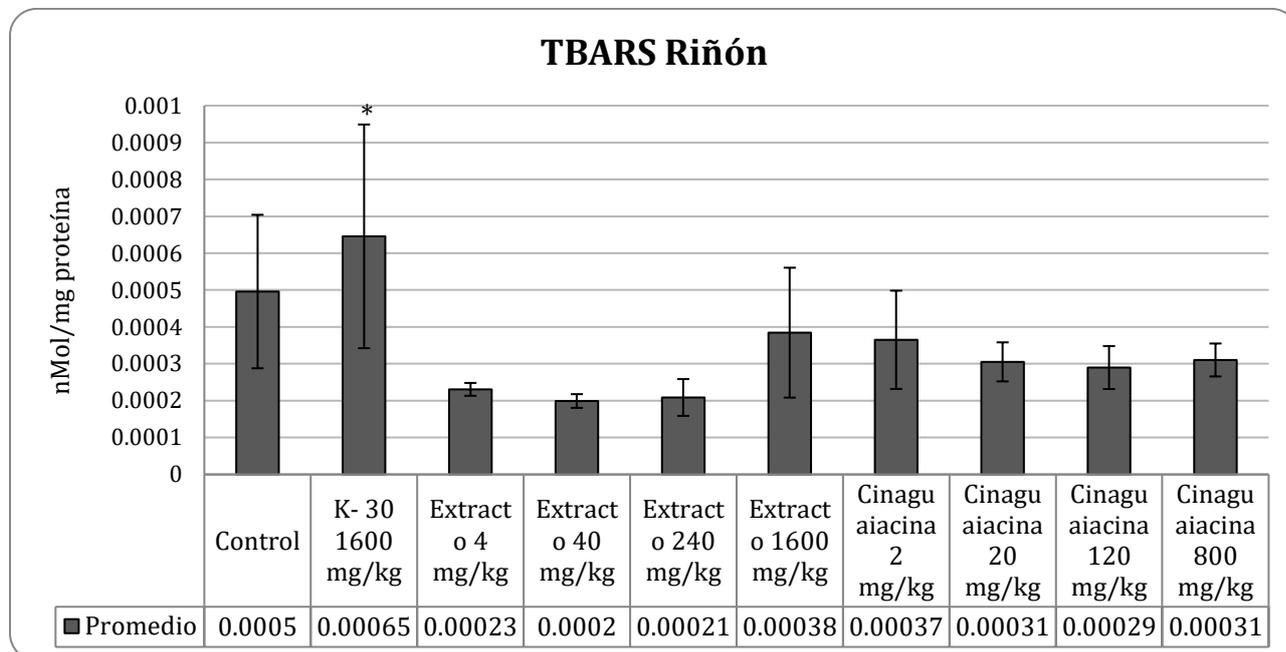
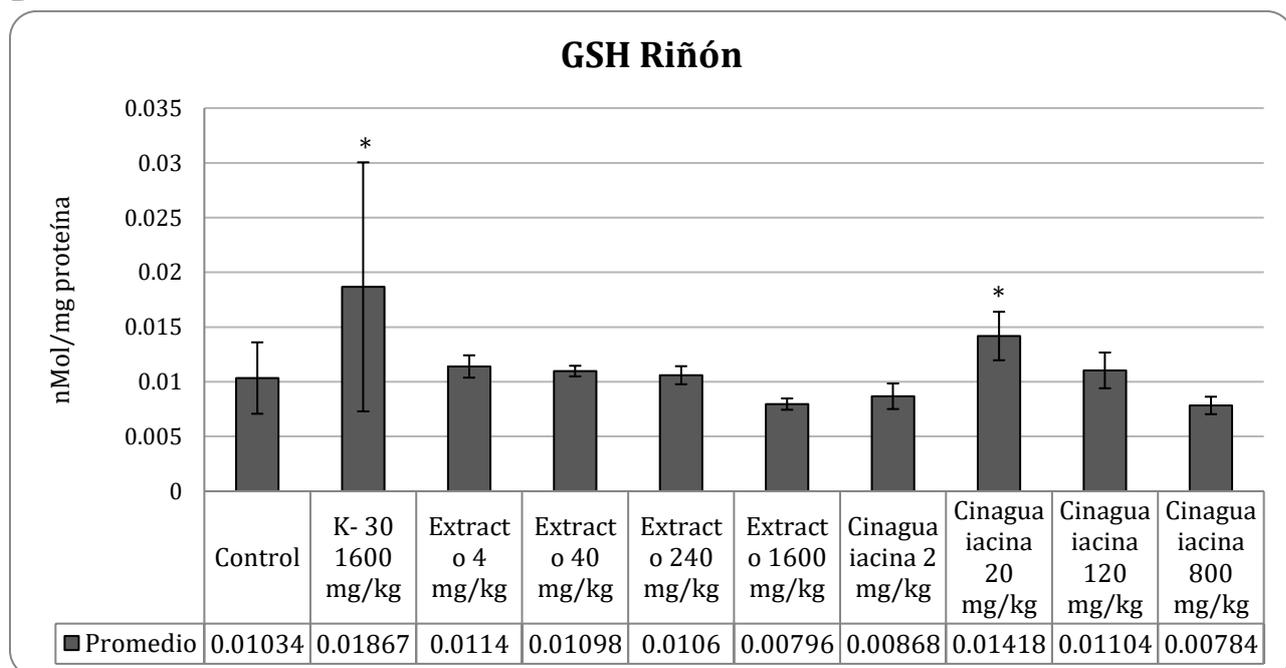


Figura 7. Cuantificación de los valores de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) A y de Glutación (GSH) B en riñón de ratas Wistar tratadas con extracto n-hexano de *Artemisia cina* y 3'-Demetoxi-6-O-desmetilisoguaiacina y norisoguaiacina (lignanós) tratadas por vía oral.

A



B



Discusión

Este trabajo se realizó de acuerdo con la guía OECD 420 “Toxicidad oral aguda por dosis fijas”, en el cual se utilizaron 50 ratas Wistar con 14 semanas de edad y se separaron en 10 grupos, en cada uno se administró extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina*, cinaguaiacina (ambas a diferentes dosificaciones mg/ kg), polivinilpirrolidona y un grupo testigo. En este trabajo se encontró que el uso del extracto y de los lignanos produce algunos efectos notables sobre los parámetros bioquímicos en sangre, así, el uso del extracto *n*-hexánico mostró elevaciones relevantes en el fósforo y fosfatasa alcalina.

Todos los grupos mostraron elevaciones de la glucosa que se pueden atribuir al estrés antemórtem o incluso a la forma de sacrificio que se llevó a cabo (Ríos, 2019). En el caso del tratamiento con los lignanos se observó una elevación en los siguientes parámetros: colesterol, fosfatasa alcalina y creatinin cinasa.

Estas elevaciones pueden ser signo de algunas enfermedades tales como la colestasis, el síndrome nefrótico o incluso la falla hepática. Sin embargo, el diagnóstico de las anteriores debe respaldarse y corroborarse con otras enzimas en específico. Es decir, si se presume de un daño renal, no solamente está afectado el fósforo, sino además urea y la creatinina. En este estudio solo se observaron alteraciones con el fósforo las cuales pueden ser atribuidas a un daño renal inicial el cual debe ser estudiado con tiempos de muestreo superiores. En el mismo sentido, se observó la elevación de la fosfatasa alcalina que podría deberse a un daño hepático que así mismo, debe ser corroborado con la alteración de la albúmina, ALT y bilirrubinas totales (Ríos, 2019; Murphy, 2019).

Kumar en el 2005, demostró que las elevaciones de fósforo pueden deberse a una insuficiencia renal, lisis por daño celular, lo cual da como resultado liberación de fósforo intracelular, al mismo tiempo, reportó un caso clínico en el cual la hepatitis colestásica posee marcada colestasis e inflamación portal y lobulillar leve diagnosticada mediante una biopsia, en este caso, el reporte refiere que el paciente ingirió suplemento a base de hierbas que contenía artemisinina. Artemisinina y sus derivados son utilizados como suplemento herbal para tratar la malaria, los informes de lesiones hepáticas graves secundarias a combinaciones de medicamentos antipalúdicos se deben a las dosis consumidas (Van Agtmael, 1999).

En el caso de los hallazgos de la CK o creatincinasa esta enzima citoplasmática está ubicada en las células del músculo cardíaco y esquelético, la elevación reportada puede deberse a la isquemia o inflamación relacionada al tratamiento o incluso al método de sacrificio. Es importante anotar que *A. cina* ha sido reportada con características antiinflamatorias, lo que permite inferir que este hallazgo es incidental. *Artemisia cina* en general tiene propiedades antiinflamatorias y antihelmínticas. La santonina en específico se administró vía intraperitoneal a ratas, se encontró que presenta una actividad inflamatoria para procesos agudos parecidos al antiinflamatorio no esteroideo: el diclofenaco sódico (Mohammed, 1994).

En este trabajo se observó el posible daño causado por los lignanos y el extracto con el nivel de TBARS, así mismo, el potencial protector o incluso inductor de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa. En este trabajo, se demostraron elevaciones significativas de GSH en dosis de 20 y 120 mg/kg, esto podría indicar un posible efecto neuroprotector, que se corrobora con los datos obtenidos en TBARS. Es importante mencionar, que el daño en el cerebro, se debe evaluar a través de histopatología, sin embargo, la elevación de TBARS puede verse relacionada no solo a daño neural sino también relacionada a factores metabólicos, específicamente la alimentación debido a que las ratas mostraron el colesterol alto, incluyendo los controles (Mahmoud, 2022). El colesterol alto induce lipoperoxidación lipídica en las neuronas, relacionando éste a un factor fuerte a los hallazgos encontrados. Las dosis bajas de extracto n-hexánico mostraron elevaciones de TBARS en el hígado que no fueron subsanadas por elevaciones de GSH, se puede intuir que el daño oxidativo inducido por el extracto puede verse reflejado en la alteración de algunas enzimas relacionadas al funcionamiento como la fosfatasa alcalina.

El hígado representa un papel central en la regulación del metabolismo del colesterol, cuando hay una elevación del colesterol promueve la evolución de arteroesclerosis, seguido de un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares (Maldonado, 2012). Martínez (2011) menciona que la síntesis de glutatión en el cerebro es la misma que en los demás tejidos, aunque dicha molécula se encuentra de manera uniforme por todo el cerebro, se reporta presencia de enzimas precursoras de su síntesis principalmente en células gliales y neuronas.

Cuando se pierde la homeostasis, los precursores para la síntesis de glutatión son obtenidos a partir del plasma, estos mismos atraviesan la barrera hematoencefálica a partir de transportadores específicos que dependen de la presencia del aminoácido, sulfhídrico, Na⁺ y pH principalmente, se han descrito diversos sistemas de transporte para poder atravesar la barrera hematoencefálica hacia las neuronas, astrocitos y microglía principalmente (Valdovinos, 2012).

Se ha encontrado que hay una estrecha relación entre el estrés oxidativo y los procesos neurodegenerativos, por lo tanto, la importancia del glutatión representa una línea de defensa contra el estrés oxidativo, cuando ocurre una peroxidación lipídica en la membrana de las células, hablando específicamente de las neuronales, tiene un efecto negativo sobre estas, dañando la transducción de señales y plasticidad sináptica (Enrico, 2022). *Artemisia* posee actividad antioxidante reportada, relacionada a contrarrestar el estrés inducido por células tumorales, en el caso de los hallazgos encontrados en el pulmón, se refuerza la teoría de que los lignanos poseen dicha actividad, reportada en la planta y que favorecen el metabolismo celular.

En (2015) Wilhelm realizó un tratamiento con base en cápsulas de *Artemisia* a un paciente con cáncer de próstata metastásico, el cual concluyó que dicho tratamiento con *Artemisia* a largo plazo, en conjunto con medicamentos anticancerígeno a corto plazo se tiene como resultado una regresión considerable de dicho carcinoma. El pulmón posee como mecanismo antioxidante al sistema del glutatión, el cual participa tanto a nivel celular como en el líquido que cubre al epitelio alveolar, protegiéndolo contra agentes oxidantes. Se ha reportado que el sistema del glutatión en el pulmón de rata experimenta diversos cambios fisiológicos en el período posnatal, los cuales involucran enzimas que participan en su metabolismo, es decir, su desarrollo no está completo al nacer, el desarrollo alveolar se produce después. De acuerdo a lo anteriormente mencionado, el contacto con los factores ambientales pueden tener un mayor impacto cuando se expone en edades tempranas, en la cual existe poco desarrollo en los sistemas antioxidantes de las células pulmonares, en comparación con la funcionalidad pulmonar adulta (Ramírez, 2007).

Finalmente, la polivinilpirrolidona (PVP) es un polímero sintético que se obtiene a partir del monómero N- vinilpirrolidona, tiene una buena biocompatibilidad, es soluble

en disolventes tanto polares como apolares y por ende tiene un amplio número de aplicaciones (Del Prado, 2016; Gómez, 2020). La polivinilpirrolidona ha sido muy utilizada a lo largo de la historia como un expansor de plasma sanguíneo y actualmente como vehículo para productos principalmente farmacéuticos. No se han comprobado efectos tóxicos o cancerígenos, por lo cual es muy seguro su uso (Pacheco, 2010). Los hallazgos encontrados en las ratas del presente experimento muestran que la PVP posee un margen de seguridad en la administración ya que induce en algunos órganos como el riñón, hígado y cerebro elevaciones de TBARS contrarrestadas por elevaciones subsecuentes de GSH. Además de ello, los parámetros bioquímicos relacionados al uso de PVP no muestran diferencias significativas respecto a los controles, solamente en algunos específicos relacionados a factores externos al experimento como la glucosa.

Conclusiones

El extracto *n*-hexánico de *Artemisia cina* y los lignanos denominados cinaguaiacina no mostraron alteraciones relevantes en los parámetros bioquímicos en sangre de ratas postratamiento, así mismo, se demostró el efecto inductor oxidante del extracto *n*-hexánico sobre el tejido neuronal, sin embargo, se observó la subsecuente elevación de enzimas relacionadas al efecto antioxidante como la GSH.

Perspectivas

Es importante mencionar que el daño causado por un xenobiótico puede verse reflejado a través del aumento de TBARS en la célula desde las primeras horas, por lo cual, se sugiere, conocer el estatus de estos indicadores (TBARS y GSH) dentro de las 24 horas posteriores a la aplicación del tratamiento.

Bibliografía

- Akhtar, M. S., Iqbal, Z., Khan, M. N., & Lateef, M. (2000). Anthelmintic activity of medicinal plants with particular reference to their use in animals in the Indo–Pakistan subcontinent. *Small Ruminant Research*, 38(2), 99–107. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(00\)00163-2](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(00)00163-2)
- Angulo Álvarez. (2019). Desarrollo de un método de análisis por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC-DAD) para la caracterización de especies de la familia *Asteraceae*. Universidad de Ciencias Ambientales y Aplicadas.
- Berenguer Rivas, C; Yoandra, T, et al (2013). Toxicidad aguda oral de *Azaridachta indica* árbol del NIm. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 18(3).
- Carocho, M. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 51, 2013, ISSN 0278-6915, <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>.
- Castro, M. (2019). Aplicación de los principios de buenas prácticas de laboratorio para estudios corto plazo. Serie de la OCDE sobre principios de buenas practicas de laboratorio y verificación de su conformidad.
- de Ridder, S., van der Kooy, F., & Verpoorte, R. (2008). *Artemisia annua* as a self-reliant treatment for malaria in developing countries. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 302–314. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.09.017>
- Del Prado Abellán, Anselmo. Polivinilpirrolidonas aminadas: síntesis, caracterización y aplicaciones en los campos biomédico y tecnológico. Tesis doctoral, Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros, Madrid, 2016.
- Díaz, A. Consecuencias fisiológicas de la oxidación de proteínas por carbonilación en diversos sistemas biológicos *Tip Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 9, núm. 1, 2006, pp. 34-44 Universidad Nacional Autónoma de México Distrito Federal, México
- Enrico Capuzzi, Paolo Ossola, Alice Caldiroli, Anna Maria Auxilia, Massimiliano Buoli. Malondialdehyde as a candidate biomarker for bipolar disorder: A meta-analysis. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. Volume 113, 2022, 110469, ISSN 0278-5846. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2021.110469>.
- Favela-Hernández, J., Clemente-Soto, A., Balderas-Rentería, I., Garza-González, E., & Camacho-Corona, M. (2015). Potential Mechanism of Action of 3'-Demethoxy-6-O-demethyl-isoguaiacin on Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *Molecules*, 20(7), 12450–12458. <https://doi.org/10.3390/molecules200712450>
- Fotografía de naturaleza Montarano. http://www.fotomontaro.com/flora/astera/artemisia_cina04.shtml 221066. Asteráceas. *Artemisia cina* Berg ex Poljakov Canon EOS 40D, Sigma AF APO Macro 150 mm f/2.8 EX DG, ISO 200. de Kazajstán, estepa de Bugun-Shajan
- Genovese, R. F., & Newman, D. B. (2008). Understanding artemisinin-induced brainstem neurotoxicity. *Archives of Toxicology*, 82(6), 379–385. <https://doi.org/10.1007/s00204-007-0252-z>
- Gómez Zaldívar FJ, Leyva Gómez G. Desarrollo y caracterización de un hidrogel a base de elastina y polivinilpirrolidona k30 mediante irradiación

gamma para acelerar el proceso de reparación de heridas [Internet]. 2020 [cited 2023 Jun 20]. Available from: <https://search-ebSCOhost-com.pbidi.unam.mx:2443/login.aspx?direct=true&db=cat02029a&AN=tes.TES01000800915&lang=es&site=eds-live>

- González-Torres, J. A. (2019). Efecto de las fracciones obtenidas a partir del extracto etanólico de *Artemisia cina* en jerbos (*Meriones unguiculatus*) infectados con *Haemonchus contortus*.
- Gorzalczany, et al(1999). Oral acute toxicity assay of Argentine medicinal plants. *Acta Farmacéutica Bonaerense*.(18 (3)).
- Guzmán Báez A. Pacheco-Sánchez V. Efecto de la suplementación con selenio sobre biomarcadores de estrés oxidativo en plasma y eritrocitos de cabras antes y después del parto. 2021. Tesis para obtener el grado de Médico Veterinario Zootecnista. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Hegazy, A; Mostafa, I, et al,. Robusta actividad antiviral del extracto de flor de Santonica (*Artemisia cina*) contra los virus de la influenza A aviar y humana: estudios *in vitro* y quimioinformáticos. *ACS Omega* 2022 7 (45), 41212-41223. DOI: 10.1021/acsomega.2c04867
- Hernández Pérez, A., Campos Montiel, R. G., López Palestina, C. U., Hernández Fuentes, A. D., & Juárez Maldonado, A. (2022). Plantas medicinales de la familia *Asteraceae* con actividad hipoglucemiante en México. Una revisión. *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, 8(16), 14–17. <https://doi.org/10.29057/icap.v8i16.8274>
- Higuera-Piedrahita, R. I. (2016). Efecto de *Artemisia cina* 30CH y *Artemisia cina* en extracto etanólico contra la infección natural e inducida por *Haemonchus contortus*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Higuera-Piedrahita, R. I., Dolores-Hernández, M., Cruz-Cruz, H. A. de la, López-Arellano, R., Gives, P. M., Olmedo-Juárez, A., Cuéllar-Ordaz, J. A., González-Cortazar, M., Ble-González, E. A., López-Arellano, M. E., & Zamilpa, A. (2023). 3'-Demethoxy-6-O-Demethylisoguaiacin and Norisoguaiacin Nematocidal Lignans from *Artemisia cina* against *Haemonchus contortus* Infective Larvae. *Plants*, 12(4), 820. <https://doi.org/10.3390/plants12040820>
- Higuera-Piedrahita, R. I., Dolores-Hernández, M., de la-Cruz-Cruz, H. A., Andrade-Montemayor, H. M., Zamilpa, A., López-Arellano, R., González-Garduño, R., Cuéllar-Ordaz, J. A., Mendoza-de-Gives, P., & López-Arellano, Ma. E. (2022). An *Artemisia cina* n-hexane extract reduces the *Haemonchus contortus* and *Teladorsagia circumcincta* fecal egg count in naturally infected periparturient goats. *Tropical Animal Health and Production*, 54(2), 95. <https://doi.org/10.1007/s11250-022-03103-z>
- Higuera-Piedrahita, R. I., Dolores-Hernández, M., Jiménez-Pérez, L. G., Camacho-Enríquez, B. C., Zamilpa, A., López-Arellano, R., Mendoza-de-Gives, P., Cuéllar-Ordaz, J. A., & López-Arellano, M. E. (2021). *In Vitro* Nematocidal Effect and Anthelmintic Activity of *Artemisia cina* Against *Haemonchus contortus* in Gerbils and Relative Expression of Hc29 Gene in Transitional Larvae (L3–L4). *Acta Parasitologica*, 66(3). <https://doi.org/10.1007/s11686-021-00364-w>
- Irum, S., Ahmed, H., Mukhtar, M., Mushtaq, M., Mirza, B., Donskow-Łysoniewska, K., Qayyum, M., & Simsek, S. (2015). Anthelmintic activity of *Artemisia vestita* Wall ex DC. and *Artemisia maritima* L. against *Haemonchus contortus* from sheep.

- Veterinary Parasitology, 212(3–4), 451–455.
<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.06.028>
- Jeschke, E., Ostermann, T., Lüke, C., Tabali, M., Kröz, M., Bockelbrink, A., Witt, C. M., Willich, S. N., & Matthes, H. (2009). Remedies Containing *Asteraceae* Extracts. *Drug Safety*, 32(8), 691–706. <https://doi.org/10.2165/00002018-200932080-00007>
- Kamaraj, C., Ragavendran, C., Kumar, R. C. S., Ali, A., Khan, S. U., Mashwani, Z. ur-R., Luna-Arias, J. P., & Pedroza, J. P. R. (2022). Antiparasitic potential of asteraceae plants: A comprehensive review on therapeutic and mechanistic aspects for biocompatible drug discovery. *Phytomedicine Plus*, 2(4), 100377. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100377>
- Kasmiyati, S., Kristiani, E., Herawati, M. y Sukmana, A. (2021). Actividad antibacteriana y contenido de flavonoides de *Artemisia cina Berg*. Extractos de acetato de etilo ex Poljakov. *Biosaintifika: Revista de Biología y Educación en Biología*, 13 (1), 106-112. doi: <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v13i1.27665>
- Konno, C., Xue, H.-Z., Lu, Z.-Z., Ma, B.-X., Erdelmeier, C. A. J., Che, C.-T., Cordell, G. A., Soejarto, D. D., Waller, D. P., & Fong, H. H. S. (1989). 1-Aryl Tetralin Lignans from *Larrea tridentata*. *Journal of Natural Products*, 52(5), 1113–1117. <https://doi.org/10.1021/np50065a031>
- Lans, C., Turner, N., Khan, T., & Brauer, G. (2007). Ethnoveterinary medicines used to treat endoparasites and stomach problems in pigs and pets in British Columbia, Canada. *Veterinary Parasitology*, 148(3–4), 325–340. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2007.06.014>
- Liu, T., Sun, L., Zhang, Y., Wang, Y., & Zheng, J. (2022). Imbalanced GSH/ROS and sequential cell death. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 36(1). <https://doi.org/10.1002/jbt.22942>
- Mahmoud, W., Abd-Elgawad, E., Mesallam, D., El-Serafy, T. Malondialdehído sérico como predictor del deterioro cognitive postacv en pacientes con acv. *Zagazig University Medical Journal*, 2022 ; 28(6.2): 326-332. doi: 10.21608/zumj.2020.30794.1859
- Maldonado Saavedra, Octavio, Ramírez Sánchez, Israel, García Sánchez, José Rubén, Ceballos Reyes, Guillermo Manuel, & Méndez Bolaina, Enrique. (2012). Colesterol: Función biológica e implicaciones médicas. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 43(2), 7-22. Recuperado en 23 de febrero de 2024, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000200002&lng=es&tlng=es.
- Martínez Sánchez, L. M., Martínez Domínguez, G. I., Gallego González, D., Vallejo Agudelo, E. O., Lopera Valle, J. S., Vargas Grisales, N., & Molina Valencia, J. (2014). Uso de terapias alternativas, desafío actual en el manejo del dolor. *Revista de La Sociedad Española Del Dolor*, 21(6), 338–344. <https://doi.org/10.4321/S1134-80462014000600007>
- Martínez-Sámamo J, Torres-Durán PV, Juárez-Oropeza MA. El glutation y su asociación con las enfermedades neurodegenerativas, la esquizofrenia, el envejecimiento y la isquemia cerebral. *Rev Educ Bioquímica*. 2011;30(2):56-67.
- Melgarejo Pomar, I; et al. (2017). Concentración de malondialdehido en sujetos que residen a gran altitud: estudio exploratorio. . 34(4), 677–681.
- Michaelsen FW, Saeed ME, Schwarzkopf J, Efferth T. Activity of *Artemisia annua* and artemisinin derivatives, in prostate carcinoma. *Phytomedicine*. 2015 Dec

- 15;22(14):1223-31. doi: 10.1016/j.phymed.2015.11.001. Epub 2015 Nov 10. PMID: 26655404.
- Mohammed M. Al-Harbi, Shoeb Qureshi, Mohammad M. Ahmed, Mohammad Raza, Ghulam A. Miana, Arif H. Shah, Studies on the Antiinflammatory, Antipyretic and Analgesic Activities of Santonin. Japanese Journal of Pharmacology. Volume 64, Issue 3,1994. Pages 135-140. ISSN 0021-5198. <https://doi.org/10.1254/jjp.64.135>.
- Montes Zaragoza, L. A. (2015). Propiedades terapéuticas del género *Artemisia* presente en Tijuana, uso y alternativa económica en población de escasos recursos. Universidad Autónoma de Baja California.
- Mota Lugo, E. (2022). Efecto protector de una dispersión de curcumina contra la toxicidad inducida por benzo-[A]-pireno en un modelo de rata. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Muñiz, P. C. M. J. T. J. (2014). Estrés oxidativo y daño vascular en procesos de hipoxia. Malondialdehído (MDA) como biomarcador de daño oxidativo. Revista Electrónica de Biomedicina, 2, 46–49.
- Murphy, M; Srivastava, R. Clinical biochemistry: An illustrated colour text 6th edition. Elsevier, 2019. <https://www-bibliotechnia-com-mx.pbidi.unam.mx:2443/portal/visor/web/visor.php>
- OECD, "Guideline for testing of chemicals.AcuteOral Toxicity- Fixed Dose Procedure. Guideline 420," 2001.
- OECD. (2023). OECD.
- Pacheco Marín R, Krötzsch Gómez FE. Efecto de la colágena-polivinilpirrolidona sobre la expresión de integrinas en cultivos tridimensionales de fibroblastos [Internet]. 2010 [cited 2023 Jun 20]. Available from: <https://search-ebSCOhost-com.pbidi.unam.mx:2443/login.aspx?direct=true&db=cat02029a&AN=tes.TES01000653783&lang=es&site=eds-live>
- Phytomedicine. Volume 22, Issue 14. 2015. Pages 1223-1231. ISSN 0944-7113.<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2015.11.001>
- Ramírez Alejandro, Reyes Tatiana, Liberona Leonel, Bustamente Andrea, Sáez Claudia, Borzone Gisella. Metabolismo del glutatión y desarrollo posnatal del pulmón de la rata. Rev. méd. Chile [Internet]. 2007 Jul [citado 2023 Jun 05] ; 135(7): 896-903. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872007000700010&lng=es. <http://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872007000700010>.
- Ríos Phillips, C., editors. <i>Manual de patología clínica en animales de compañía</i>. Ril editores, 2019. <i>Digitalia</i>, <https://www-digitaliapublishing-com.pbidi.unam.mx:2443/a/65552>
- Rodríguez Patiño, G. (2013). Estudio del efecto de la suplementación de selenio sobre biomarcadores de estrés oxidativo en plasma de cabra . Universidad Nacional Autónoma de México.
- Rojas, L; et al. (2022). Histopatología y concentración de TBARS del músculo esquelético en ratas recién nacidas expuestas a hiperoxia y el efecto protector de la taurina. Acta Microscópica, 31(1), 1–12.
- Roldan, Elia. (2016). Introducción a la toxicología, UNAM, FES Zaragoza.
- Sakipova, Z., Giorno, T. B. S., Bekezhanova, T., Siu Hai Wong, N., Shukirbekova, A., Fernandes, P. D., & Boylan, F. (2020). Pharmacological Evaluation of *Artemisia cina*

- Crude CO₂ Subcritical Extract after the Removal of Santonin by Means of High Speed Countercurrent Chromatography. *Molecules*, 25(12), 2728. <https://doi.org/10.3390/molecules25122728>
- Valdovinos-Flores, María E. Gonsebatt. The role of amino acid transporters in GSH synthesis in the blood–brain barrier and central nervous system, *Neurochemistry International*. Volume 61, Issue 3, 2012. Pages 405-414. ISSN 0197-0186. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2012.05.019>.
- Van Agtmael, M. (1999). Artemisinin drugs in the treatment of malaria: from medicinal herb to registered medication. *Trends in Pharmacological Sciences*, 20(5), 199–205. [https://doi.org/10.1016/S0165-6147\(99\)01302-4](https://doi.org/10.1016/S0165-6147(99)01302-4)
- Villaseñor, J. L. (2018). Diversidad y distribución de la familia *Asteraceae* en México. *Botanical Sciences*, 96(2), 332–358. <https://doi.org/10.17129/botsci.1872>
- Wilhelm Michaelson, Mohamed E.M. Saeed, Jörg Schwarzkopf, Thomas Efferth, Zhang, H., Liu, C., & Zheng, Q. (2019). Development and application of anthelmintic drugs in China. *Acta Tropica*, 200, 105181. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2019.105181>



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
COMITÉ INTERNO PARA EL CUIDADO Y USO
DE LOS ANIMALES EN EXPERIMENTACIÓN
CICUAE-FESC
OFICIO: FESC/CICUAE/12/06/2022

DRA. ROSA ISABEL HIGUERA PIEDRAHITA
ACADÉMICA DE LA FES-CUAUTITLÁN
P R E S E N T E

En respuesta a la solicitud de revisión de su proyecto de experimentación por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Experimentación (CICUAE-FESC) y una vez que su protocolo de experimentación fue revisado por el pleno del comité el 15 de junio del presente, el comité le hace las siguientes observaciones:

Nombre del protocolo:

“Evaluación del efecto tóxico del extracto n-hexánico de Artemisa cina y cinaguaiacina sobre los parámetros bioquímicos en sangre y alteraciones anatomopatológicas en ratas Wistar, después de su administración por vía oral”

Clave de registro CICUAE-FESC C 22_06.

Observaciones:

1. Punto número 6. Justificar el número de animales.
2. Homologar la edad de los animales entre el formulario y el protocolo en extenso.
3. Punto 7. Especificar las condiciones de alojamiento, (temperatura, humedad relativa, densidad de población, tamaño y tipo de jaulas etc.).
4. Punto 10. Determinar el punto final humanitario de por el que se deberá terminar con el sufrimiento innecesario de los animales.

Dictamen: APROBADO CON OBSERVACIONES

Se le solicita atender las observaciones anteriormente señaladas para que pueda dar inicio a su protocolo experimental.

Sin otro en particular, le envío un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Cuautitlán Izcalli Estado de México a 20 de junio de 2022.

SECRETARIO DEL CICUAE-FESC

M. en C. CRISÓFORO MERCADO MÁRQUEZ.
C.c.p. Archivo CICUAE-FESC
CMM/cmm



Anexo 2. Principales plantas de la familia Asteraceae con posible actividad hipoglucemiante en México.

Nombre científico	Nombre común	Partes de la planta utilizada
<i>Ageratina petiolaris</i>	Hierba del ángel	Partes aéreas
<i>Ageratum conyzoides</i>	Hierba dulce	Partes aéreas
<i>Ambrosia artemisiifolia</i>	Artemisa	Partes aéreas
<i>Artemisia absinthium</i>	Ajenjo	Hojas
<i>Artemisia ludoviciana</i>	Estafiate	Partes aéreas
<i>Artemisia vulgaris</i>	Ajenjo	Hojas
<i>Bidens aurea</i>	Té de milpa	Partes aéreas
<i>Bidens leucantha</i>	Rosilla	Partes aéreas
<i>Bidens odorata</i>	Aceitilla	Partes aéreas
<i>Bidens pilosa</i>	Aceitilla	Partes aéreas
<i>Brickellia cavanillesii</i>	Prodigiosa	Partes aéreas
<i>Brickellia squarrosa</i>	Amula	Partes aéreas

<i>Calea hypoleuca</i>	Prodigiosa	Partes aéreas
<i>Calea integrifolia</i>	Prodigiosa	Tallos
<i>Chromolaena bigelovii</i>	Ambula	Partes aéreas
<i>Cirsium mexicanum</i>	Cardo santo	Raíz
<i>Cirsium raphilepis</i>	Cardo santo	Flores
<i>Conyza filaginoides</i>	Simonillo	Partes aéreas
<i>Conyza gnaphalioides</i>	Cimonillo	Hojas
<i>Cynara scolymus</i>	Alcachofa	Flores

Tomado de (Hernández, 2022)

Anexo 3. Ensayos disponibles en la OECD para la evaluación de toxicidad de fármacos

Guía OECD	Nombre de guía	Animal
402	Toxicidad dérmica	Ratas de 8 a 10 semanas
403	Toxicidad aguda por inhalación	Ratas de 8 a 10 semanas
404	Corrosión e irritación dérmica aguda	Conejos
405	Corrosión e irritabilidad aguda	Conejos
406	Sensibilización dérmica	Cobayos
407	Toxicidad oral sub crónica	Ratas
409	Toxicidad oral en no roedores con repetición de dosis en 90 días	Cualquier mamífero excepto roedores
410	Toxicidad dérmica con repetición de dosis	Ratas, conejos o cobayos
411	Toxicidad sub crónica dérmica	Cobayos
412	Toxicidad por inhalación	Ratas de 7 a 9 semanas
413	Toxicidad sub crónica por inhalación	Ratas de 7 a 9 semanas
414	Toxicidad prenatal del desarrollo	Ratas o conejos
415	Toxicidad reproductiva	Ratas o ratones

416	Toxicidad en la reproducción	Ratas o ratones
417	Toxico cinética	Ratas
418	Toxicidad oral con repetición de dosis de 90 días	Ratas
418	Neurotoxicidad retrasada por organofosforados después de exposición aguda	<i>Gallus gallus domesticus</i>
419	Neurotoxicidad retrasada por organofosforados con repetición en 28 días	<i>Gallus gallus domesticus</i>
420	Toxicidad oral aguda por dosis fija	Ratas
421	Toxicidad de reproducción y desarrollo	Ratas
422	Toxicidad de reproducción y desarrollo con dosis combinada repetida	Ratas
423	Toxicidad oral aguda	Ratas
424	Neurotoxicidad	Ratas
425	Toxicidad oral aguda con procedimiento <i>up and down</i>	Ratas
426	Neurotoxicidad del desarrollo	Ratas
427	Absorción dérmica	Ratas

429	Sensibilización dérmica por método LLNA con radio marcadores	Ratones de 8 a 12 semanas
433	Toxicidad aguda por inhalación	Ratas
436	Toxicidad aguda por inhalación	Ratas
440	Bioensayo útero- trófico	Ratas
441	Ensayo Hershberger para propiedades androgénicas y anti androgénicas	Ratas
442 A	Sensibilización dérmica por método LLNA sin radio marcadores	Ratones de 8 a 10 semanas
442 B	Sensibilización dérmica por el método LLNA BrdU -ELISA sin radio marcadores	Ratones de 8 a 10 semanas
443	Toxicidad reproductiva	Ratas
451	Carcinogenicidad	Roedores
452	Toxicidad crónica oral, dérmica y por inhalación	Ratas o ratones
453	Carcinogenicidad y toxicidad crónica oral, dérmica o por inhalación	Roedores
474	Micro – núcleos de eritrocitos de mamíferos	Ratas, ratones o cualquier mamífero

475	Geno- toxicidad	Ratas o ratones de 6 a 10 semanas
478	Dosis letal en roedores (DL)	Ratones y ratas
483	Aberraciones de espermatogonios de mamíferos	Ratas o ratones de 8 a 10 semanas
485	Toxicología genética	Ratones
486	Células de hígado de mamífero	Ratas o ratones
488	Mutaciones en genes somáticos y germinales	Ratones
489	Ensayo cometa en mamíferos	Roedores de 6 a 10 semanas