



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

Evaluación Toxicológica de *Trichocereus peruvianus*

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:
OLVERA MACOTELA ROBERTO**

Director de tesis: Dr. Rubén Marroquín Segura

Asesor de tesis: M.C. Maurilio Flores Pimentel

México, D. F. Octubre 2013

Este trabajo recibió el apoyo del proyecto PAPIME-2013 PE203613



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

“La dignidad no consiste en nuestros honores
sino en el reconocimiento de merecer lo que tenemos”

Aristóteles

Agradecimientos

Al finalizar este trabajo lleno de dificultades y gozos, es inevitable que uno no se sienta egocéntrico. Sin embargo, al analizar la magnitud del trabajo, es obvio que sin el apoyo de muchas personas y de la FES Zaragoza, directa o indirectamente, esto no hubiera finalizado.

Debo agradecer a mi madre y a mi padre por su apoyo incondicional, que me brindaron en todo momento, por su cariño, paciencia y el ánimo que me dieron. Gracias.

Un especial reconocimiento a mi director Dr. Rubén Marroquín, mi asesor M.C. Maurilio Flores, el Dr. José Luis A. Mora y la Mtra. Yolanda Flores, gracias por el extensivo interés, las numerosas sugerencias, por compartir su sabiduría, por el ánimo que pusieron en mí y por su confianza depositada; estaré en deuda por siempre.

A mi novia Georgina Marisol Velázquez por su inmenso cariño, por estar a mi lado desde hace mucho y aun seguir juntos en el mismo camino, por todo, te lo agradezco infinitamente.

A mis amigos Alejandro, Ariadna, Alicia, Edgar y Daniel; no cabe duda que sin su ayuda y sin la amistad que me brindaron esto no hubiera sido lo mismo, muchas gracias.

También agradezco a todos mis compañeros del laboratorio que me permitieron estar con ustedes.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

HCN	Ácido Cianhídrico
H ⁺	Ión Hidronio
CN ⁻	Ión Cianuro
O ₂	Oxígeno Molecular
Na ⁺	Ión Sodio
K ⁺	Ión Potasio
ARN	Ácido Ribonucleico
TH	Taninos hidrolizables
TC	Taninos Condensados
ADME	Administración, Distribución, Metabolismo, Excreción
LD ₅₀	Dosis Letal 50
5-HT _{2A}	Serotonina o receptor 5-Hidroxitriptamina tipo 2a
NOM	Norma Oficial Mexicana
Ratón CD-1	Ratón del grupo de diferenciación 1 (Cluster of differentiation)
SPSS	Paquete estadístico para ciencias sociales (Statistical Package for the Social Sciences)
EDTA	Ácido Etilendiaminotetraacético
BUN	Nitrógeno Ureico en la Sangre (Blood Urea Nitrogen)
PBS	Tampón de fosfatos (Phosphate buffered saline)

CONTENIDO

RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	2
2 MARCO TEÓRICO	4
2.1 Plantas tóxicas	4
2.1.1 Principales sustancias químicas presentes en las plantas tóxicas	5
2.1.2 Tratamiento de las plantas para su estudio.....	10
2.1.3 Métodos de extracción de los compuestos activos de una planta	11
2.1.4 Estudios de farmacognosia en las plantas	13
2.2 Toxicología	13
2.2.1 Procesos de exposición a sustancias tóxicas	15
2.2.3 Modelos de estudios toxicológicos en animales.....	18
2.2.4 Prueba de Toxicidad Aguda.....	19
2.2.5 Prueba de Toxicidad Subaguda	19
2.2.6 Prueba de Toxicidad Crónica.....	20
2.2.7 Prueba de Toxicidad Subcrónica	20
2.3 Trichocereus peruvianus	20
2.3.1 Información taxonómica.....	21
2.3.2 Descripción	22
2.4 Modelo Animal.....	26
2.4.1 Ratón CD 1	27

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	29
4 OBJETIVOS	30
4.1 Objetivo general	30
4.2 Objetivos específicos	30
5 HIPÓTESIS	31
6 DISEÑO DE ESTUDIO	31
7 REACTIVOS Y MATERIALES	32
8 MÉTODOS	34
8.1 Trichocereus peruvianus	34
8.1.1 Preparación de la planta	34
8.1.2 Extracción en agua destilada	34
8.1.3 Concentrado del extracto	34
8.2 Manejo de animales experimentales	35
8.3 Técnicas de laboratorio	38
9 RESULTADOS	40
9.1 Extracto	40
9.2 Observación toxicológica	40
9.3 Tratamiento Agudo	41
9.3.1 Análisis estadístico de t-Student para muestras independientes	41

9.3.2 Gráficos de las medias significativas ($p < 0.05$) para el tratamiento agudo	42
9.3.3 Ceruloplasmina	44
9.4 Tratamiento Subcrónico	45
9.4.1 Peso absoluto ganado durante el tratamiento	45
9.4.2 Análisis estadístico de t-Student para muestras independientes	46
9.4.3 Gráficos de las medias significativas ($p < 0.05$) para el tratamiento subcrónico	47
9.4.4 Ceruloplasmina	50
9.4.5 Creatinina, Urea y BUN	50
9.4.6 Biometría Hemática	51
9.4.7 Gráfico de las medias significativa ($p < 0.05$) para el tratamiento subcrónico en de la prueba de HCM	53
10 DISCUSIÓN DE RESULTADOS	54
11 CONCLUSIONES	57
12 PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES	58
15 REFERENCIAS	59
ANEXOS	63
I.- Resultados NO significativos ($p > 0.05$) del ensayo agudo	63
II. Resultados NO significativos ($p > 0.05$) del ensayo subcrónico	64

RESUMEN

Trichocereus peruvianus es un cactus nativo de Perú, popularmente conocido como “antorcha peruana”, se prepara en infusiones para ser utilizado en rituales religiosos y de forma recreativa debido a sus efectos alucinógenos, por lo que se ha vuelto muy popular por crecer rápidamente y por poseer una gran cantidad de alcaloides. El objetivo de este trabajo fue la preparación del extracto acuoso del cactus y la evaluación toxicológica mediante un ensayo agudo y subcrónico en ratones CD1 machos. En cada uno de los estudios se contó con dos grupos; un grupo control dosificado con 0.2 ml de solución salina y otro grupo correspondiente al tratamiento con el extracto. Para el estudio de toxicidad aguda se administró una dosis única de 100 mg/kg con un periodo de observación de 11 días y para el estudio de toxicidad subcrónico, dosis diarias de 50 mg/kg durante un periodo de 30 días. Se analizaron los parámetros observacionales y se evaluaron estadísticamente los resultados de laboratorio como química sanguínea, hematología y morfométricos de los ratones. Los resultados mostraron cambios conductuales como sedación, temor etc., se encontró en el tratamiento agudo una alteración en el peso relativo de bazo y riñón, mientras en el subcrónico causó además alteración en corazón así como una disminución del peso corporal y alteración en el VCM de la hematología realizada en los ratones tratados. Los resultados nos sugieren que la administración oral del extracto, bajo las anteriores condiciones experimentales, presenta actividad tóxica en el modelo animal utilizado.

1 INTRODUCCIÓN

El uso indiscriminado de una gran variedad de plantas, tanto terapéuticas como tóxicas, que se encuentran a nuestro alrededor, ha planteado un gran problema de salud pública, ya que éstas plantas carecen de un análisis toxicológico que indique los posibles daños que puedan producir en el ser humano.

En la actualidad no hay datos estadísticos reales sobre el uso creciente de sustancias psicoactivas en la población, como es el caso de la mescalina, que es un compuesto natural de naturaleza alcaloidea, encontrado en varias especies de cactus como el Peyote (*Lophophora williamsii*), el San Pedro (*Trichocereus pachanoi*) y la Antorcha peruana (*Trichocereus peruvianus*), los cuales han sido descritos como las principales fuentes naturales de éste compuesto.

Trichocereus peruvianus ha ganado gran popularidad en la población por ser un cactus de rápido crecimiento y por tener altas concentraciones de mescalina en comparación con otros cactus, por lo que se ha utilizado actualmente no solo con fines chamánicos, terapéuticos y religiosos propios de la región habitual de ésta planta, sino que también lo han logrado relacionar como una planta psicotrópica, por el gran contenido de alcaloides contenidos en la cactácea.

En nuestro país, no existen regulaciones directas para el uso y manejo de estas plantas, por lo que la población puede conseguir y consumir sin restricción alguna; ello puede generar casos de intoxicaciones así como daños en el organismo, en el individuo que la consuma.

Los estudios de toxicidad que se realizan a los extractos naturales, es una parte vital de la farmacognosia de una planta, ya que el propósito de estos protocolos es evaluar si la sustancia analizada pueda ser dañina o terapéutica.

Con el objetivo de evaluar el efecto tóxico de *Trichocereus peruvianus* se utilizó, en el ratón de la cepa CD1, un modelo de intoxicación agudo observado durante 11 días, y uno subcrónico observado durante 30 días, con una dosis de administración única de 100 mg/kg y una diaria de 50 mg/kg respectivamente.

Para poder medir el daño inducido en el organismo del ratón se evaluaron distintos bio-marcadores de perfil renal como creatinina, urea y BUN (Nitrógeno ureico en sangre), también se determinó la ceruloplasmina, enzima presente en inflamación aguda y de daño hepático, así como una biometría hemática completa que evaluó el daño en bazo y de otras posibles alteraciones.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Plantas tóxicas

A través de la historia, diversas civilizaciones han usado plantas con fines alimentarios, terapéuticos y religiosos, esto ha constituido un pilar de su riqueza cultural que perdura hoy en día. Sin embargo, un aspecto importante, son las diversas sustancias químicas que pueden llegar a afectar la salud del hombre, dado que varios de sus constituyentes pueden ser tóxicos.^{1,2}

Las sustancias químicas producidas por las plantas son el resultado natural que estas tienen para defenderse o repeler organismos herbívoros, mientras que estos compuestos son considerados como metabolitos secundarios de las plantas, en los herbívoros puede llegar a ser sustancias altamente activas.^{3,4}

En base a su origen, los productos naturales se pueden agrupar en dos grandes conjuntos; los productos del metabolismo primario, compuestos que desempeñan un papel esencial en el metabolismo de la planta como las proteínas, ácidos nucleicos, mientras los metabolitos secundarios son compuestos químicos, que parecen no pertenecer a procesos básicos de la planta como por ejemplo el transporte de solutos. Estos compuestos no se encuentran en todas las plantas y parecen ser restringidos a géneros e incluso especies de las plantas. Sus funciones pueden variar desde ser atractivos, en el caso de la polinización, o repelentes de animales, siendo repulsivos o venenosos.³

La toxicidad de las plantas varía de acuerdo con la especie animal, debido al metabolismo enzimático con que cuenta, esta diferencia explica, que mientras en algunas especies la dieta herbívora puede llegar a ser inocua en otras es altamente letal.⁴

El problema generalizado con las plantas terapéuticas es que de acuerdo a su uso por tradición y costumbre, que cada una de las plantas tenga, se recurre a su uso indiscriminado, ya que se tiene el precepto que lo “natural” no representa ningún inconveniente para la salud.

De acuerdo a lo anterior, es importante realizar diferentes estudios, tanto de farmacognosia como fitoquímica a las plantas, en donde se podrá evaluar las propiedades (terapéuticas o tóxicas), así como los compuestos químicos presentes en ellas.⁵

2.1.1 Principales sustancias químicas presentes en las plantas tóxicas

Existe una variedad de metabolitos secundarios que pueden ser producidos por las plantas, de entre estos existen una serie de sustancias químicas que tienen relevancia toxicológica, a continuación se mencionarán algunas sustancias tóxicas y su mecanismo de acción.³

- Glucósidos cianogénicos

Son compuestos que contienen un tipo de azúcar unidos a una aglicona. Por si mismos, los cianoglucósidos no son tóxicos, pero dentro de la planta existen enzimas como la beta-glucosidasa, cuya función es hidrolizar el glucósido y

sintetizar el HCN. Al ingerir la planta se daña su estructura lo que provoca la liberación de las enzimas, iniciando la degradación del sustrato que se encuentra en las células epiteliales de la planta, una vez liberado el HCN, es absorbido rápidamente en el tracto gastrointestinal y en la sangre se disocia en H^+ y CN^- . El ión cianuro forma un complejo muy estable con el hierro, en su forma férrica, de los grupos hemo y del citocromo C oxidasa mitocondrial, como resultado la hemoglobina no puede ceder el oxígeno molecular (O_2) y se bloquea la fosforilación oxidativa respectivamente, lo que puede provocar desde anoxia hasta la muerte celular.^{2.4.5}

- Glucósidos cardiotóxicos

Estas sustancias corresponden a carbohidratos unidos a una aglicona esteroidal (genina), tienen acción sobre el tejido del músculo cardíaco. La genina constituye la parte activa de la molécula, en tanto que los azúcares sirven para modular la acción tóxica de la aglicona debido a la liposolubilidad que el azúcar le infiere. Producen un efecto inotrópico positivo, es decir, aumentan la fuerza de contracción del corazón. La Na^+,K^+ -ATPasa funciona como una bomba de la membrana celular que mantiene las concentraciones bajas de Na^+ y altas las de K^+ , la genina tiende a bloquear la acción de Na^+,K^+ -ATPasa, aumentando los niveles de Na^+ dentro de la célula y por ende de Ca^{2+} intracelular, generando contracciones del miocardio más fuertes y que finalmente puede inducir un paro cardíaco.^{2.5}

- Oxalatos

El ácido oxálico es un ácido dicarboxílico muy frecuente en las plantas tóxicas, forma sales con sodio o potasio, que son cristales insolubles que actúan de forma mecánica causando daño en la cavidad torácica y oral, también forma sales con calcio, magnesio o amonio estas son de naturaleza soluble que se absorben rápidamente en el tracto digestivo. La solubilidad de la sal del ácido oxálico determina el mecanismo de acción y el efecto del oxalato en el organismo, de tal modo que los oxalatos solubles son absorbidos fácilmente de manera sistémica, en la sangre se ionizan liberando ácido oxálico, y con el calcio plasmático se forma oxalato de calcio, pudiendo producir casos severos de hipocalcemia, tetania y eventualmente la muerte. Algunos de los cristales de oxalatos insolubles se pueden incrustar en áreas de la orofaringe, causando severas irritaciones en el individuo que los ingiera.²⁻⁴

- Saponinas

Las saponinas confieren un sabor amargo a la planta, pueden irritar la mucosa, formar espuma en soluciones acuosas, producir hemólisis *in vitro* e *in vivo* (dependiendo de la concentración), formar complejos con ácidos biliares, colesterol y otros 3- β -esteroides, y causan efectos tóxicos en diferentes organismos animales. La hidrólisis de tipo enzimática, ácida y alcalina, de las saponinas produce sapogeninas (esteroidal y triterpenoide) y oligosacáridos (D-glucosa, D-ramnosa, etc.). Las saponinas triterpenoides producen efectos cáusticos sobre la mucosa del tracto gastrointestinal, mientras que las saponinas

esteroidales, en grandes cantidades, causan fotosensibilización hasta una colangiohepatopatía. Los efectos tóxicos de las sapogeninas esteroidales se basa en la conjugación con ácido glucorónico para formar glucorónidos excretados vía biliar, transformadas en formas insolubles, obstruyendo los canalículos por donde fluye la bilis, este cambio produce una retención anormal de la filohetrina responsable de efectos fototóxicos en la dermis desprovista de pigmentación o pelaje.^{2.5}

- Lectinas

Su toxicidad varía dependiendo de la especie de planta de la que provenga la lectina, algunas pueden ser prácticamente inocuas (Maíz), mientras que otras tienen la capacidad de unirse a membranas celulares y producir aglutinación de glóbulos rojos y de otras células plasmáticas (Frijol rojo-*Phaseolus vulgaris*). Estas moléculas están conformadas por dos subunidades, la cadena B (Binding-Unión) corresponde a la aglutinina que se une a los receptores de membrana de la célula, mientras que la cadena A (Active-Activa) corresponde a una enzima con actividad catalítica ARN *N*-glucosidasa, lisando las purinas de los ribosomas que inhibe la síntesis de proteínas, su actividad es tal que solo se necesita de una molécula de la cadena A para destruir una célula. La toxicidad entre las lectinas varía dependiendo si están conformadas solo por la cadena A, incapaz de unirse a la membrana, o las de cadena A y B que son altamente tóxicas. Los principales síntomas incluyen salivación, vómito, diarrea con sangre, etc.^{2.3}

- Taninos

Los taninos no son un tipo de sustancias definidas sino una variedad de compuestos fenólicos, encontrados en extractos de ciertas plantas, capaces de entrecruzarse de forma estable con el colágeno, otras proteínas, polisacáridos, ácidos nucleicos, esteroides, alcaloides y saponinas, que les confiere la capacidad de convertir la piel en cuero; sin embargo, también puede producir efectos adversos sobre la nutrición del organismo que la consuma, gracias a su capacidad astringente y la formación de complejos estables con las proteínas ingeridas en la dieta. Químicamente se dividen en dos grupos principales los hidrolizables (TH), que contienen un carbohidrato central esterificado con ácidos fenólicos carboxílicos y los condensados (TC), son polímeros de flavan-3-ol, unidos entre sí, mediante enlaces carbono-carbono. ^{2,3}

- Mucílagos

Estos compuestos son productos fisiológicos, de naturaleza ácida (ácidos urónicos) o de naturaleza neutra (galactomananas), se encuentran en varias especies de plantas y semillas, entre los principales efectos se encuentran el hipoglucemiante, hipocolestemiante, saciante, laxante y suavizante. La capacidad laxante de los mucilagos es producido por el incremento en la excreción del ión cloro, disminuyendo la absorción de electrolitos y líquido, y así mismo un efecto iónopositivo sobre el peristaltismo del intestino. ³⁻⁵

- Alcaloides

Estos son compuestos orgánicos nitrogenados, encontrados en muchas especies de plantas y que en la presencia de ácidos forman sales solubles, fácilmente absorbibles. En la mayor parte de los casos estos compuestos alteran el sistema nervioso produciendo alucinaciones y ocasionalmente producen daños en el hígado, los cuales se presentan si se usan de forma crónica. Existe una variedad muy extensa de alcaloides con más de 15000 metabolitos diferentes, entre estos se encuentran los de tipo indólico, quinolínicó e isoquinolínicó, diterpénicos, etc., cada uno con diferentes acciones farmacológicas sobre el organismo así como una variedad extensa en el efecto tóxico que producen.^{2.3.5.6}

2.1.2 Tratamiento de las plantas para su estudio

- Identificación de plantas

En cuanto a la recolección de la planta se recomienda que el espécimen deba contener todo o parte de cada una de las estructuras (flor, semillas, tallos, fruto, etc.) que conforman el ejemplar, si es pequeña se deberá recolectar toda, por lo que se debe obtener material suficiente, para su identificación botánica, conservación de referencia futura y de diagnóstico en un laboratorio.

- Secado del material

Sirve para la preservación de los especímenes (tejidos, color, estructuras, etc.) y prevenir su degradación por diferentes agentes. Se deben tomar muestras y prensarlos en papel para no dañarlos.

En el caso de cactáceas y suculentos, debido a la gran cantidad de líquido no es fácil guardar muestras sin alterar sus estructuras, por lo que se recomienda preservarlos en una solución alcohólica y fotografiarse a alta resolución. Estas muestras son enviadas a herbarios con el personal calificado para su debida identificación.

- Tratamiento de la muestra

Para poder realizar diferentes estudios a una planta (toxicidad, actividad inmunomoduladora, efectos hipoglucemiantes, cicatrizantes, identificación de compuestos activos), previamente se debe tener una muestra, moler y generar un extracto que concentre los compuestos dentro de ésta, empleando algún bioensayo que evalúe o determine si la planta contiene compuestos tanto tóxicos como terapéuticos de forma *in vitro* e *in vivo*.^{7.2.3}

2.1.3 Métodos de extracción de los compuestos activos de una planta

La extracción abarca la obtención de una muestra macerada y homogénea, que contiene todas las impurezas presentes en la planta, la formación de un extracto implica tratar de concentrar y purificar algún compuesto en específico, sin embargo el extracto en bruto es un compuesto tanto acuoso como etanólico que permite contener impurezas tales como las grasas, ceras vegetales, taninos, resinas, ácidos orgánicos y oxálicos.

El método a utilizar depende del estudio que se le vaya a realizar y en base al objetivo que se tenga. Por ejemplo, si tradicionalmente la planta se prepara en soluciones acuosas, se debe mantener condiciones similares en el laboratorio

para el aislamiento de las sustancias, con el fin de dar un resultado más fiable del extracto.

La etnobotánica hace énfasis en este rubro, ya que la usanza de una planta depende mucho de las relaciones intrínsecas entre la especie vegetal y la especie humana, de cada área geográfica, desde las sociedades más iletradas hasta las más avanzadas, es la suma de conocimientos teóricos, empíricos, habilidades practicas basadas en creencias inherentes a cada cultura, etc. las que definen su forma de uso moderno en la sociedad.

En general los métodos extractivos, son procesos que aíslan los principios activos, entre éstos se encuentran la extracción mecánica (producción de un jugo mediante métodos mecánicos), destilación (dispositivos que aíslan componentes por la diferencia de volatilidad de la mezcla), extracción con fluidos en condiciones supercríticas (equipos que trabajan a presión y temperaturas superiores a las normales) y extracción con solventes (obtención de una mezcla entre el principio activo y el solvente y todo depende de las propiedades fisicoquímicas de ambos).

La concentración de extractos se obtiene en la mayoría de los casos eliminando parcial o totalmente el solvente, esto se realiza al vacío mediante un rotavapor que destila el solvente controlando la presión y temperatura o la liofilización que consiste en eliminar el solvente mediante congelación, seguido de una sublimación.

Finalmente los extractos que se obtienen los podemos encontrar como líquidos en donde el principio activo se encuentra solubilizado, son menos estables al

contacto con la luz, los extractos blandos tienen una consistencia cremosa, éstas son mezclas acuosas o hidroalcohólicas muy difíciles de manipular, finalmente los extractos secos, son producto de la evaporación total del solvente, suelen resultar higroscópicos, muy estables y fáciles para la preparación de una muestra a una concentración específica.^{6.7}

2.1.4 Estudios de farmacognosia en las plantas

La disciplina farmacognosia nació a principios del siglo XIX, deriva del griego *Pharmakon* (droga) y *Gignosco* (conocimiento) está íntimamente relacionada con la botánica, la química y la farmacodinamia de los principios activos en las plantas. El término farmacognosia, actualmente, se usa para el perfil farmacológico obtenido de productos naturales, proporcionando una monografía mucho más completa de un sin número de plantas medicinales y tóxicas.

El estudio de la farmacognosia incluye nombre del producto o droga, taxonomía y morfología botánica de la planta de la cual se originó la droga, un estudio farmacológico o terapéutico del compuesto y la composición química de los más importantes constituyentes.^{6.7.8}

2.2 Toxicología

Proviene del griego *toxikon* (arco o flecha), se encarga de estudiar los tóxicos y sus efectos, históricamente la toxicología ha sido la base del tratamiento experimental y terapéutico de la medicina. Está asentada en la observación, la

experimentación y la generación de datos. Tiene la finalidad de relacionar los posibles efectos en humanos en base a estudios hechos en animales.⁸

Esta disciplina comprende el agente tóxico, su origen y propiedades, mecanismos de acción, consecuencias de sus efectos perjudiciales, los métodos analíticos (cualitativos y cuantitativos) que evalúan los daños en el organismo, toma en cuenta los factores que alteran el estudio, etc., por lo que se le considera a la toxicología como una ciencia muy completa.^{7.9}

La palabra tóxico se define como cualquier sustancia que pueda llegar a ser dañinas y producir trastornos en el equilibrio biológico celular, alterando elementos bioquímicos, fundamentales para la vida. Los agentes tóxicos son clasificados de diferente forma, por ejemplo en base al órgano blanco (hepático, cardíaco, etc.), por su uso (pesticida, solvente, alimento), origen (animal o de plantas), o por sus efectos (cancerígeno, mutagénico, etc.).⁹

El término toxina se refiere a compuestos que son producidos por sistemas biológicos como plantas, animales y microorganismos, mientras que el término tóxico es usado para describir compuestos antropogénicos, es decir hechos y usados en actividades humanas.¹⁰

Un concepto importante, dentro de esta disciplina, es la relación dosis-respuesta y se puede ilustrar fácilmente con el uso de una hipotética sustancia química, en donde, a una dosis pequeña se puede tener un efecto terapéutico, mientras que, a una dosis mayor puede generar efectos adversos sobre el mismo organismo y, para poder evaluar esta relación, se debe tener en cuenta, la interacción molecular

entre la sustancia y el receptor, la concentración del agente químico en el sitio receptor y la dosis administrada del agente químico.⁹

Las variaciones de la respuesta dependen en gran medida de las propiedades toxicocinéticas del agente químico, algunos compuestos son absorbidos y distribuidos rápidamente en un gran número de tejidos, sin embargo no afectan a todos ellos. Otro factor, es el tipo de exposición a los tóxicos, al que un individuo u organismo es expuesto y en donde una misma sustancia puede producir diferentes efectos adversos dependiendo del sitio de absorción.¹⁰

2.2.1 Procesos de exposición a sustancias tóxicas

Los procesos farmacocinéticos, de las sustancias químicas o xenobióticos, en un organismo, son descritos bajo el acrónimo ADME (Absorción, Distribución, Metabolismo y Excreción) y refieren a fenómenos por los que el compuesto pasará a través de un animal o individuo.^{7.10}

- Absorción

Ésta explica como una sustancia química ingresa en el cuerpo en un periodo de tiempo determinado, la absorción puede describir la cantidad o el porcentaje del que una sustancia química es absorbida y es viable para ser procesado por el animal, usualmente se catalogan las principales rutas de absorción en inhalación, oral y dérmica.

- Inhalación: es la exposición a químicos disueltos en el ambiente e inhalados por el organismo, primeramente el químico puede alcanzar

conductos nasales, y cuando es absorbido puede entrar en la tráquea, bronquios y finalmente alveolos para ser distribuidos por sangre, todo depende de sus propiedades fisicoquímicas, específicamente del coeficiente de partición sangre/gas.

- Oral: las sustancias químicas pueden entrar por el tracto gastrointestinal ya sea por alimentos o agua y depende mucho de sus propiedades fisicoquímicas, por ejemplo, la acidificación estomacal y la degradación enzimática evitan que muchas sustancias se absorban por esta vía; sin embargo, también puede llegar a favorecer su absorción en la mucosa intestinal y después circular en sangre.
- Dérmica: los agentes químicos pueden penetrar distintos estratos de la piel como la capa cornea, también pueden atravesar la gruesa capa de la dermis y hacerse camino a través de las células hasta llegar a los vasos sanguíneos.^{9,10}

- Distribución

Las sustancias químicas que han atravesado las barreras biológicas de un organismo llegan a la sangre en donde tienen la posibilidad de alcanzar a órganos y tejidos, y todo ello depende de ciertos factores como la irrigación de sangre en la zona, la liposolubilidad y la redistribución tisular.

El proceso ha sido descrito como el volumen de distribución (VD), siendo el cociente, la cantidad administrada de un químico (D) entre la cantidad que se encuentra en sangre (CP), en un tiempo determinado (Ecuación 1). Esta relación

no describe en que órgano se llega a acumular la sustancia, sino simplemente muestra el potencial que tiene la sustancia de distribuirse en el cuerpo.^{9.10}

$$VD = \frac{D \text{ (gr)}}{CP \text{ (}\frac{\text{gr}}{\text{mL}}\text{)}}$$

Ecuación 1. En donde VD = volumen de distribución, D = dosis y CP = Concentración plasmática

- **Metabolismo**

El sistema metabólico tiene como función producir metabolitos solubles en agua, fácilmente excretables, algunos órganos tiene la posibilidad de metabolizar algunas de estas sustancias químicas, por ejemplo el hígado, los riñones, el bazo, la piel y el cerebro.

El metabolismo de las sustancias ocurre en varios pasos, se consideran clásicamente dos fases, la primera es la conversión de sustancias apolares y lipofílicas en metabolitos polares e hidrofílicos esto mediante hidrólisis, oxidación o reducción; mientras que en la fase dos, estos metabolitos son conjugados con grupos funcionales con la finalidad de aumentar su solubilidad acuosa. El metabolito final no está obligado a pasar por ambas fases y solamente dependerá de sus propiedades fisicoquímicas.^{9.10}

- **Excreción**

La excreción es la última fase por la que pasa un xenobiótico en el organismo y se refiere a la eliminación de una sustancia química del cuerpo.

La excreción de un xenobiótico se realiza habitualmente por dos rutas:

- La renal: es la vía más común, los glomérulos que se encuentran en el riñón son un sistema complejo dedicado a la filtración de compuestos solubilizados en el plasma, y dependiendo de las propiedades fisicoquímicas de la moléculas, pueden ser excretados por la orina, como en el caso de las moléculas polares, o ser reabsorbidas, como las sustancias lipofílicas.
- La biliar: ésta es quizá la vía más importante en la eliminación de sustancias tóxicas del cuerpo. En el hígado ocurre la biotransformación de las sustancias químicas extrañas (metabolitos y conjugados), el hígado puede impedir que entren estas sustancias a circulación y excretarlas directamente a la bilis, siendo expelidas en la materia fecal, o ser reabsorbidas si las propiedades fisicoquímicas favorecen una recirculación enterohepática.^{9.10}

2.2.3 Modelos de estudios toxicológicos en animales

Los modelos de estudio de toxicidad en animales, son protocolos bien definidos, diseñados para proveer una descripción de los efectos producidos por un compuesto, si estos datos son propiamente calificados, llegan a ser aplicables a modelos humanos.

La exposición de altas dosis de venenos o tóxicos en animales, llega a ser necesario y es considerado un método válido para poder descubrir sustancias dañinas contra el humano.

Este tipo de prácticas experimentales, deben tener ciertas consideraciones, por ejemplo, el modelo animal (rata, ratón, conejo, cobayo, etc.), tipo de administración, la dosis a emplearse y el número de animales usados, para poder obtener datos estadísticos, que puedan llegar a detectar los posibles efectos de los compuestos. Hay que tener en cuenta que los estudios de toxicidad no están diseñados para demostrar que un químico es seguro para la salud, sino para encontrar los posibles efectos tóxicos que éste pueda generar.^{9.10}

2.2.4 Prueba de Toxicidad Aguda

Generalmente es la primera prueba de toxicidad que se le hace a un nuevo químico, y se determina con una sola administración en un organismo, los objetivos de éste estudio proporcionan un estimado de la toxicidad específica de la sustancia, muchas veces es expresado como dosis letal aproximada (LD₅₀), también provee información de los órganos afectados y otras manifestaciones clínicas de toxicidad, identificar las diferentes especies que son susceptibles, así como suministrar información para poder diseñar y escoger la dosis en un estudio subcrónico.^{9.10}

2.2.5 Prueba de Toxicidad Subaguda

Ésta prueba está diseñada para obtener información de la toxicidad de un químico después de haber repetido la dosis, sirviendo para establecer la dosis en el estudio subcrónico, los protocolos tradicionalmente manejan diferentes dosis de los químicos durante 14 días de exposición.^{9.10}

2.2.6 Prueba de Toxicidad Crónica

Es un estudio diseñado de similar forma a la exposición subcrónica, la diferencia radica en que el estudio se prolonga de 6 meses hasta 2 años, si el estudio lo requiere, la selección de la dosis es crítica en éste tipo de estudios ya que se puede llegar a provocar la muerte prematura del animal con una dosis alta. La toxicidad crónica puede llegar a incluir caracterización carcinogénica del compuesto. La verdadera finalidad del estudio es encontrar toxicidad progresiva debido a que la sustancia tóxica se acumula dentro del animal.^{9.10}

2.2.7 Prueba de Toxicidad Subcrónica

La exposición subcrónica, puede manejar diferentes periodos de tiempo, desde 1 a 3 meses, en esta prueba se trata de identificar y caracterizar los órganos afectados, así como determinar los daños en el organismo por el compuesto, después de haber recibido dosis repetidas. En éste tipo de pruebas se realizan evaluaciones hematológicas (eritrocitos, leucocitos, hematocrito, etc.), clínicos (perfiles enzimáticos), urianálisis, etc., esto con el fin de hacer una predicción en relación a la dosis-respuesta en una exposición crónica.^{9.10}

2.3 *Trichocereus peruvianus*

El consumo y utilización de plantas alucinógenas es debido al hallazgo, de la capacidad psicotrópica que poseían algunas plantas, esto pudo haber sido accidental.

En algún momento de cada civilización, estas plantas, se incorporaron voluntariamente a rituales religiosos, chamanismo y curanderismo. En el presente, el uso de las plantas alucinógenas, ha cambiado por la búsqueda de efectos psicotrópicos entre los usuarios, como una forma de diversión.^{11.12}

Actualmente el problema sobre el uso de drogas provenientes de plantas, ha aumentado por lo cual la identificación y estudio sobre los principales compuestos considerados como drogas muchas veces demuestran que su contenido puede llegar a ser inocuo por sí mismo; sin embargo, el problema surge al desconocer muchos otros constituyentes. Muchas de estas plantas crecen en nuestro medio, lo que a menudo las hacen más accesibles, sin coste económico y generalmente su cultivo es permitido.^{12.13}

2.3.1 Información taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Tracheobionta</i>
Filo:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden	<i>Caryophyllales</i>
Familia	<i>Cactaceae</i>
Genero	<i>Trichocereus</i>
Especie	<i>peruvianus</i>
Nombre Científico:	<i>Trichocereus peruvianus</i>



2.3.2 Descripción

Trichocereus peruvianus es originario de Perú, es conocido popularmente como “Antorcha peruana”, “San Pedro Macho”, “Huachuma”, “Aguacolla”, “Cimarrón”, “Gigantón”, “Huando”, etc. y solo superado por el “San Pedro” (*T. Pachanoi*) es una de los cactus más utilizados por el chamanismo debido a sus poderes “divinos”, generalmente se prepara como una bebida llamada “cimora”, ésta induce un estado de trance en el que un poderoso espíritu Inca encarna en el curandero, estas son alucinaciones atribuidas a las propiedades psicoactivas, debido a los alcaloides contenidos en él. Se ha distribuido alrededor de toda América sobre todo en las regiones semiáridas del continente, adquiriendo gran popularidad como cactus ornamental y de consumo de la mescalina por su fácil acceso, cultivo y venta, se desconoce hasta el momento de su toxicidad debido a otros componentes que contiene y que no se le han identificado.^{14.15.16.17}

En cuanto a la medicina tradicional, además de los rituales chamánicos, *Trichocereus peruvianus*, ha sido descrito entre varios autores, que se ha utilizado popularmente como tratamiento para curar afecciones nerviosas de articulaciones, drogodependencias, enfermedades cardíacas e hipertensión, considerado también como anestésico local y de propiedades antimicrobianas y antifúngicas, etc.^{16.17.28}

T. peruvianus fue detallada botánicamente, por primera vez, por Britton & Rose en 1937, incluida en una larga monografía sobre cactáceas, anteriormente se consideraba endémica de Perú, pero, su fácil desarrollo lo han vuelto cosmopolita, desarrollándose a una altitud de 2000 metros sobre el nivel del mar, crece

rápidamente a un tamaño de 4 metros y tiene espinas largas, puntiagudas y duras.^{14.19}

La representación original hecha por Britton & Rose describe a un cactus de numerosas columnas ascendentes de 15 a 20 cm de diámetro, de 6 a 8 costillas anchas y redondeadas de 2 a 2.5 cm de distancia, con espinas de color marrón, con crecimiento en la trompa de flores de color blanco en forma de campana y de aspecto peludo (Figura 1, 2).^{18.19}



Figura 1. Flor de T. peruvianus

Figura 2. Cactus de T. peruvianus

Actualmente las investigaciones no han revelado que el cactus sea tóxico, la indagación sobre éste se ha centrado sobre todo en la concentración de mescalina y compuestos alcaloides con propiedades psicoactivas, por lo que desconoce el daño al organismo que el consumo de este cactus pueda producir. En este sentido, diversos autores han referido que las sustancias químicas perjudiciales

que pudieran encontrarse en los cactus son principalmente alcaloides, glucósidos, saponinas, mucilagos, taninos, nitritos y oxalatos. El consumo crónico de estos compuestos pueden producir una variedad de efectos que van desde afectar el sistema nervioso central, anoxia tisular, irritación gastrointestinal, afección hepática y renal, coagulación de proteínas hasta hipocalcemia aguda.²⁰

Debido a la presencia de tan diversos compuestos, anteriormente mencionados, en el cactus *T. peruvianus* se sospecha que pueda producir daño en el organismo que lo consuma. Y aunque no se ha demostrado que el uso de alcaloides de origen natural, causen adicción fisiológica, el uso etnocultural y popular, lo han transformado en una fuente de drogas de abuso.²⁰

Los principales alcaloides identificados en la planta son la Tiramina, 3-Metoxitiramina, la Mescalina, 2-cloromescalina, 3-4-dimetoxifenetilamina, 4-hidroxi-3-5-dimetoxifenetilamina, en cuanto a la concentración puede llegar a ser más alta que la del cactus San Pedro (*Trichocereus pachanoi*) y similar al del Peyote (*Lophophora williamsii*).²¹⁻²⁵

La mescalina y algunos de sus análogos son los compuestos psicotrópicos más importantes ya que se encuentra en una elevada concentración en relación a los otros alcaloides, se consideran compuestos naturales y derivados fenetilamínicos, tienen una variada acción biológica sobre el organismo.²⁶

Los estudios sobre su actividad en el individuo se dividen en:

- Acción farmacológica

Describe una serie de alteraciones mentales como euforia, aparición de imágenes brillantes y coloreadas, ilusiones, alucinaciones, sinestesias, dificultad de la percepción del espacio-tiempo, desdoblamiento de la personalidad, trastornos afectivos, ansiedad, tensión, miedo y pánico y sin embargo no hay alteración de la conciencia.^{24.28}

- Acción vegetativa.

Promueve un incremento en la presión sanguínea, alteración de la presión cardíaca, arritmia cardíaca, dilatación de las pupilas, elevación de la actividad motora, de la respiración, aumento de la necesidad de evacuar, se menciona una elevación en la producción de glóbulos blancos, transpiración inmediata, variación en la temperatura corporal, temblores, escalofríos, sudoración e hipoglucemia.²⁷

- Farmacocinética

La mescalina, se absorbe fácilmente en el tracto gastrointestinal, su vida media plasmática es de seis horas y atraviesa la barrera hematoencefálica. Entre el 60 y 90 por ciento de la dosis administrada se elimina sin transformar por la orina y el resto en forma de metabolitos, destaca el ácido trimetoxibenzoico y el ácido 3-4-5-trimetoxifenilacético. El 90 por ciento de la dosis se elimina dentro de las veinticuatro horas subsiguientes a la administración. El efecto alucinógeno se

consigue con dosis de 500 mg que comienza al cabo de una a dos horas después de la ingesta y persiste de nueve a doce horas.¹³

Los alucinógenos estimulan receptores 5-HT_{2A}, especialmente aquellos que se expresan en las células piramidales neocorticales. La activación de estos receptores, a su vez, produce un incremento en los niveles corticales de glutamato, presumiblemente a través de una acción mediada por receptores presinápticos desde aferente talámicos. Aunque se acepta que la activación de los receptores 5-HT_{2A} es el factor fisiológico esencial para expresar los efectos farmacológicos agudos que producen los alucinógenos sobre el comportamiento, es posible que la interacción con otros receptores en el sistema nervioso central pueda modular el efecto psicofarmacológico global.²⁸

Con la finalidad de comprender el tipo de intoxicación que se inducirá usando esta cactácea en el Ratón CD1, se podrá valorar si se presenta daño en el organismo. Para poder encontrar una explicación de los posibles efectos se manejarán diferentes modelos en relación a la dosis-efecto por medio de un análisis toxicológico.

2.4 Modelo Animal

El animal de laboratorio de acuerdo a la literatura es aquel organismo usado en la investigación científica, desarrollo tecnológico e innovación, pruebas de laboratorio y enseñanza. El trato, cuidado, uso y manejo de animales de laboratorios está regulado en nuestro país por la NOM-062-ZOO-1999.³⁰

Se han desarrollado y perfeccionado una gran variedad de modelos animales, a fin de cubrir las exigencias de los investigadores para llevar a cabo los experimentos cada vez más sofisticados, entre ellos el ratón es el animal más conocido y utilizado en la mayor parte de los ensayos biológicos, como una agresión, intoxicación o infección experimental, existen más de 478 cepas consanguíneas del ratón, cada una con un uso específico de acuerdo a sus características.^{29.30}

De acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999, la administración de fluidos y sustancias se debe hacer en base a las prácticas clínicas y científicas aceptadas, sin causar estrés o dolor en el animal; así como los métodos utilizados en la eutanasia, deben disminuir al máximo el dolor y estrés, para ello se deben seleccionar métodos específicos de cada especie, y este debe ser realizado a criterio del personal capacitado.³⁰

2.4.1 Ratón CD 1

Las líneas de roedores de laboratorio son el prototipo de líneas genéticas estandarizadas, debido a que presentan características bien definidas entre la población de una especie.

En el caso del ratón CD 1, se originó a partir de ratones suizos, dos machos albinos y siete hembras en una población no consanguínea, en el laboratorio del Dr. Coulon en Suiza. Estos animales fueron exportados a los Estados Unidos de América por la Dra. Clara Lynch del instituto Rockefeller en 1926, desde entonces ha sido ampliamente utilizado en estudios de toxicología, carcinogénesis, evaluaciones reproductivas, etc.²⁹

El ratón de la cepa CD1, representado en la Figura 3, se caracteriza por ser blanco (albino), pequeño, de fácil manejo y altamente reproductivo.



Figura 3. Ratón CD1

3 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad existen diferentes sustancias psicoactivas de origen natural que representan un serio problema de salud pública, debido a que su uso se ha popularizado entre la población juvenil.

Las personas que recurren a productos elaborados a partir de cactus como *Trichocereus peruvianus* desconocen los posibles daños y efectos secundarios a largo plazo que generan a su organismo.

Por otro lado, la población en general, tiene muy arraigado el precepto de que lo natural no tiene efectos nocivos sobre la salud y no existen leyes específicas sobre la utilización de cactus alucinógenos.

El empleo de *Trichocereus peruvianus* como objeto de estudio en este proyecto deriva de la necesidad de conocer los posibles efectos tóxicos ocasionados por este cactus, en un modelo de ratón.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Evaluar la toxicidad en ratones CD1 del extracto obtenido de *Trichocereus peruvianus* mediante la utilización de un modelo de toxicidad.

4.2 Objetivos específicos

- Mediante la extracción acuosa en un rotavapor, obtener finalmente un extracto sólido pulverizado de *Trichocereus peruvianus*.
- Inducir una intoxicación aguda por medio de la administración de una dosis única en un periodo de 11 días.
- Inducir una intoxicación subcrónica por medio de la administración diaria en un periodo de 30 días.
- Evaluar el daño cardíaco, esplénico, hepático y renal mediante diferentes técnicas de análisis de laboratorio.

5 HIPÓTESIS

Consideramos que al emplear un extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus* en un modelo de intoxicación aguda y uno de intoxicación subcrónica, inducido en ratones CD1, encontraremos efectos tóxicos, que podrán ser valorados por medio de índices referentes al peso relativo de los órganos y de algunos bio-indicadores de daño que se encuentren en suero sanguíneo del animal.

6 DISEÑO DE ESTUDIO

- Tipo de Estudio: experimental, prospectivo y longitudinal.
- Población de estudio: ratones CD1.
- Criterios de inclusión: ratones machos, de entre 35 y 40 gr de peso.
- Criterios de exclusión: ratones hembra, o aquellos ratones que desarrollen lesiones o infecciones.
- Variables independientes: tratamiento.
- Variable dependiente: alteraciones en órganos.

7 REACTIVOS Y MATERIALES

REACTIVOS

AGAROSA AL 1 %	Bioxon
AGUA DESTILADA	THEISSIER
ALCOHOL ETÍLICO 70%	J.T. Baker
AZIDA DE SODIO	SIGMA
ÉTER ETÍLICO	J.T. Baker
EXTRACTO DE <i>TRICHOCEREUS PERUVIANUS</i>	Laboratorio 1 PA UMIEZ
PBS (FOSFATO DE SODIO DIBÁSICO)	J.T. Baker
SOLUCIÓN SALINA	PiSA
SUERO DE CONEJO ANTI-CERULOPLASMINA DE RATÓN	Laboratorio 1 PA UMIEZ
SUERO DE RATÓN CD1	Laboratorio 1 PA UMIEZ

EQUIPO

AGITADOR VORTEX	Scientific Industries
BAÑO METABÓLICO 45°C	GCA/PRECISION SCIENTIFIC
BALANZA ANALÍTICA	ae ADAM
BALANZA GRANATARÍA	OHAUS
BASCULA DE DIETA	TECNO COR
CENTRIFUGA EPPENDORF	HERMLE
CONGELADOR	TOR REY
EQUIPO DE QUÍMICA SANGUÍNEA	ILab 600
EQUIPO DE BIOMETRÍA HEMÁTICA	Cell Dyn
ESTUFA	SHEL LAB
MICROPIPETA 5-40 µG	FINNIPETTE

MICROPIPETA 10-100 µG	BIOHIT
PIPETA AUTOMÁTICA	JENCONS
PROCESADOR DE ALIMENTOS	OSTER
REFRIGERADOR	MABE
ROTAVAPOR	YAMATO

MATERIAL

TUBOS EPPENDORF	
EMBUDO	KIMAX
MORTERO CON PISTILO	
EMBUDO BÜCHNER	
GRADILLA	
MATRAZ ERLLENMEYER	KIMAX
PIPETA GRADUADA	KIMAX
MATRAZ KITAZATO	KIMAX
VASO DE PRECIPITADO	KIMAX
TUBO DE ENSAYO	KIMAX
PIPETA PASTEUR	
PAPEL PARAFILM	American National Can
EQUIPO DE DISECCIÓN	Pro-Lab
CÁMARA DE ÉTER	Laboratorio 1 PA UMIEZ
SONDA GÁSTRICA	Laboratorio 1 PA UMIEZ
JAULAS DE HARLAN	Allentown

8 MÉTODOS

8.1 *Trichocereus peruvianus*

Se recibió el cactus de *Trichocereus peruvianus* de la M. en C. Balbina Vázquez Benítez de la FES Zaragoza, quien es experta y responsable del Herbario de plantas xerófilas de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM; la cual cuenta con la facultad y autoridad para clasificar cactáceas.

8.1.1 Preparación de la planta

Se cortó aproximadamente unos 40 cm de tallo de cactus (*T. peruvianus*) y de este se extrajo las espina, con mucho cuidado de no dañarlo, para posteriormente cortarlo en rodajas y se trituró en un procesador de alimentos hasta obtener una mezcla homogénea en agua destilada.

8.1.2 Extracción en agua destilada

Se colocó la mezcla homogénea del cactus en un recipiente de 2 L con tapa durante 24 h para después dejarlo reposar evitando la exposición a la luz y posteriormente ser filtrado por gravedad y a vacío.

8.1.3 Concentrado del extracto

Una vez filtrado el extracto acuoso del cactus peruano, se eliminó el disolvente a vacío en un rotavapor, obteniendo un compuesto de consistencia cremosa con el mínimo de humedad, y se procedió a secar y luego pulverizar. Una vez hecho esto se conservó en refrigeración.

8.2 Manejo de animales experimentales

Se estudió dos grupos de ratones machos (estudio agudo y crónico) de 10 a 15 semanas de edad, de la cepa CD1, mantenidos en condiciones de bioterio durante los ensayos, con controles de ciclos de luz/oscuridad, con cambios cada tercer día de viruta de madera y con fácil acceso al agua y alimento las 24 h.³⁰

El manejo, cuidado y tratamiento de los animales durante el proceso experimental se llevó a cabo de acuerdo con la guía para el cuidado y uso de animales, de la Norma Oficial Mexicana (NOM-062-ZOO-1999).³⁰

- **Modelo de toxicidad agudo**

1. Se administró por sonda gástrica una dosis única (100 mg/kg) del extracto acuoso de *Trichocerus peruvianus* a un grupo de diez ratones CD1.
2. Se observó a los ratones diariamente, durante un periodo de 11 días, para identificar algún efecto tóxico.
3. Después de los 11 días se sacrificó a los animales por medio de un corte en el plexo axilar (previamente anestesiados con éter).
4. Se colectó la sangre en tubos Eppendorf y se centrifugaron las muestras para separar el suero, para evaluar bio-marcadores de los órganos analizados.
5. Se extrajeron los órganos (Hígado, corazón, bazo y riñones) y se pesó cada uno de ellos para obtener la relación de peso órgano/ratón.

6. Por medio del programa SPSS ver. 20 se realizó un análisis estadístico t-Student para identificar diferencias significativas entre las medias de los índices.
7. Dependiendo de los órganos alterados se realizaron los siguientes análisis:
 - En bazo se determinaron parámetros hematológicos (en los animales de intoxicación subcrónica),
 - En riñones se determinaron niveles de urea, creatinina y el BUN.
 - Y se realizó un examen de Ceruloplasmina para medir el grado de daño crónico en los órganos.

- **Grupo Control**

1. Se administró por sonda gástrica una dosis única de 0.2 mL de solución salina isotónica a 10 ratones CD1 y realizar el mismo procedimiento que el grupo tratado.

- **Modelo de toxicidad subcrónico**

1. Se administró por sonda gástrica una dosis de 50 mg/kg del extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus* a un grupo de 15 ratones CD1 durante 30 días, calculándose la dosis cada tercer día en base a la variación peso de cada uno de ellos.

2. Se observó a los ratones diariamente para identificar algún efecto tóxico.
3. Después de los 30 días se sacrificaron los animales por medio de un corte en el plexo axilar (previamente anestesiados con éter).
4. Se recolectaron dos muestras de sangre de cada uno de los ratones, una de ellas con EDTA al 1% para realizar una biometría hemática y la otra para separar suero y realizar perfiles del órgano blanco, así como la determinación de ceruloplasmina.
5. Se extrajeron los órganos (Hígado, corazón, bazo y riñones) y se pesó cada uno de ellos para obtener la relación de peso órgano/ratón.
6. Por medio del programa SPSS ver. 20 se realizó un análisis estadístico t-Student para muestras independientes identificando ($p < 0.005$) entre las medias de los resultados obtenidos.

- **Grupo Control**

1. Se administró por sonda gástrica una dosis diaria por 30 días de 0.2 mL de solución salina isotónica a 15 ratones CD1 y se le realizó el mismo procedimiento que el grupo tratado.

8.3 Técnicas de laboratorio

- **Índices referentes al peso relativo de cada órgano**

- Se pesó a los ratones antes de ser sacrificados.
- Después de sacrificar los animales, se extrajo los órganos (bazo, corazón, hígado y riñón).
- Se pesaron los órganos.
- Y se realizó el siguiente calculo:

$$\frac{\textit{peso del órgano}}{\textit{peso del ratón}} \times 100$$

- **Determinación Enzimática**

Estas determinaciones se realizaron mediante un equipo automatizado ILab 600, que determinó Urea, Creatinina y BUN.

- **Biometría Hemática**

Para el análisis hematológico, se añadió a las muestras sanguíneas de los ratones EDTA al 1% en una concentración 1 en 100, para evitar la coagulación y poder analizarlo en un Cell Dyn que obtuvo una biometría hemática completa.

- **Cuantificación de ceruloplasmina**

Es una inmunoprecipitación en agarosa entre la ceruloplasmina (antígeno del ratón) y su anticuerpo homólogo (anti-ceruloplasmina obtenida en el suero de conejo).

El antígeno se difunde radialmente en la mezcla gel y su concentración se relaciona directamente con la medida del diámetro del anillo de precipitación, el valor obtenido se interpola en una curva estándar

- Se pesó 0.2 g de agarosa, añadir 20 mL de PBS, para obtener una solución al 1% y fundirla en el horno de microondas durante 15 segundos.
- Se colocó en un baño metabólico, a 45°C, 5 tubos de ensayo, y se agregó 2 mL de agarosa al 1%.
- Se agregó a los tubos 150 µL de anti-ceruloplasmina y se agitó en el Vórtex, posteriormente se vació en una placa circular hasta solidificar, posteriormente se perforaron cuatro pocillos con un sacabocado en los puntos cardinales.
- Se colocó en cada pozo 5 µL del suero problema y se dejó reposar a temperatura ambiente 30 minutos, luego se guardó en refrigeración.
- Leer las placas a las 48 horas.

- **Diseño estadístico**

El estudio estadístico de los datos obtenidos se llevó a cabo con el programa SPSS V.20 mediante un análisis t-Student para muestras independientes utilizando una comparación de las medias con una $p < 0.05$, en donde se observaron las diferencias significativas entre ambos grupos (testigos y tratados).

9 RESULTADOS

9.1 Extracto

A partir de una cantidad de 208.2 gr del cactus de *Trichocereus peruvianus* se obtuvo un extracto sólido en polvo que pesó 7.76 gr, determinando finalmente que el rendimiento de extracción fue de 3.7 %.

9.2 Observación toxicológica

En el uso de tratamientos con sustancias alucinógenas se ha observado siempre una conducta errante de una variedad amplia de características como somnolencia, mareo, cansancio, miedo, agitación o hiperactividad. Ante tales eventos, se identificaron los síntomas que presentaban los animales en el tratamiento durante las dosis.

Grupo testigo: Estos ratones solo se les administro una dosis de 0.2 mL de solución salina, por lo tanto fueron apreciados como ratones con comportamiento normal o de referencia.

Grupo tratado: Estos ratones fueron intoxicados con una dosis de 100 mg/kg (test agudo) y múltiples dosis de 50 mg/kg (test subcrónico), en los cuales se identificaron síntomas como miedo, agrupación y cansancio. Estos síntomas fueron desapareciendo gradualmente durante el transcurso de 30 días, indicando una tolerancia progresiva a los efectos del extracto cactáceo.

9.3 Tratamiento Agudo

9.3.1 Análisis estadístico de t-Student para muestras independientes

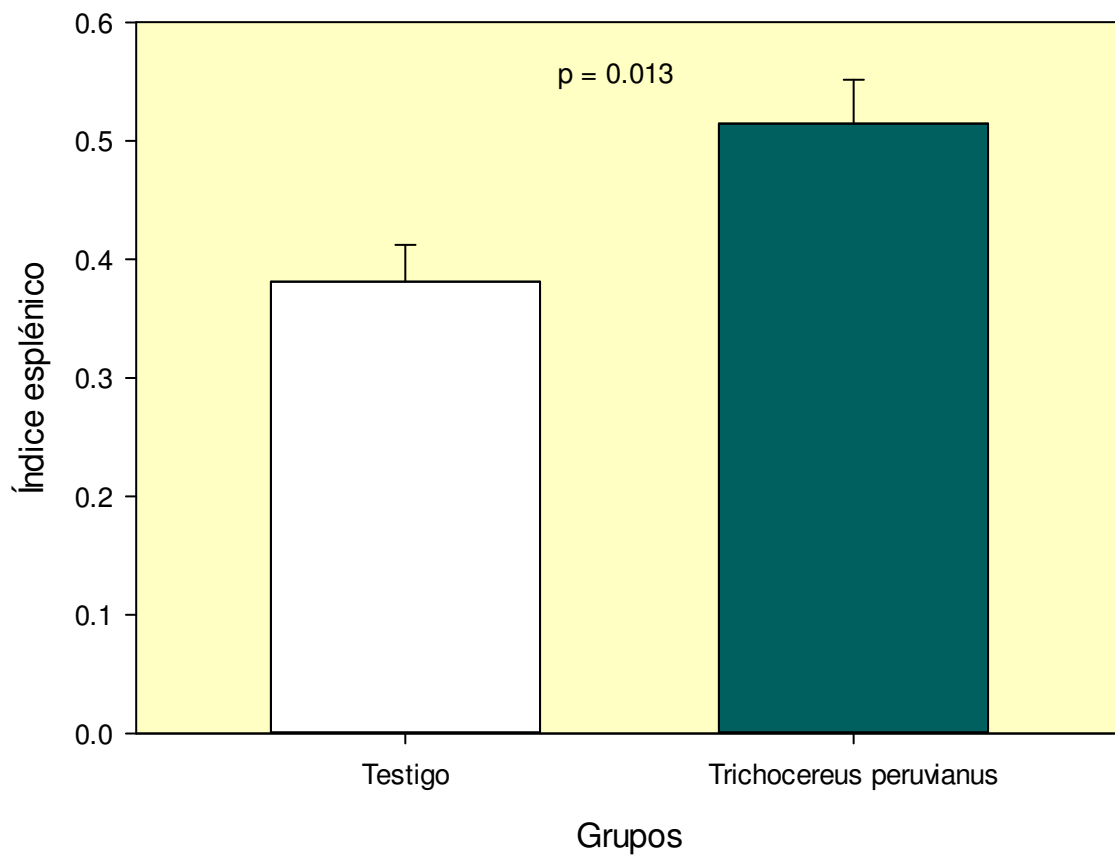
Después de obtener los índices de cada órgano, en los ratones de la prueba de toxicidad aguda, se les realizó un análisis estadístico con el programa estadístico SPSS v20.0 para comparar las medias de los grupos testigo y tratados, en donde se encontraron diferencias significativa (0.013 ; $0.013 < 0.05$).

Índice	Tratamiento	N	Media	Error Típico	Sig. Bilateral
Hepático	Testigo	10	5.844	0.168	0.269
	Tratado	10	6.131	0.187	
Esplénico	Testigo	10	0.381	0.031	0.013
	Tratado	10	0.515	0.037	
Renal	Testigo	10	1.421	0.046	0.013
	Tratado	10	1.616	0.053	
Cardiaco	Testigo	10	0.470	0.023	0.159
	Tratado	10	0.519	0.024	

Tabla 1. Comparación de las medias con respecto al índice de cada órgano analizado mediante t-Student para muestras independientes con una confianza del 95%.

9.3.2 Gráficos de las medias significativas ($p < 0.05$) para el tratamiento agudo

Usando el programa Sigma Plot 12.0 para Windows se obtuvieron las siguientes



graficas:

Gráfico 1. Los valores representan las medias del Índice esplénico en ambos grupos de ratones contrastados con su error típico teniendo para el grupo testigo 0.3813 ± 0.0309 y para el grupo tratado con el extracto de cactus 0.5146 ± 0.0370 .

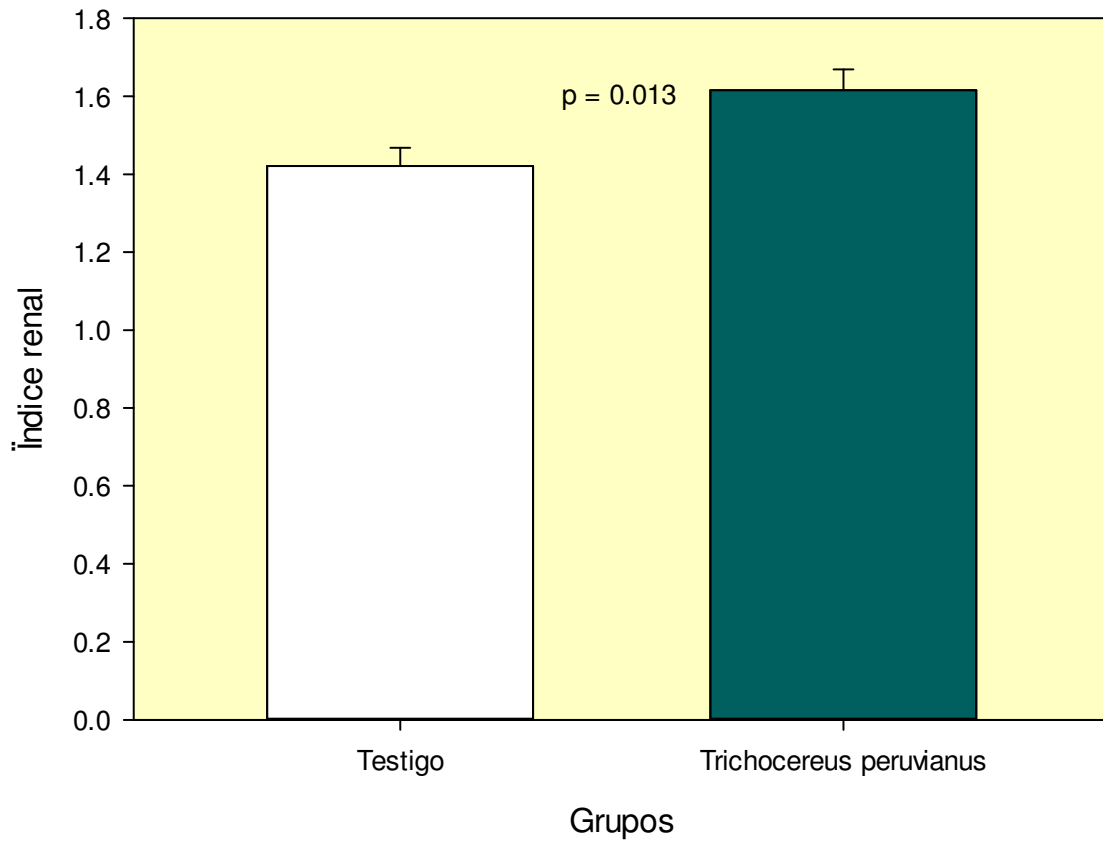


Gráfico 2. Los valores representan las medias del Índice renal en ambos grupos de ratones contrastados con su error típico teniendo para el grupo testigo 1.421 ± 0.0465 y para el grupo tratado con el extracto de planta 1.616 ± 0.0529 .

9.3.3 Ceruloplasmina

La determinación de la enzima de ceruloplasmina se indica en la siguiente Tabla, las medias son el promedio de la reacción antígeno-anticuerpo en una difusión radial, los halos fueron medidos en milímetros de diámetro y con base al valor de significancia analizado no se obtuvo diferencias entre los grupos ($0.369 > 0.005$).

Prueba	Tratamiento	N	Media	Error Típico	Sig. (bilateral)
Ceruloplasmina	Testigo	10	10.5	0.211	0.369
	Tratado	10	10.75	0.171	

Tabla 2. Comparación de las medias con respecto al diámetro obtenido en la prueba de ceruloplasmina mediante un análisis estadístico de t-Student para muestras independientes con una confianza del 95%

9.4 Tratamiento Subcrónico

9.4.1 Peso absoluto ganado durante el tratamiento

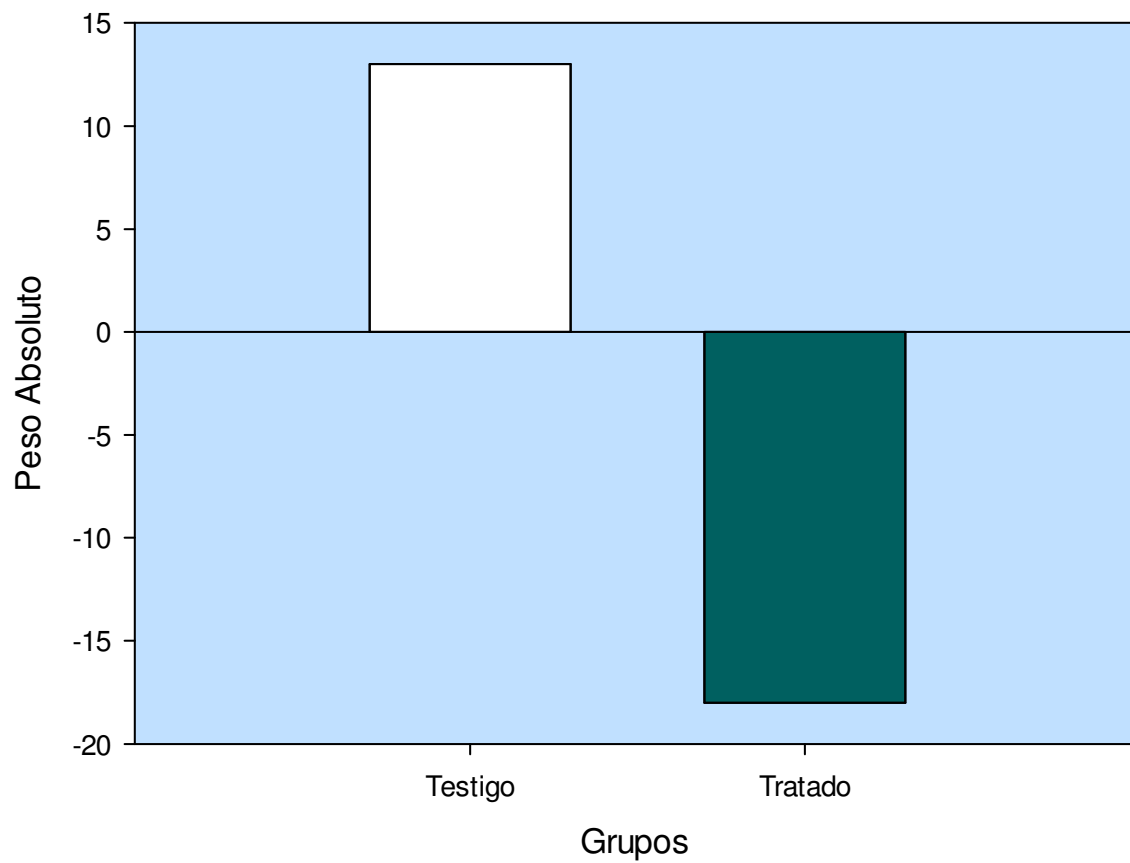


Gráfico 3. Comparación del peso absoluto en ambos grupos de ratones, obtenidos a lo largo del tratamiento subcrónico que tuvo una duración de 30 días, en el cual muestra que el grupo testigo gana un peso neto de 13 gr, mientras que el grupo tratado con el extracto perdió 18 gr.

9.4.2 Análisis estadístico de t-Student para muestras independientes

Se obtuvo los índices de cada órgano, en los ratones en el test de toxicidad subcrónica, de estos se les realizó un análisis estadístico con el programa estadístico SPSS v20.0 para comparar las medias de los grupos testigo y tratados, y con base al valor de significancia evaluado si se encontró diferencias significativas (0.044 ; 0.002 ; $0.017 < 0.05$).

Índice	Tratamiento	N	Media	Error Típico	Sig. Bilateral
Hepático	Testigo	13	5.532	0.114	0.336
	Tratado	15	5.385	0.098	
Esplénico	Testigo	13	0.334	0.016	0.044
	Tratado	15	0.393	0.022	
Renal	Testigo	13	1.310	0.030	0.002
	Tratado	15	1.424	0.018	
Cardiaco	Testigo	13	0.419	0.015	0.017
	Tratado	15	0.463	0.010	

Tabla 3. Comparación de las medias con respecto al índice de cada órgano analizado mediante T-Student para muestras independientes con una confianza del 95% ($p < 0.05$).

9.4.3 Gráficos de las medias significativas ($p < 0.05$) para el tratamiento subcrónico

Usando el programa Sigma Plot 12.0 para Windows se obtuvo las siguientes graficas:

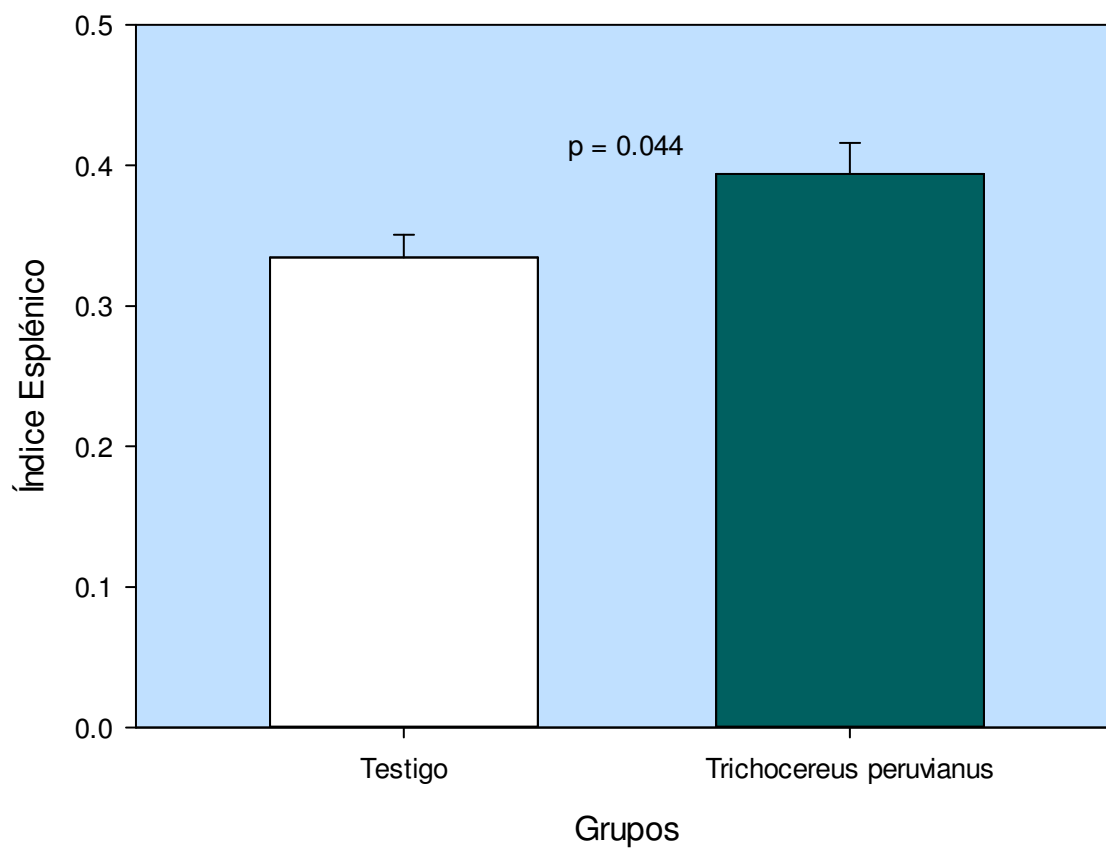


Gráfico 4. Los valores muestran una comparación entre las medias del Índice esplénico en ambos grupos contrastados junto con su error típico teniendo para el grupo testigo 0.3345 ± 0.016 y para el grupo tratado con el extracto de cactus 0.393 ± 0.022 .

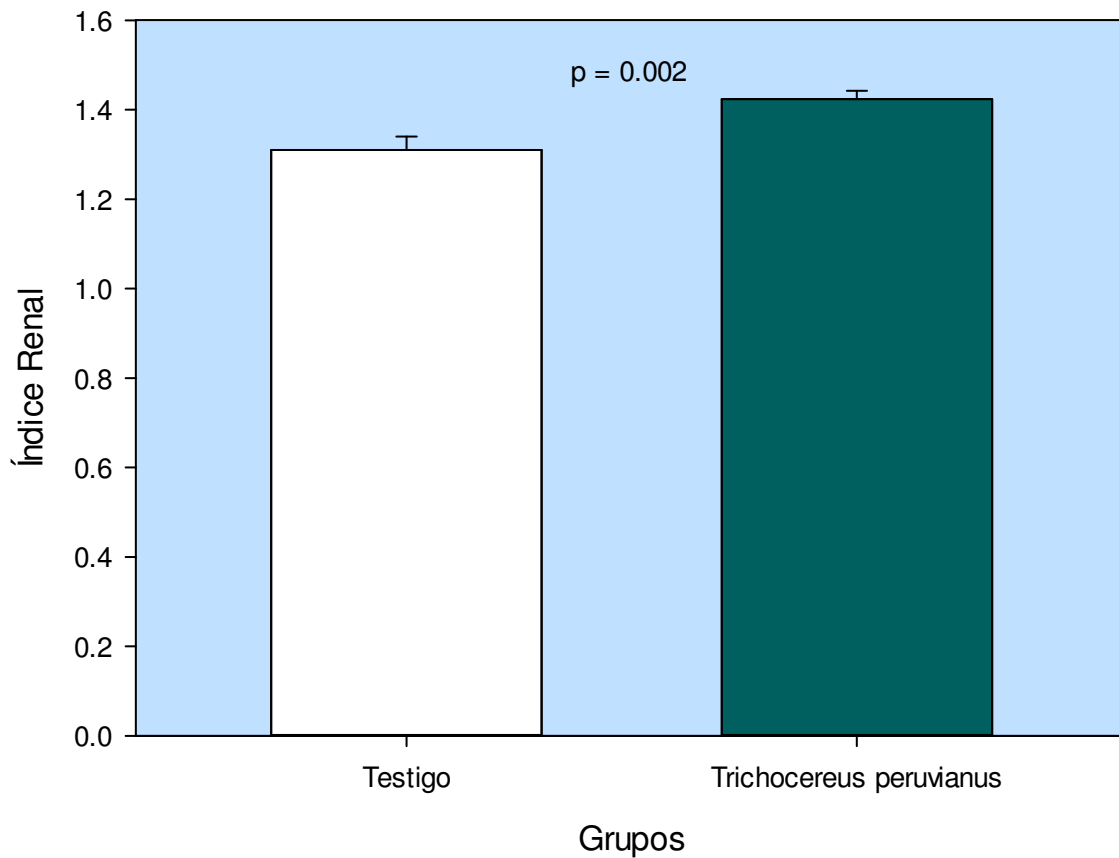


Gráfico 5. Los valores muestran una comparación entre las medias del Índice renal en ambos grupos contrastados junto con su error típico teniendo para el grupo testigo 1.310 ± 0.030 y para el grupo tratado con el extracto de planta 1.424 ± 0.018 .

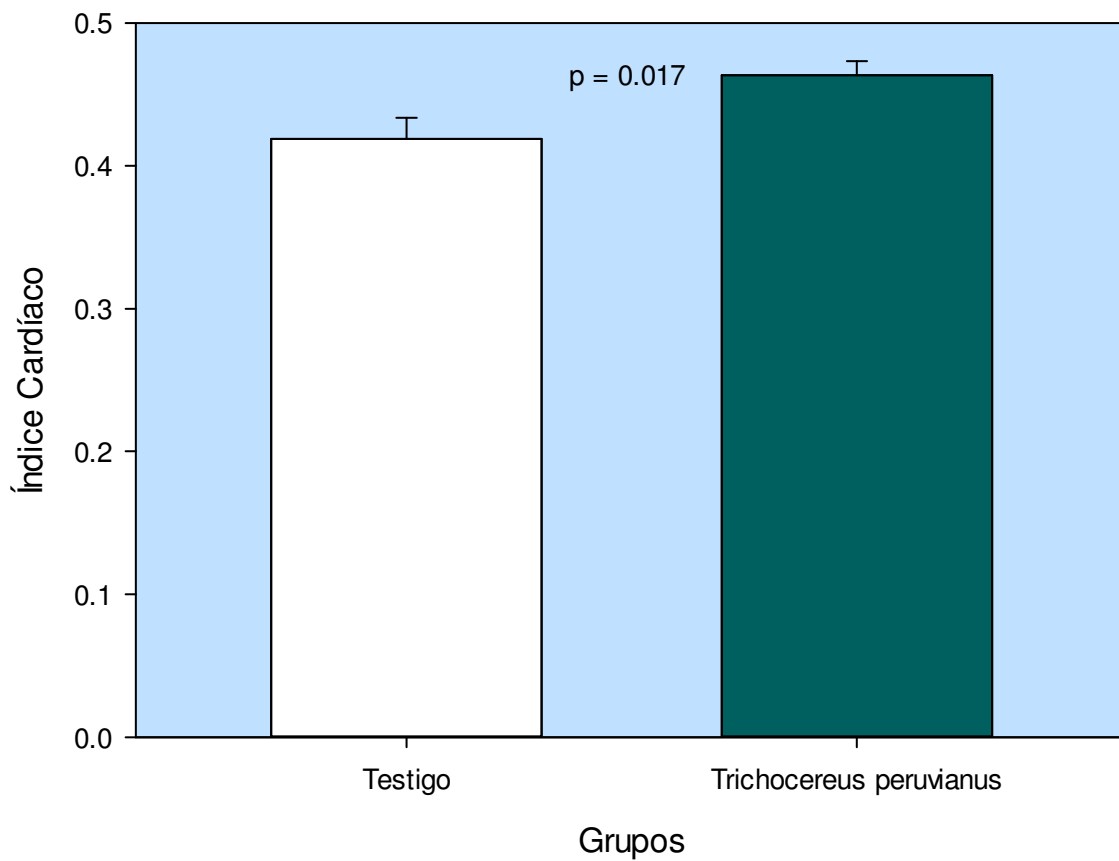


Gráfico 6. Los valores muestran una comparación entre las medias del Índice cardíaco en ambos grupos contrastados junto con su error típico teniendo para el grupo testigo 0.4189 ± 0.0148 y para el grupo tratado con el extracto de planta 0.4634 ± 0.0099 .

9.4.4 Ceruloplasmina

Los datos incluidos en la siguiente Tabla contrastan las medias que equivalen al diámetro correspondiente a la reacción de inmunodifusión radial, evaluada en los grupos de ratones CD1, administrados bajo el tratamiento subcrónico, en la cual el valor de significancia no fue significativa ($0.601 > 0.05$).

Prueba	Tratamiento	N	Media	Error Típico	Sig. (bilateral)
Ceruloplasmina	Testigo	13	10.385	0.101	0.601
	Tratado	15	10.267	0.729	

Tabla 4. Comparación de medias con respecto al diámetro obtenido en la prueba de ceruloplasmina mediante un análisis estadístico de *t-Student* para muestras independientes con una confianza del 95% ($p < 0.05$).

9.4.5 Creatinina, Urea y BUN

Las enzimas creatinina y urea, así como la prueba de nitrógeno ureico en sangre (BUN) son utilizadas en conjunto para contrastar la función renal de los ratones testigos frente a los ratones tratados, a partir de sus muestras sanguíneas obtenidas en el tratamiento subcrónico, detallado en el siguiente análisis estadístico. Con base al valor calculado de significancia no se encontró alguna diferencia entre los grupos analizados ($p > 0.05$).

Prueba	Tratamiento	N	Media mg/dL	Error Típico	Sig. (bilateral)
Creatinina	Testigo	13	0.415	0.032	0.381
	Tratado	14	0.471	0.53	
Urea	Testigo	13	22.615	0.538	0.842
	Tratado	15	22.429	0.739	
BUN	Testigo	13	48.154	1.148	0.409
	Tratado	14	44.873	3.495	

Tabla 5. Comparación de medias con respecto a la concentración obtenida en las pruebas de creatinina, urea y BUN, mediante un análisis estadístico de *t*-Student para muestras independientes con una confianza del 95% ($p < 0.05$).

9.4.6 Biometría Hemática

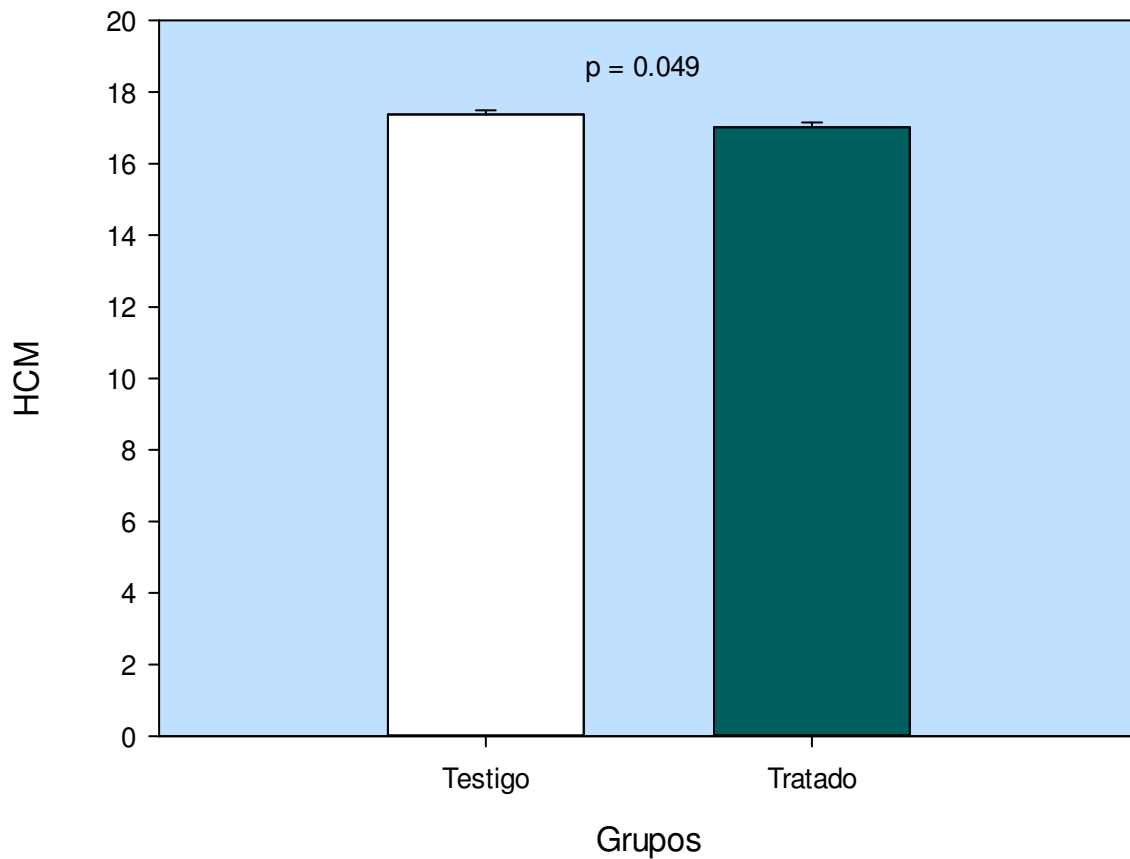
La siguiente Tabla muestra los datos obtenidos a partir de las muestras sanguíneas, para contrastar los grupos testigo y tratado con la finalidad de determinar si existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en los siguientes parámetros hemáticos.

Prueba	Tratamiento	N	Media	Unidades	Error Típico	Sig. (bilateral)
Leucocitos	Testigo	13	3.134	$\times 10^3 / \mu\text{L}$	0.349	0.561
	Tratado	15	2.881		0.262	
Neutrófilos	Testigo	13	0.184	%Leucos	0.061	0.607
	Tratado	15	0.231		0.068	

Linfocitos	Testigo	13	74.854	%Leucos	5.593	0.685
	Tratado	15	77.433		3.310	
Monocitos	Testigo	13	7.623	%Leucos	2.430	0.547
	Tratado	15	5.945		1.466	
Eosinófilos	Testigo	13	0.232	%Leucos	0.073	0.710
	Tratado	15	0.305		0.168	
Basófilos	Testigo	13	17.238	%Leucos	3.472	0.790
	Tratado	15	16.133		2.365	
Eritrocitos	Testigo	13	7.855	$\times 10^6 / \mu\text{L}$	0.068	0.917
	Tratado	15	7.841		0.109	
Hemoglobina	Testigo	13	13.354	g / dL	0.193	0.346
	Tratado	15	13.620		0.196	
Hematocrito	Testigo	13	40.892	% V/V	0.566	0.407
	Tratado	15	41.587		0.589	
VCM	Testigo	13	51.162	fL / Eri	0.368	0.705
	Tratado	15	50.920		0.493	
HCM	Testigo	13	17.380	pg / Eri	0.117	0.049
	Tratado	15	17.023		0.127	
CHCM	Testigo	13	32.615	g / dL	0.075	0.134
	Tratado	15	32.760		0.059	
RDW	Testigo	13	18.708	%	0.220	0.834
	Tratado	15	18.627		0.301	
Plaquetas	Testigo	13	606.923	$\times 10^3 / \mu\text{L}$	35.615	0.435
	Tratado	15	572.26		26.565	

Tabla 6. Comparación de medias con respecto a los datos obtenidos en la Biometría Hemática mediante un análisis estadístico de *t*-Student para muestras independientes con una confianza del 95% ($p < 0.05$).

9.4.7 Gráfico de las medias significativa ($p < 0.05$) para el tratamiento subcrónico en de la prueba de HCM



HCM: Hemoglobina corpuscular media.

Gráfico 7. Los valores representan las medias del hemoglobina corpuscular media (HCM) contrastando ambos grupos de ratones junto con su error típico, teniendo para el grupo testigo 17.380 ± 0.117 y para el grupo tratado con el extracto de cactus 17.023 ± 0.127 .

10 DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Actualmente la forma de uso del cactus, como droga de abuso, como ya se había explicado es una infusión, de tal manera que se decidió preparar un polvo a partir de una extracción acuosa de la cactácea en el laboratorio.

El estudio de farmacognosia que se realizó a la planta de tipo cactácea, *Trichocereus peruvianus*, tuvo como interés específico evaluar los efectos tóxicos que generó en el ratón CD1, inducido en la administración oral por sonda gástrica y se evaluaron los dos tipos de tratamientos: agudo y subcrónico.

La dosis de 100 mg/kg de extracto, administrada en el tratamiento agudo, no produjo la muerte de ningún ratón tratado, por lo que se sugiere que la DL50 está muy por encima de esta dosis.

Un indicador importante en la determinación de la toxicidad de cualquier sustancia lo constituye la determinación de manifestaciones clínicas, ya que es posible determinar daños asociados a lesiones en sistemas de órganos, que traen por resultado alteraciones en sus funciones.³¹

En este sentido en el modelo agudo no se observaron signos de daño como lo son baja de peso, salivación, convulsiones o ataxia, sin embargo si se observaron cambios de conducta reversibles como miedo, agrupación y cansancio, efectos que se perdieron en un lapso de 30 minutos, tiempo en el cual se comportaron como los ratones testigos, este cuadro clínico se explica como el producto a la exposición con el extracto del cactus con propiedades psicotrópicas. Mientras en el modelo de intoxicación subcrónica si se mostró un cambio en el peso absoluto

durante el tratamiento diario de 30 días (Gráfico 3), el cual puede sugerir una alteración en el apetito o en la absorción de nutrientes en los ratones tratados y que por ende perdieron peso en este tiempo. Los efectos observados en su comportamiento mostraron una tolerancia gradual al tratamiento, al final del tratamiento los ratones parecieron no ser afectados y se comportaron como los ratones testigos al ser administrados.³²

Se plantea que una sustancia tóxica produce alteraciones fisiológicas que se manifiestan en modificaciones en el cuadro clínico general, y estas dependen de la severidad, así como de los sistemas de órganos involucrados, duración de la exposición, cantidad total de la sustancia dosificada, edad, etc.³¹. Para poder evaluar alteraciones fisiológicas se realizó un análisis estadístico, este se hizo por medio del peso relativo del órgano en relación al peso corporal del ratón, llamado índice, en el que se buscó diferencias significativas.

En el tratamiento agudo mostró diferencias significativas de acuerdo a los pesos relativos del bazo ($p = 0.013$) y del riñón ($p = 0.13$) de los ratones tratados (Tabla 1), mientras en el tratamiento subcrónico, por medio del mismo parámetro se sugiere que hubo daño fisiológico en el bazo ($p = 0.044$), riñón ($p = 0.002$) y corazón ($p = 0.017$) (Tabla 3), estas alteraciones mostraron el crecimiento de los órganos, con respecto a los ratones testigos. Teniendo en cuenta los anteriores resultados tanto en el ensayo agudo como el subcrónico se observó que a una dosis alta y a una dosis repetida respectivamente el extracto causó el aumento de tamaño en el bazo, riñón e hígado, debido a uno o más componentes en el extracto que intervienen en las funciones que desempeñan estos órganos.

Para poder comprobar esta alteración se evaluó en suero ceruloplasmina, marcador que aumenta en estados de inflamatorios tanto agudos como crónicos, en ambos tratamientos no hubo una diferencia significativa (Tablas 2, 4), y aunque estos valores contrastan con los obtenidos a partir de los índices orgánicos, se considera que el análisis de la enzima no es un marcador definitivo de la inflamación para determinar las alteraciones fisiológicas encontrados en los ratones tratados.

La determinación química de urea, BUN y creatinina, realizada al suero de los ratones, evalúan la correcta función del riñón, estos valores revelaron que al ser contrastadas con los ratones testigos, no se encontró diferencias significativas ($p > 0.05$) (Tabla 5), sugiriendo que el extracto de planta no estaría induciendo alguna disfunción renal en el tiempo y dosis indicada para el tratamiento subcrónico.

El análisis de los parámetros de la sangre constituye una evaluación de riesgo relevante, algún cambio en el sistema hematológico tiene un elevado poder predictivo para la toxicidad humana, cuando los datos son extrapolados desde los estudios en animales. El análisis estadístico no encontró diferencias significativas en casi todos los parámetros (Tabla 6) tras la administración oral del extracto de *T. peruvianus*, solo en el caso de la prueba hemática de Hemoglobina Corpuscular Media (HCM) (Gráfico 7) se demostró una disminución de la concentración de hemoglobina por cada hematíe con una ($p = 0.049$), explicado por una disminución en la absorción de hierro a nivel digestivo, dado el tipo de tratamiento por sonda gástrica.^{32.33}

11 CONCLUSIONES

Se observó una disminución de peso en los animales tratados en la prueba aguda y cambios de conducta en los ratones (somnolencia, temor y sedación), durante su dosificación en ambos tratamientos (agudo y subcrónico), que fueron gradualmente desapareciendo debido a la tolerancia que desarrollaron los ratones en el tratamiento subcrónico.

Las pruebas preliminares indican que en el ensayo de toxicidad agudo, con dosis única de 100 mg/kg, en los ratones tratados, generó un crecimiento en el bazo y riñón. Mientras en el ensayo de toxicidad subcrónico, con dosis diaria de 50 mg/kg, se observó la misma alteración, además de una cardiomegalia.

Al analizar los resultados de las muestras séricas de ceruloplasmina, urea, BUN y creatinina no mostraron alteraciones comparadas con los testigos negativos, pero en la biometría hemática se observó que la hemoglobina corpuscular media, en los ratones tratados con el extracto, disminuyó debido a una anemia ferropénica durante el tratamiento subcrónico.

Ante estos resultados, los datos pueden sugerir que la administración oral del extracto acuoso de *Trichocereus peruvianus* posee alguna sustancia de daño tóxico, como lo muestran las alteraciones en algunos órganos, sin embargo alguno de los parámetros evaluados no sufrieron alteración, por lo que no se concluye el nivel de daño tóxico en el organismo del ratón CD1.

12 PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

El presente trabajo trata sobre la evaluación toxicológica, parte de un estudio de farmacognosia, que consideramos son los primeros pasos de una investigación del extracto del cactus *Trichocereus peruvianus*, por lo que se proponen las siguientes propuestas y/o recomendaciones:

- Realizar determinaciones que evalúen un perfil del bazo (lipasa, amilasa, tripsina), corazón (creatinina fosfocinasa), riñón (Fosfatasa alcalina, acida) lo que indique un estudio más profundo por medio de estos bio-marcadores.
- Determinar actividades metabólicas de glucosa, proteínas y grasas.
- Realizar un estudio fitoquímico del extracto acuoso preparado a partir del cactus en el laboratorio.

15 REFERENCIAS

1. Pijoan P, Chávez JA. Plantas tóxicas para el Ganado: su identificación, manejo y control. Inifap. 2011 Jun; 30.
2. Diaz GJ. Plantas tóxicas de importancia en salud y producción animal en Colombia. Colombia: Universidad Nacional de Colombia Editorial; 2010.
3. Castillo E, Martínez E. Manual de Fitoterapia. España: Elsevier Doyma S.L.; 2007.
4. Ávalos A, Pérez-Urria E. Metabolismo secundario de las plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009; 2(3):119-145.
5. Cameán AC, Repetto. Toxicología Alimentaria. España: Ediciones de Santos, S.A.; 2006.
6. Anderson E. The cactus family. Oregon: Timber Press; 2001.
7. Evans WC. Trease and Evans Pharmacognosy. 15° ed. United States: Bailliere Tindall; 2002.
8. Osorio EJ. Aspectos Básicos de Farmacognosia. Colombia: Universidad de Antioquia; 2009.
9. Klaassen CD. Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons. 7ª ed. New York: McGraw-Hill Professional; 2007.
10. Plumlee K. Clinical Veterinary Toxicology. United States: Mosby; 2004.
11. Gottlieb A. Peyote and Other Psychoactive. 2ª ed. E.E.U.U.: Ronin Publishing; 1976.

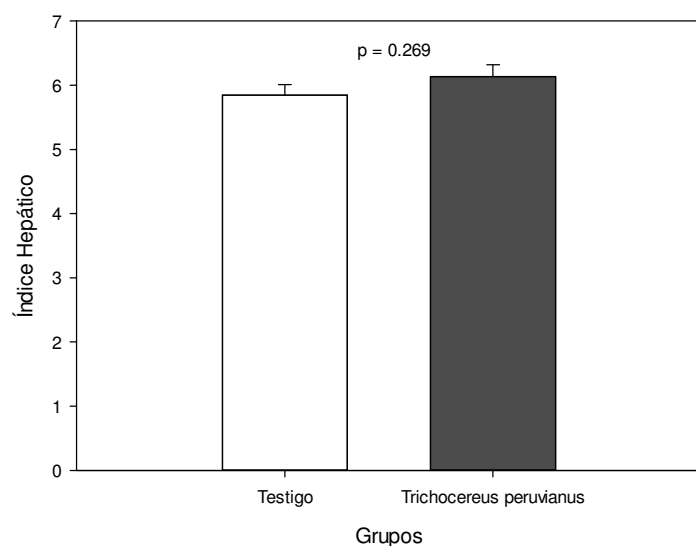
12. Iglesias L, Echarte P, Calpe P, Mariñosa M, Lloret C. Intoxicaciones agudas por drogas de abuso. Barcelona: 2010.
13. Ott J. Pharmacothéon: Drogas enteógenicas, sus Fuentes y su historia (plantas medicinales). Barcelona: La liebre de Marzo; 1996.
14. Nobel P. Cacty: Biology and uses. United States: University California Press; 2002.
15. De Feo V. Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes. *Fitoterapia*. 1992; 63(5):417-440.
16. De Feo V. Ethnomedical field study in northern Peruvian Andes with particular reference to divination practices. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002; 85(1):243-256.
17. Feldman Gracia L. El cactus san Pedro: su función y significado en Chavín de Huántar y la tradición religiosa de los andes centrales. [Tesis Magistral]. Lima (Perú): Facultad de Ciencia Sociales, Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2006.
18. Sanchez-Mejorada H. The plight of the Mexican cacti and a suggestion for their conservation. *International Organization for Succulent Plant Study I.O.S. Bulletin*. 1974; 3(3):79-99.
19. Trout K. The Trichocereus Species: Taxonomic delineations. *Entheogenesis Australis* [Internet]. 2011. [Citado 2013 Feb]; 1(1):8. Disponible desde: <http://www.entheo.net/journal>.
20. Domínguez XA, Domínguez XA. Aspectos químicos de las Cactáceas. *Cactáceas y suculentas mexicanas*. 1976; 21(2):39-46.

21. Agurrel S. Cactaceae Alkaloids I. LLOYDIA A quarterly journal of pharmacognosy and allied sciences. 1969; 32(1):206-216.
22. Pardanani JH, McLaughlin JL. Cactus Alkaloids. XXXVI. Mescaline and Related Compounds from *Trichocereus peruvianus*. LLOYDIA The Journal Of Natural Products. 1977; 40(1):585-590.
23. Ogundodede O, McCombs D, Trout K, Daley P, Terry M. New Mescaline concentration from 14 taxa/cultivar of *Echinopsis* spp. (Cactaceae) ("San Pedro") and their relevance to shamanic practice. Journal of Ethnopharmacology. 2010; 131(1):356-362.
24. Schultes R, Hofmann A. Botanica E. Chimica Degli Allucinogeni. Roma: Cesco Ciapanna Editorer S.p.A.;1983.
25. Erowid F. A Look at the Mescaline Content of *T. peruvianus* and *T. pachanoi*. Erowid Extracts: A Psychoactive Plants and Chemical Newsletter. 2001 Dic; 1(2):20-21.
26. Alberto Acosta C. Variedades de vegetales y de hongos existentes en la República de Argentina y poseedoras de principios Psicoactivos. [Tesis de Maestría]. Argentina: Secretaria de Graduados en Ciencias de la Salud, Universidad Nacional de Córdoba; 2009
27. Reti L. Alcaloides de las cactáceas y sustancias naturales relacionadas. Ciencia e Investigación. Revista patrocinada por la Asociación Argentina. 1947 Oct; 5(10):405-411.
28. Roberts MF, Wink M. Alkaloids Biochemistry, Ecology and Medicinal Applications. United States: Plenum Press; 1998.

29. Hernández S. El modelo animal en las investigaciones biomédicas. *Biomedicina (Centro de Investigaciones Biomédicas)*. 2006 Dic; 2(3):252-59.
30. Diario Oficial de la Federación. NORMA Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. México: 2001 Jun; Diario Oficial de la Federación. 36-48.
31. Hayes A. *Principles and Methods of Toxicology*. 3ª edición. Raven Press. New York. 1994.
32. Harkness SE, Wagner JE. *Biología e clínica de coelhos roedores*. São Paulo, Brasil, 1993, p. 48-55.
33. Olson H, Betton G, Robinson D, Thomas K, Monro A, Kolaja G, et al. Concordance of toxicity of pharmaceuticals in humans and in animals. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 2000; (32):56-67.
34. Donal M, Stewart J. *Inmunología*. 2ª edición. Editorial El Manual Moderno. México, D. F., 1995.
35. Fernandez. *SPSS. Manual de Estadística en Español*. Tercera Edición. Madrid: Editorial Diaz de Santos; 2000.
36. Yapur MN, Bustos F, González A, Negri A. Ceruloplasmina: Determinación de su actividad ferroxidasa. *Acta Bioquímica Clínica latino*. 2007; 41(3):347-51.

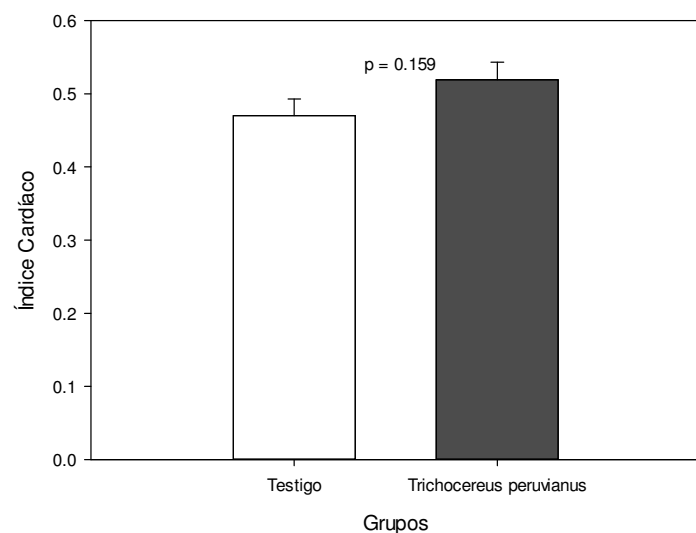
ANEXOS

I.- Resultados NO significativos ($p > 0.05$) del ensayo agudo



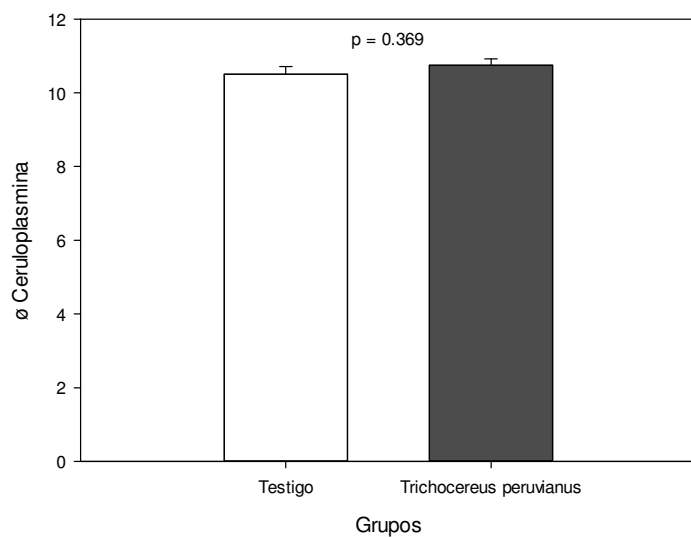
Índice Hepático		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	5.844	0.168
<i>T. peruvianus</i>	6.131	0.187

Gráfico 8. Prueba t-Student para índice hepático no significativo en el tratamiento agudo



Índice Cardíaco		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	0.470	0.023
<i>T. peruvianus</i>	0.519	0.024

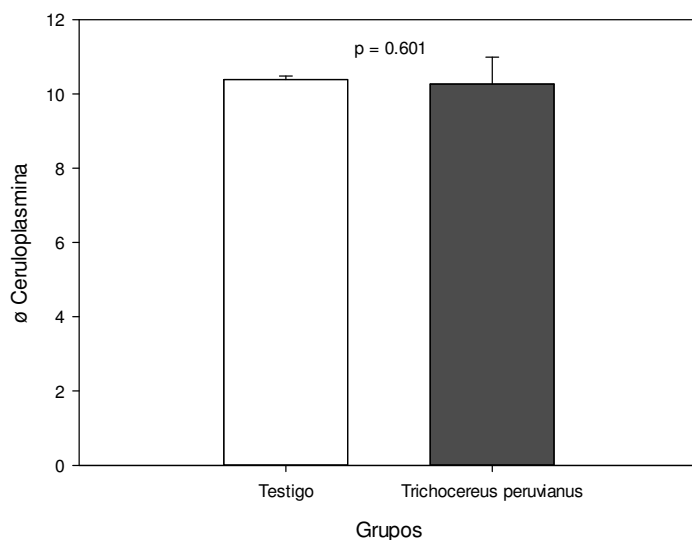
Gráfico 9. Prueba t-Student para índice cardíaco no significativo en el tratamiento agudo



Ceruloplasmina		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	10.5	0.211
<i>T. peruvianus</i>	10.75	0.171

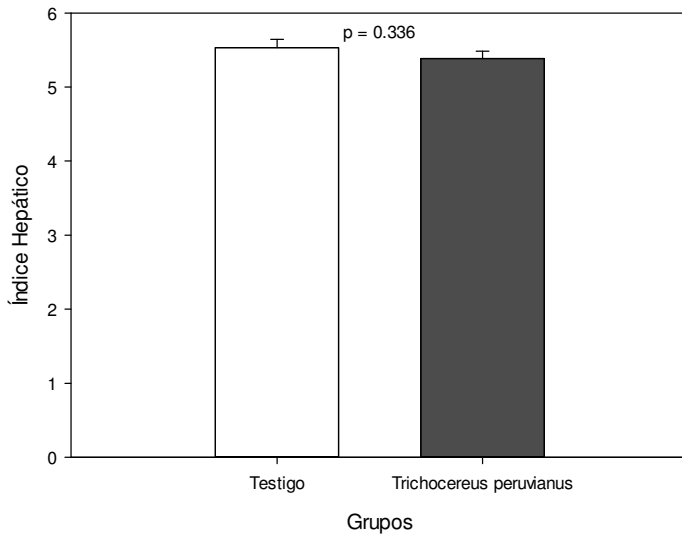
Gráfico 10. Prueba t-Student para la prueba inmunológica de ceruloplasmina no significativo en el tratamiento agudo

II. Resultados NO significativos ($p > 0.05$) del ensayo subcrónico



Ceruloplasmina		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	10.385	0.101
<i>T. peruvianus</i>	10.267	0.729

Gráfico 11. Prueba t-Student para índice hepático no significativo en el tratamiento subcrónico.



Índice Hepático		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	5.532	0.114
<i>T. peruvianus</i>	5.385	0.098

Gráfico 12. Prueba t-Student para la prueba inmunológica de ceruloplasmina no significativo en el tratamiento subcrónico



Leucocitos		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	3.134	3.134
<i>T. peruvianus</i>	2.881	2.881

Gráfico 13. Prueba t-Student para el conteo de Leucocitos no significativo en el tratamiento subcrónico

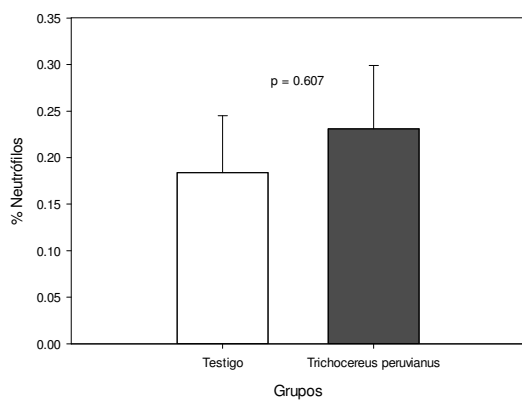


Gráfico 14

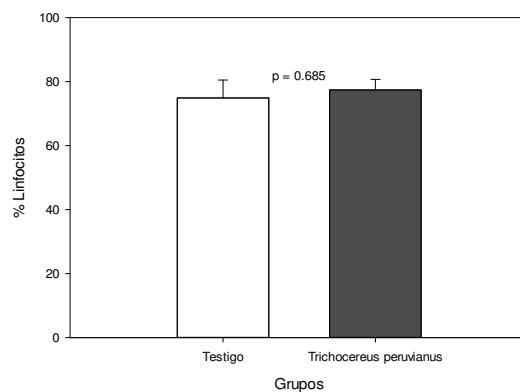


Gráfico 15

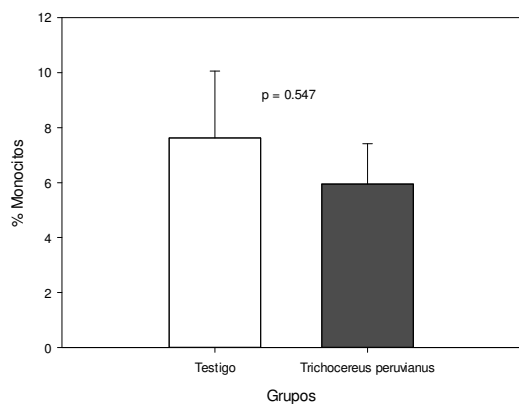


Gráfico 16

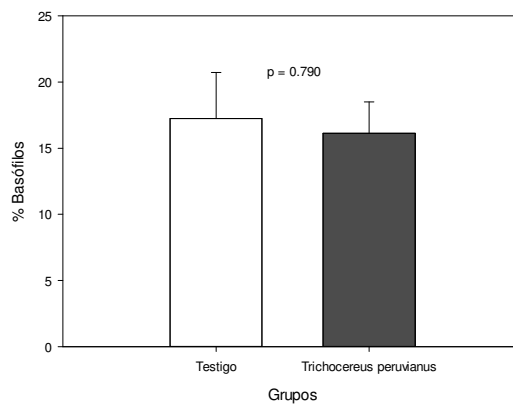


Gráfico 17

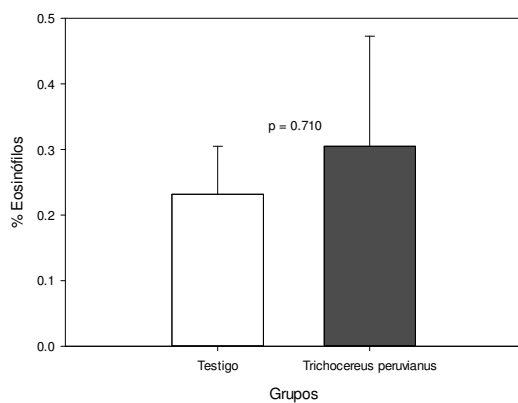
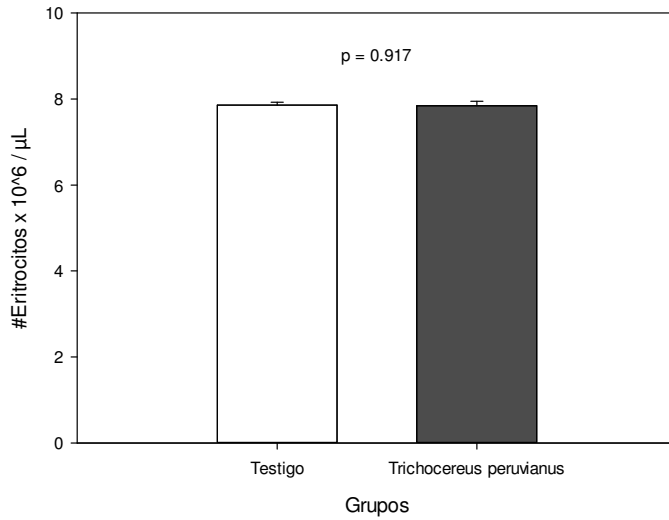


Gráfico 18

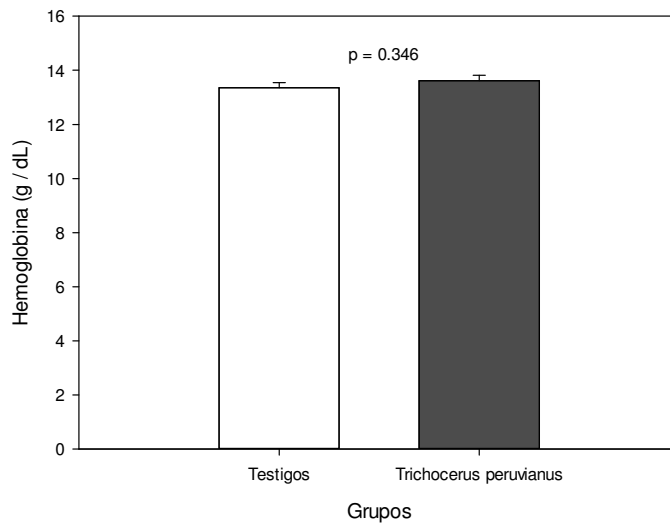
	Testigo		<i>T. peruvianus</i>	
	Media	Error típico	Media	Error típico
Neutrófilos	0.184	0.061	0.231	0.068
Linfocitos	74.854	5.593	77.433	3.310
Monocitos	7.623	2.430	5.945	1.466
Eosinófilos	0.232	0.073	0.305	0.168
Basófilos	17.238	3.472	16.133	2.365

Prueba t-Student para la diferencial de leucocitos no significativo en el tratamiento subcrónico



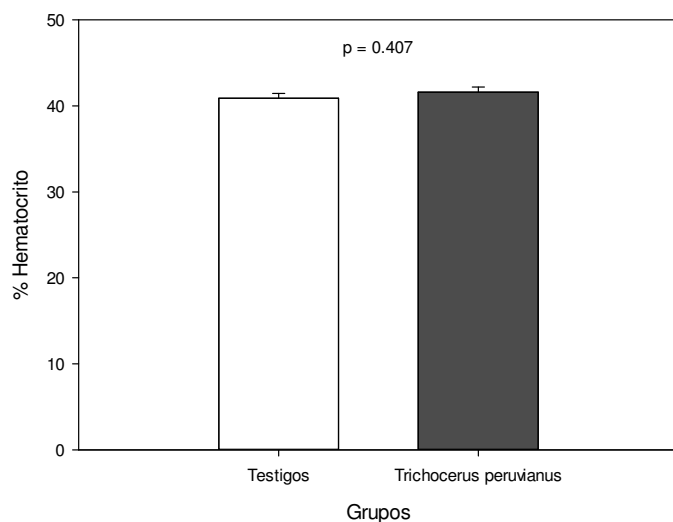
Eritrocitos		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	7.855	0.068
<i>T. peruvianus</i>	7.841	0.109

Gráfico 19. Prueba t-Student para el conteo de Eritrocitos no significativo en el tratamiento subcrónico



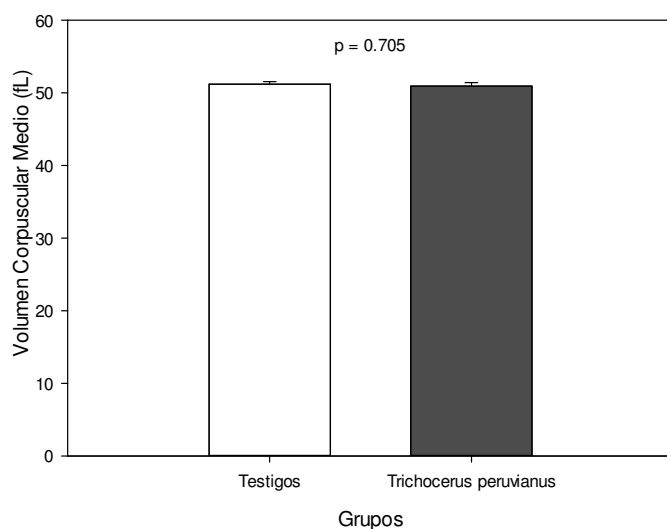
Hemoglobina		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	13.354	0.193
<i>T. peruvianus</i>	13.620	0.196

Gráfico 20. Prueba t-Student para la determinación de Hemoglobina no significativo en el tratamiento subcrónico



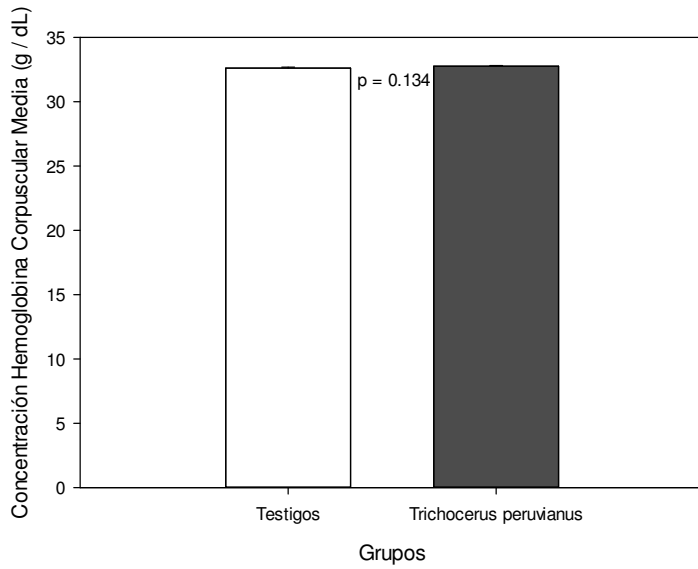
Hematocrito		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	40.892	0.566
<i>T. peruvianus</i>	41.587	0.589

Gráfico 21. Prueba t-Student para la determinación de Hematocrito no significativo en el tratamiento subcrónico



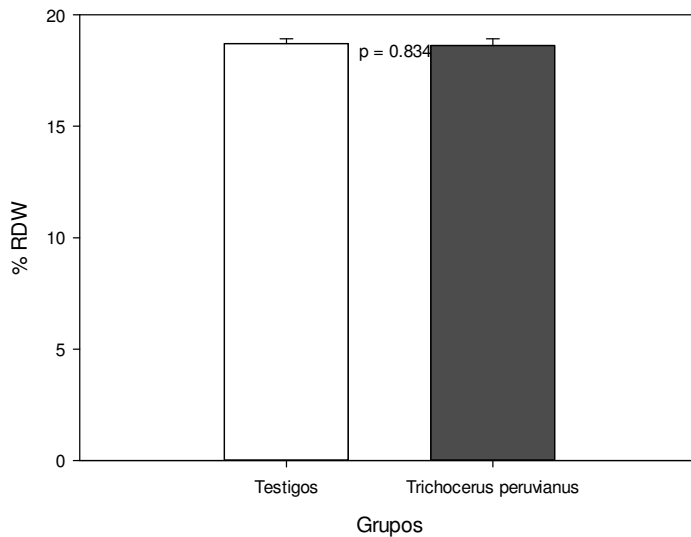
VCM		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	51.162	0.368
<i>T. peruvianus</i>	50.920	0.493

Gráfico 22. Prueba t-Student para la determinación de VCM no significativo en el tratamiento subcrónico



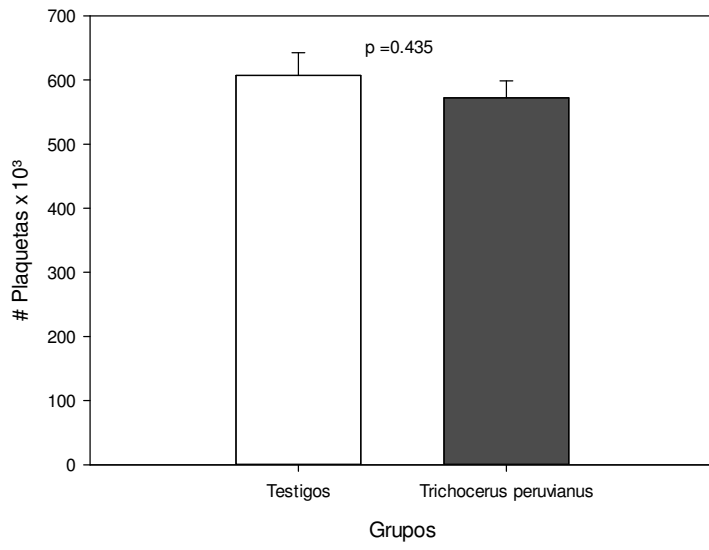
CHCM		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	32.615	0.075
<i>T. peruvianus</i>	32.760	0.059

Gráfico 23. Prueba t-Student para la determinación de CHCM no significativo en el tratamiento subcrónico



RDW		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	18.708	0.117
<i>T. peruvianus</i>	18.627	0.127

Gráfico 24. Prueba t-Student para la determinación del RDW no significativo en el tratamiento subcrónico



Plaqueta		
Grupos	Media	Error típico
Testigo	606.923	35.615
<i>T. peruvianus</i>	572.26	26.565

Gráfico 25. Prueba t-Student para la determinación de CHCM no significativo en el tratamiento subcrónico

Perfil Renal						
Grupos	Creatinina		Urea		BUN	
	Media	Error típico	Media	Error típico	Media	Error típico
Testigo	0.415	0.032	22.615	0.538	48.154	1.148
<i>T. peruvianus</i>	0.471	0.53	22.429	0.739	44.873	3.495

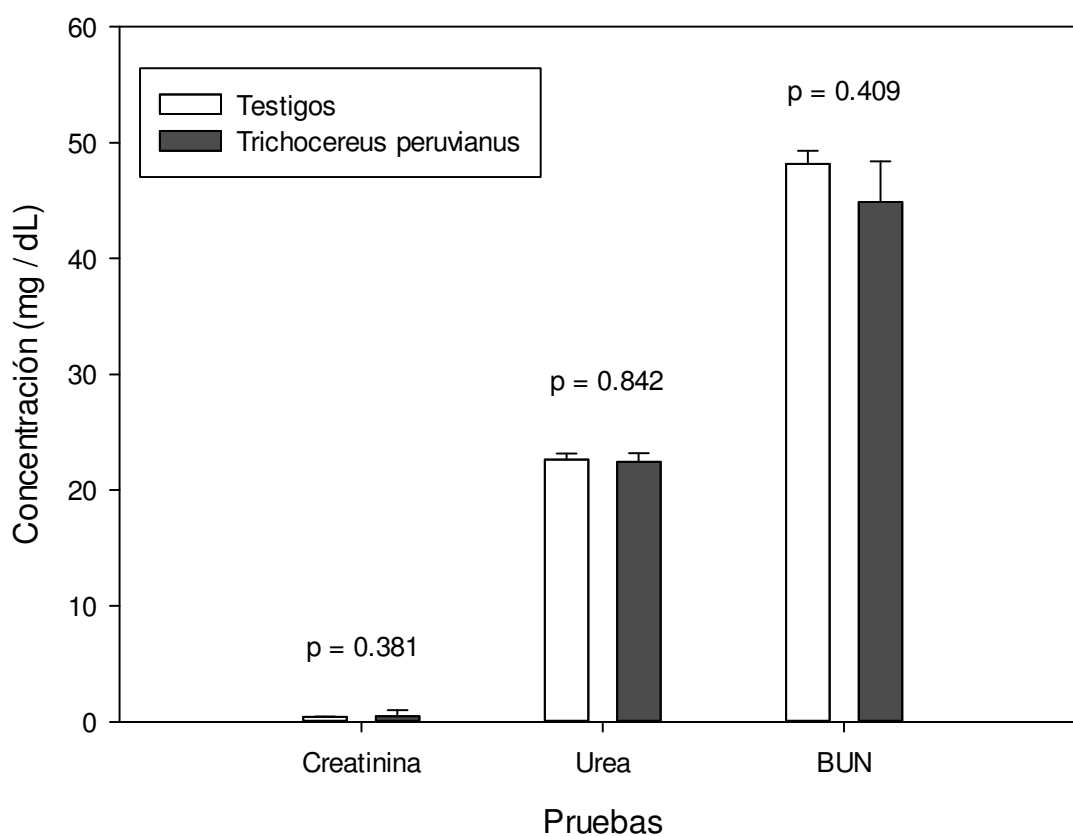


Gráfico 26. Prueba t-Student para el perfil renal de creatinica, urea y BUN no significativo en el tratamiento subcrónico