

Efecto de la *Petiveria alliacea* en el tratamiento de alergias respiratorias en *Rattus norvegicus* cepa Wistar

Effect of *Petiveria alliacea* in the treatment of allergic respiratory in *Rattus norvegicus* strain Wistar

Diana Carolina Quiceno Gallego¹; Juan Carlos Rincón Flórez², Rodrigo Alberto Zambrano Galeano³.

¹Estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia Universidad Tecnológica de Pereira;

²Docente de Medicina Veterinaria y Zootecnia, asesor del proyecto de investigación de la Universidad Tecnológica de Pereira; ³Médico Veterinario y Zootecnista, Especialista en clínica médica y quirúrgica de pequeñas animales, MFC ciencias básicas médicas con énfasis en inmunología, coordinador de sanidad animal y salud pública de la Fundación Universitaria San Martín.

Resumen

La *Petiveria alliacea* es una planta utilizada en diferentes estudios, en donde ha sido efectiva para las patologías respiratorias en el humano, obteniendo resultados satisfactorios. Las *Rattus norvegicus cepa Wistar (RncW)* son susceptibles a partículas pequeñas como el polvo o el aserrín, produciendo en ellas enfermedades respiratorias; por ende, en este proyecto se elaboró un extracto alcohólico de hojas y tallos jóvenes de la *P. alliacea* para suministrarlo a las *RncW* que presentaron signos respiratorios alérgicos producidos por aserrín cernido. Se formaron tres grupos, dos de los grupos formados por los animales con los signos respiratorios y el tercero por animales sin signos respiratorios. El extracto alcohólico de hojas y tallos jóvenes de la *P. alliacea* se administró vía oral en un grupo de animales con síntomas respiratorios alérgicos y el otro con animales clínicamente sanos. Para la detección de la posible mejoría de estos animales se realizó un examen clínico e histopatología. Los animales con síntomas respiratorios alérgicos que se les

suministro anamú presentaron una disminución de los síntomas y no se encontraron hallazgos histopatológicos.

Palabras Clave: Anamú, Investigación, Medicina alternativa, Ratones de laboratorio, Sistema respiratorio.

Abstract

The *Petiveria alliacea* is a plant used in different studies, where it has been effective for the respiratory pathologies in the human, obtaining satisfactory results. *Rattus norvegicus strain Wistar (RncW)* are susceptible to small particles such as dust or sawdust, producing respiratory diseases in them; Therefore, in this project an alcoholic extract of young leaves and stems of the *P. alliacea* was elaborated to supply it to the RncW who presented allergic respiratory signs produced by sifting sawdust. Three groups were formed, two of the groups formed by animals with respiratory signs and the third by animals without respiratory signs. Alcoholic extract from young leaves and stems of *P. alliacea* was administered orally in a group of animals with allergic respiratory symptoms and the other with clinically healthy animals. A clinical examination and histopathology were performed to detect the possible improvement of these animals. Animals with allergic respiratory symptoms that were given anamu presented a decrease in symptoms and no histopathological findings were found.

keywords: Anamú, Investigation, Alternative Medicine, Laboratory mice, Respiratory system.

Introducción

Los animales de laboratorio son definidos como aquellas especies que se encuentran bajo condiciones controladas, los cuales son utilizados como un objeto de experimentación científica, docencia, desarrollo tecnológico e innovación y para pruebas de laboratorio (1). Los más utilizados son los ratones de laboratorio *RncW* debido a que son animales muy adaptables, que se pueden someter a diversas condiciones específicas, las cuales se deben controlar con distintas variables climáticas (2,3).

Los ratones de laboratorio llevan más de un siglo contribuyendo al avance de la medicina, también han ayudado a descubrimientos en la ciencia, los cuales tienen un papel fundamental para tratar distintas enfermedades en los humanos y otros animales; pero en algunas ocasiones los ratones de laboratorio; en especial las *RncW* presentan patologías respiratorias con sintomatologías desde leves a severas, que pueden producir en muchos de los casos alta mortalidad y pérdidas económicas en la elaboración de proyectos de experimentación (1,4).

Para diagnosticar algún tipo de enfermedad existen diferentes pruebas diagnósticas, pero en los casos que se necesiten órganos de los animales para histopatología; es necesario el sacrificio de los animales el cual, debe ser mediante un método indoloro y rápido; en los animales de laboratorio se puede utilizar diferentes métodos químicos pero el más usado son los anestésicos inhalatorios como el halotano, el isoflurano y el enflurano que actúan deprimiendo el sistema vascular junto con el sistema respiratorio generando anestesia y después la muerte del animal (1,5,7).

Los animales de laboratorio han sido utilizados en diferentes proyectos de investigación como objeto experimental, pero estos son susceptibles con mayor frecuencia a partículas pequeñas que se encuentran en el ambiente, las cuales pueden generar enfermedades respiratorias en este tipo de animales, ocasionando pérdidas económicas al interferir negativamente en algún proyecto de investigación que se esté desarrollando con las *RncW* (8,9).

Las *RncW* con síntomas respiratorios alérgicos se les puede suministrar un medicamento de origen natural que no altera las funciones biológicas como el extracto etanólico de la *P. alliacea* (10), con esta planta se han elaborado diferentes estudios, en los cuales se han comprobado que la *P. alliacea* ha sido efectiva para las patologías respiratorias en el humano (11–16).

La *P. alliacea* es un arvense de la familia *Phytolaccaceae* conocida en Colombia como Anamú (Grafico 1). El anamú en las hojas y los tallos jóvenes contiene taninos, alcaloides, glucósidos, saponinas y son ricas en oligoelementos inorgánicos, además es la raíz tiene esteroides, terpenoides, poli fenoles y cumarinas (17,18).

La *P. alliacea* es usada en tabletas para enfermedades del tracto respiratorio en los humanos en países como Argentina y Nicaragua; debido a sus propiedades inmunoestimulantes que se les atribuyen a los taninos, poli fenoles y bencil-2-hidroxi-5-etil-trisulfuro, los cuales se encuentran en las hojas y tallos jóvenes (14,17,19).

Actualmente, se utiliza como medicamento alternativo para diferentes enfermedades y se comercializa por varias entidades como suplemento nutricional o como inmunomodulador en humanos (10). En especial, el efecto inmunoestimulante se les atribuye a los taninos, poli fenoles y bencil-2-hidroxi-5-etil-trisulfuro; los cuales se encuentran presentes en las hojas y tallos jóvenes de la planta (15,18,20).



Grafico 1. Planta *Petiveria alliacea*. Fotos tomadas por Diana Carolina Quiceno Gallego (DCQG), estudiante de Medicina Veterinaria y Zootecnia (MVZ) de la Universidad Tecnológica de Pereira (UTP)

El presente trabajo de investigación se elaboró con el fin de determinar los efectos del extracto etanólico de *Petivera alliacea* en el tratamiento de alergias respiratorias en *Rattus norvegicus* cepa Wistar.

Materiales y métodos

El presente proyecto de investigación se realizó en la Universidad Tecnológica de Pereira, la cual se encuentra ubicada en la ciudad de Pereira, departamento Risaralda (Colombia).

Como objeto de experimento se utilizaron 14 ratas *RncW* 7 hembras y 7 machos jóvenes clínicamente sanos con una edad de 6 meses, las cuales se mantuvieron en el bioterio de la Fundación Universitaria San Martín en Cali con condiciones ambientales adecuadas.

La elaboración del extracto etanólico de *P. alliacea* se llevó a cabo el protocolo reportado por Pérez et al. (2006)(13); Navarro (2009)(12); Zaa et al. (2012)(21); Santander et. al. (2009)(22) y Pacheco, et al. (2013)(23). Debido a que se ha demostrado que en humanos el extracto etanólico de la *P. alliacea* es inmunomodulador (18,20).

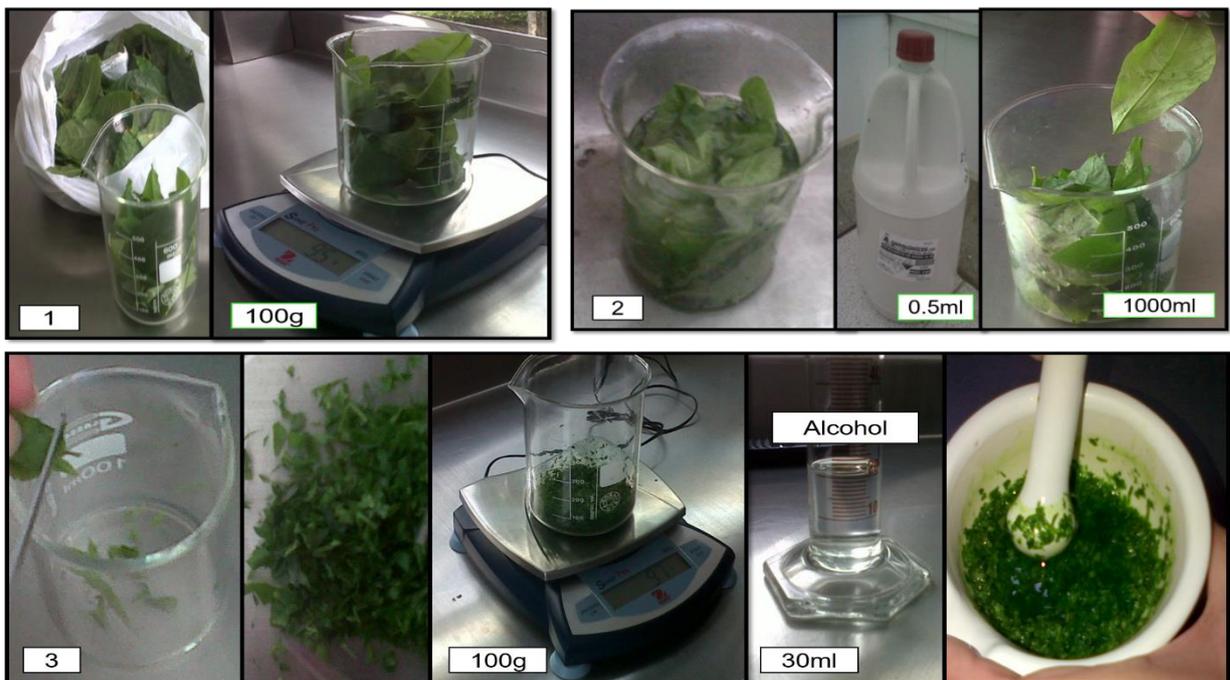




Grafico 2. Elaboración del Extracto etanólico de *Petiveria alliacea*, los números indican los pasos mencionados anteriormente. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

En el extracto etanólico de *P. alliacea* Utilizando como reactivos 100 g de las hojas y tallos jóvenes de *P. alliacea*, 80 ml de alcohol etílico, 0.5 ml de hipoclorito y 100 ml de agua estéril.

Para el procedimiento de la elaboración del extracto se hizo de la siguiente manera; 1. Se seleccionó y se pesó el material biológico; 2. Se desinfectaron las hojas y tallos jóvenes de *P. alliacea*; 3. Estos se cortaron, se maceraron y se pesaron para rectificar la misma cantidad que al principio, 4. Se precipitó la solución durante dos días, 5. Se realizó la evaporación de solutos o partículas extrañas mediante una estufa y un ventilador; 6. Se filtró la solución y se terminó de evaporar el total del alcohol etílico, 7. Se dejó reposar la solución durante 3 días, 8. Se finalizó la preparación del extracto etanólico de *P. alliacea* agregando agua destilada. Finalmente, 9. se almacenó entre 15 a 20°C.

Después de elaborar el extracto etanólico de anamú y tener las 14 *RncW* se formaron tres grupos, cada uno de ellos formado por 4, 3 y 7 *RncW*,

respectivamente, los cuales se les dio el nombre de Grupo experimental 1, Grupo experimental 2 y Grupo experimental 3.

El grupo experimental 1 (n=4), estuvo conformado con machos *RncW* identificados con los números 065/066/067/068 en la oreja derecha que se encontraban con síntomas respiratorios alérgicos inducidos y se les suministró el extracto etanólico de *P. alliacea*.

El grupo experimental 2 (n=3), estaba conformado con machos *RncW* identificados con los números 064/167/168 en la oreja derecha los cuales se encontraron con enfermedad respiratoria alérgica inducida pero no se le aplicó ningún tratamiento.

El grupo experimental 3 (n=7), estuvo conformado con hembras *RncW* identificadas con los números 118/125/132/137/140/144/145 que se encontraron sanas clínicamente y se les suministró el extracto etanólico de *P. alliacea* (Grafico 3).



Grafico 3. Grupos de experimentación. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

Para la inducción de los síntomas respiratorios alérgicos en las *RncW* se realizó con la combinación de viruta de madera y aserrín, debido a que los ratones de

laboratorio han presentado susceptibilidad a la poca cantidad que en algunas ocasiones contiene la viruta de madera (8).

Por lo mencionado anteriormente, para la cama de estos animales se utilizó aserrín durante el primer día del proyecto de investigación para el grupo experimental 1 y el grupo experimental 2; mientras que para el grupo experimental 3 se utilizó viruta de madera (Grafico 4).

Cada 2 días que se realizó el cambio de camas, se procedió a cernir el aserrín, para utilizarlo en los grupos que se les indujo la enfermedad respiratoria alérgica y se les combino después del primer cambio de camas aserrín con viruta de madera.

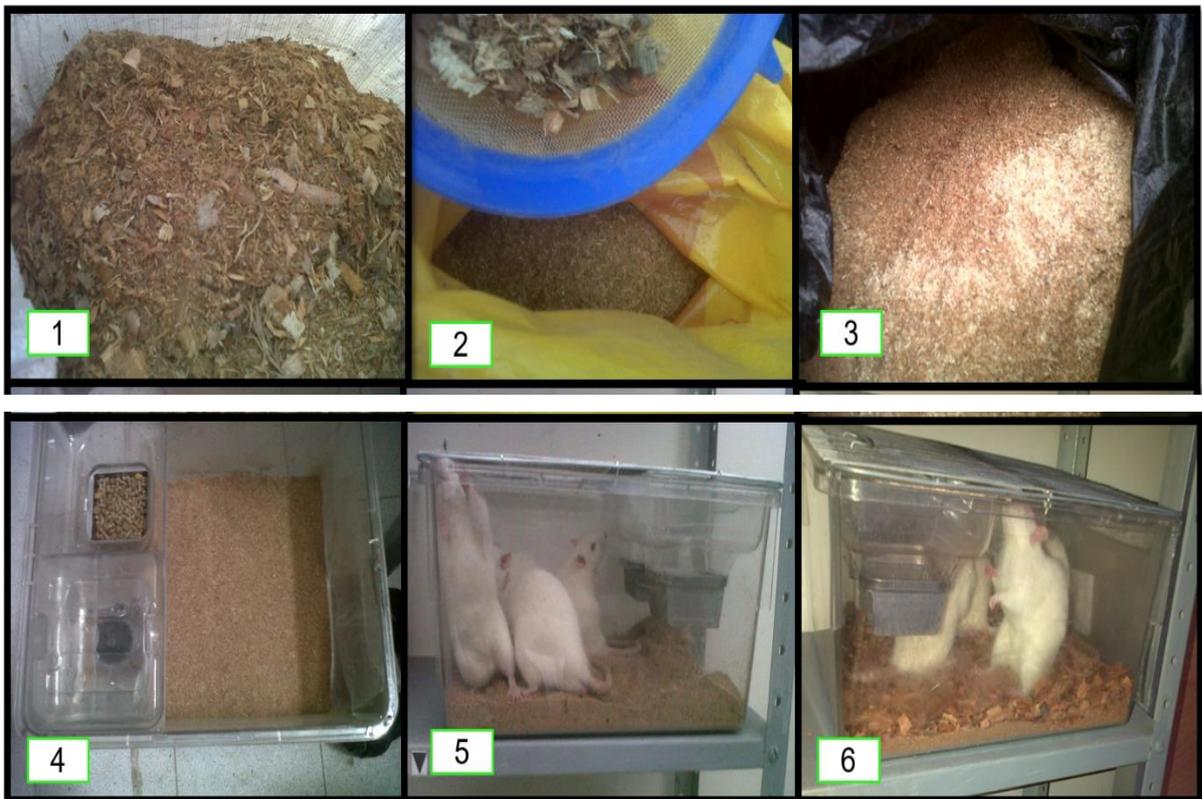


Grafico 4. Inducción de síntomas alérgicos respiratorios en *RncW*. 1. Aserrín con viruta de madera. 2. Cernir el aserrín. 3. Aserrín cernido. 4. Caja de las *RncW* con cama de aserrín. 5. *RncW* en la caja con cama de aserrín por un día. 6. *RncW* en la caja con cama de aserrín con viruta de madera durante 20 días. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

La administración del extracto etanólico de *P. alliacea* en las *RncW* se realizó en el agua de bebida teniendo en cuenta que estas debían presentar signos respiratorios; para que los animales tomaran el medicamento completo, estos se dejaron la noche

anterior sin agua de bebida. Para el suministro del extracto etanólico, se empleó una jeringa con la tapa del recipiente de bebida y el chupo de este, la dosis fue de 1ml de extracto etanólico de *P. alliacea* más 4 ml de agua normal a las 8am de lunes a sábado durante 21 días (Grafico 5)(24).

Se realizaron observaciones todos los días de las manifestaciones clínicas de una posible mejoría y se registraron en la bitácora.

Para el diagnóstico definitivo de las *RncW* se realizó un examen clínico de la rata Wistar desde las 8am hasta las 11am de lunes a sábado durante 21 días; en el cual se observaron síntomas de alergias respiratorias en las *RncW*.



Grafico 5. Administración del extracto etanólico de *Petiveria alliacea*.

Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

Después de terminado el proyecto de investigación que duró 30 días en total, el sacrificio de los animales se realizó en la caja donde se encontraron las *RncW*, la cual estuvo tapada con un plástico negro, posteriormente se suministró en tres motas de algodón altas dosis de isoflurano que fue inhalado por los animales; luego se realizó una necropsia de las *RncW*, las cuales se dejaron en ayuno durante 5 horas aproximadamente; para la histopatología el envío de muestras se realizó la combinación de Formol 10% más agua (10ml:8ml).

Para el beneficio de las *RncW* se les administro vía inhalada una sobre dosis de isofluorano para los grupos experimentales 2 y 3, el anterior proceso se realizó en la caja tapada con una bolsa negra y encima una tabla, al grupo experimental 1 se le realizó lo mismo que a los otros dos grupos con la excepción de la *RncW* 137 que se le aplicó Eutanex intracardiaco; cada una de las *RncW* se colocaron de cubito supino, se les reviso el choque precordial para asegurarse que estuvieran muertas.

Para empezar la necropsia se realizó un corte por la mitad de la *RncW*, se observó los órganos *in situ* especialmente la tráquea, los pulmones, el corazón, el hígado y los riñones; las muestras de cada uno de los anteriores órganos se colocaron en la solución preparada anteriormente marcadas con el número de cada animal y la fecha, para ser enviadas al laboratorio de histopatología DIAGVES (Diagnostico Veterinario Especializado) en la ciudad de Cali y así poder identificar alguna alteración del tejido(5, 25–28).

Con los datos recolectados se realizó un análisis descriptivo respecto a los signos clínicos y los resultados histopatológicos. Adicionalmente se realizó una comparación de las proporciones entre los tratamientos mediante una prueba de Chi-cuadrado, usando el software R.

Resultados y discusión

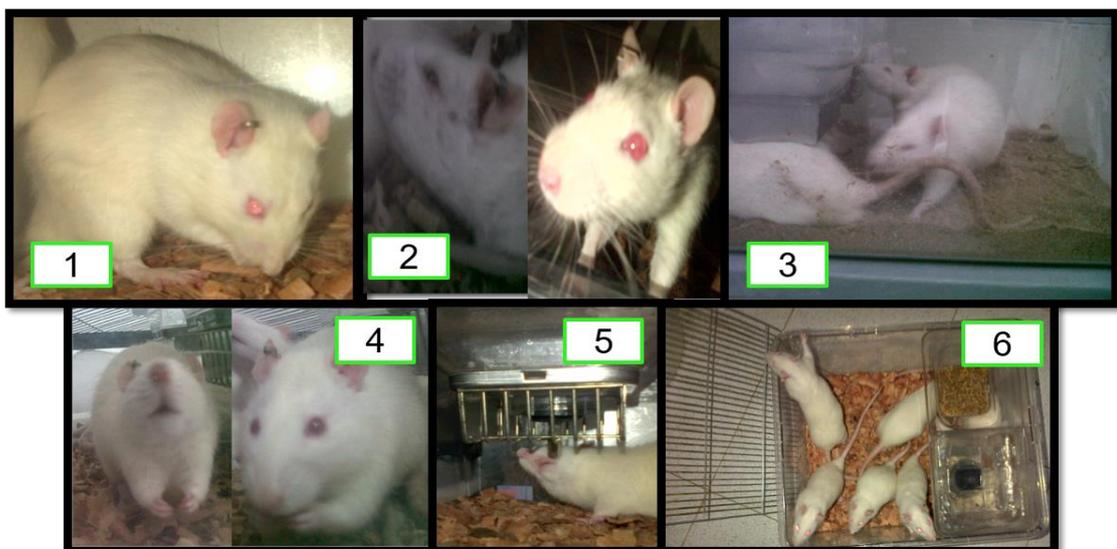


Grafico 6. Comportamiento y posturas de *RncW*. 1. Estornudos y molestia en la nariz. 2. Peri orbital y nariz rojos. 3. Decaídos y agresividad. 4. Apetito normal. 5. Polidipsia. 6. Ansiedad y alertas. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

La combinación de proporciones iguales de viruta y aserrín se pudo observar que las *RncW* tenían síntomas tales como; estornudos, pelaje erizado, Peri orbital rojizo, nariz rojiza, decaimiento, polidipsia, ojos semi-cerrados, cara inflamada, rascado de ojos y orejas (Grafico 6); además, que estuvieron inquietas, agresivas pero con apetito normal (Tabla 1).

Tabla 1. Número de animales con síntomas respiratorios alérgicos post inducción, presentes en *Rattus norvegicus* cepa Wistar

Sintomatología	Grupo Exp. 1 n=4	Grupo Exp. 2 n=3
Decaimiento ⁺	4 ^a	3 ^a
Rascado de nariz ⁺	3 ^a	3 ^a
Ojos semi-cerrados ⁺	3 ^a	3 ^a
Pelaje erizado ⁺	3 ^a	3 ^a
Polidipsia ⁺	4 ^a	3 ^a
Agresividad ⁺	2 ^a	2 ^a
Estornudos ⁺	4 ^a	3 ^a
Apetito normal ⁺	4 ^a	3 ^a
Nariz roja ⁺	3 ^a	3 ^a
Peri orbital rojo ⁺	3 ^a	3 ^a
Rascado de ojos ⁺	4 ^a	3 ^a
Rascado de orejas ⁺	4 ^a	3 ^a
Inquietos ⁺	4 ^a	3 ^a
Cara inflamada ⁺	4 ^a	3 ^a

a Síntomas respiratorios alérgicos observados durante dos días. + Según la prueba chi cuadrado no existen diferencias significativas estadísticamente $p < 0.05$.

En un estudio realizado con ratones de laboratorio usado un líquido incoloro o amarillo con olor desagradable (acroleína) eran de 0,7 mg en concentraciones atmosféricas, ocasionó síntomas clínicos respiratorios severos tales como irritación nasal, lagrimeo, disnea, tos, aumento en la cantidad de esputo, obstrucción bronquial y cianosis, signos un poco más fuertes a los encontrados en el presente trabajo (8).

Se obtuvo un extracto etanólico de *P. alliacea* de hojas y tallos jóvenes para suministrarlo a las *RncW* que se encuentran con alergias respiratorias. Normalmente la *P. alliacea* es usada en tabletas para enfermedades del tracto respiratorio en los humanos en países como Argentina y Nicaragua; debido a sus propiedades

inmunoestimulantes que se les atribuyen a los taninos, poli fenoles y bencil-2-hidroxi-5-etil-trisulfuro, los cuales se encuentran en las hojas y tallos jóvenes (11,14,17,19).

Después del suministro del extracto etanólico de hojas y tallos jóvenes de la *P. alliacea* en las *RncW* se pudo encontrar lo siguiente:

Tabla 2: Efectos del extracto etanólico de las hojas y tallos jóvenes de la *Petiveria alliacea* en las *Rattus norvegicus* cepa Wistar

Sintomatología	Grupo Exp. 1 Enfermas/Anamú n=4	Grupo Exp. 2 Enfermas/Sin Anamú n=3	Grupo Exp. 3 Sanas/Anamú n=7
Heces contextura, color y olor normal*	4 ^a	3 ^a	7 ^a
Orina en color y olor normal*	4 ^a	3 ^a	7 ^a
Disminución del olor de la orina ⁺	4 ^a	-	7 ^a
Inquietud*	4 ^a	3 ^a	7 ^a
Agresividad ⁺	-	3 ^a	-
Tranquilos ⁺	4 ^a	-	7 ^a
Duermen ⁺	4 ^a	-	7 ^a
Estornudos ⁺	-	3 ^a	-
Nariz roja ⁺	-	3 ^a	-
Peri orbital rojo ⁺	-	3 ^a	-
Alertas ⁺	4 ^a	-	7 ^a
Apetito normal*	4 ^a	3 ^a	7 ^a
Pelaje erizado ⁺	-	3 ^a	-
Polidipsia ⁺	-	3 ^a	-
Cara Inflamada ⁺	-	3 ^a	-

a Se realizó la observación de las *Rattus norvegicus* cepa Wistar durante 21 días, después de la administración del extracto etanólico de las hojas y tallos jóvenes de la *Petiveria alliacea*. + Según la prueba chi cuadrado existen diferencias significativas estadísticamente $p < 0.05$. * Según la prueba chi cuadrado no existen diferencias significativas estadísticamente $p < 0.05$.

En el grupo experimental 1 se encontró disminución de estornudos, el pelaje no se encontraba erizado, la nariz ya no era roja ni el peri orbital estaba rojizo. Además, se pudo observar que estas se encontraban durmiendo tranquilamente, también se pudo notar que había disminución del olor de la orina, las heces eran de color y olor normal, se encontraban alertas y con apetito normal (Tabla 2).

En el grupo experimental 2 se encontró todavía estornudaban, tenían la nariz roja al igual que el peri orbital rojizo, seguían con el pelaje erizado y con polidipsia. Además, seguían agresivas e intranquilas, pero con apetito normal (Tabla 2).

En el grupo experimental 3 se encontró que dormían tranquilamente mientras que otras estaban alertas, además su orina estaba de color y olor normal, al igual que las heces, pero estas tenían textura normal (Tabla 2).

Después de la observación de los síntomas respiratorios y la disminución de estos al suministrar el extracto etanólico de *P. alliacea* a las *RncW*, estas se sacrificaron para el envío de muestras al laboratorio de histopatología.

La necropsia de las *RncW* se realizó con el fin de encontrar cambios macroscópicos y microscópicos en estos animales, los resultados de las muestras que se enviaron a histopatología se muestran a continuación:

En el grupo experimental 1 se encontró macroscópicamente que los pulmones de color rosado, el hígado normal, riñones normales y se encontraban delgadas (Tabla 3, Grafico 7).



Grafico 7. Necropsia grupo experimental 1. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

En el grupo experimental 2 se pudo observar macroscópicamente (Grafico 8) que el riñón izquierdo estaba inflamado, había fibrilación cardiaca, cambios en los pulmones de los animales tales como nódulos en el pulmón izquierdo (Tabla 3).



Grafico 8. Necropsia grupo experimental 2. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

En el grupo experimental 3 se encontró macroscópicamente que en la cavidad torácica había acumulación de sangre (hemotórax) y el pulmón izquierdo estaba de coloración amarillo anaranjado en la *RncW* 137, debido a que se le aplicó Eutanex intracardiaco, (Grafico 9) las demás tenían los pulmones de color rosado, el hígado normal, riñones normales y estaban delgadas (Tabla 3).



Grafico 9. Necropsia grupo experimental 3. Fotos tomadas por DCQG, estudiante de MVZ de la UTP.

En estudio realizado en Carmen Bolívar, Colombia con bovinos cebuinos, se pudo observar que al suministrar la *Petiveria* alliacea de forma manual puede ocasionar en los bovinos edema duodenal, nódulos linfáticos ligeramente aumentados, enfisema y cianosis pulmonar, degeneración y decoloración cardiaca, muscular y renal, el riñón se encontraba inflamado (29). En altas dosis puede ocasionar aborto en rumiantes (10,14,30).

El grupo experimental 1 se encontró microscópicamente que en los órganos examinados no se evidenciaron cambios estructurales (Tabla 4).

Tabla 3. Hallazgos macroscópicos de las *Rattus norvegicus* cepa Wistar

Hallazgos macroscópicos	Grupo Exp.1 Enfermas/Anamú n=4	Grupo Exp. 2 Enfermas/Sin Anamú n=3	Grupo Exp. 3 Sanas/Anamú n=7
Delgadas ⁺	4 ^a	-	7 ^a
Fibrilación cardiaca ⁺	-	3 ^a	-
Pulmón rosado ⁺	4 ^a	-	6 ^a
Pulmón izquierdo con nódulos ⁺	-	3 ^a	-
Pulmón amarillo anaranjado ⁺	-	-	1 ^b
Hígado normal ⁺	4 ^a	-	6 ^a
Riñones Normales ⁺	4 ^a	-	6 ^a
Riñón izquierdo inflamado ⁺	-	3 ^a	-
Hemotórax ⁺	-	-	1 ^b

a Observación en las *Rattus norvegicus* cepa Wistar. b Observación en la 137 *Rattus norvegicus* cepa Wistar. + Según la prueba chi cuadrado existen diferencias significativas estadísticamente $p < 0.05$.

El grupo experimental 2 se pudo observar microscópicamente áreas de hemorragia en pulmón y edema pulmonar (Tabla 4).

El grupo experimental 3 se observó microscópicamente que no se evidenciaban cambios estructurales. Solamente en la *RncW* 137 se encontró edema pulmonar el cual fue ocasionado por el Eutanex intracardiaco que se usó en el animal para su sacrificio (Tabla 4).

Mientras que en un estudio realizado en México sobre el extracto de la raíz de la *P. alliacea* el cual se suministró en ratas Wistar, se pudo identificar que en la tráquea habían áreas variables de hiperplasia en el epitelio, zonas desprovistas de cilios, signos de aumento en la secreción de las células caliciformes y áreas desprovistas de epitelio que se incrementaron con el tiempo; en los bronquiolos se observó activación de las células de Clara, áreas desprovistas de epitelio, y células mononucleares en la luz del bronquiolo; en el pulmón se identificó engrosamiento de

tabiques alveolares, incremento de las fibras de colágena, congestión y extravasación capilar, además de exudado intralveolar (31).

Tabla 4. Hallazgos microscópicos en las *Rattus norvegicus* cepa Wistar

Hallazgos microscópicos	Grupo Exp.1 Enfermas/Anamú	Grupo Exp. 2 Enfermas/Sin Anamú	Grupo Exp. 3 Sanas/Anamú
Edema pulmonar*	-	3 ^a	1 ^b
Hemorragia*	-	2 ^a	-
Sin hallazgos*	4 ^a	-	6 ^a

a Observación en las *Rattus norvegicus* cepa Wistar. b Observación en la 137 *Rattus norvegicus* cepa Wistar. * Según la prueba chi cuadrado existen diferencias significativas estadísticamente $p < 0.05$.

Conclusiones

Las *Rattus norvegicus* cepa Wistar son susceptibles al aserrín produciendo signos respiratorios como; estornudos, pelaje erizado, ojos y nariz roja; también se pudo observar que las *RncW* no generan inmunidad a signos respiratorios.

El suministro del extracto etanólico elaborado con hojas y tallos jóvenes de *Petiveria alliacea* sirve para los signos respiratorios alérgicos que se producen por el aserrín en las *RncW*.

El suministro del extracto etanólico de *P. alliacea* en las *RncW* produce una disminución de la musculatura en este tipo de animales.

Recomendaciones

Para los investigadores que deseen realizar estudios similares se recomienda el uso hojas y tallos jóvenes para la elaboración del extracto etanólico de *P. alliacea*, el cual tuvo un efecto significativo en la disminución de síntomas respiratorios alérgicos en las *RncW*.

Además se puede tener una muestra con mayor cantidad de animales y teniendo en cuenta que para mejores resultados se podría manejar proporciones iguales en los diferentes grupos de experimentación.

Agradecimientos

Quiero expresar mi más profundo y sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su ayuda han colaborado en la realización del presente trabajo; en especial al MVZ Román Fulgencio Jiménez Aristizabal, por la orientación, el seguimiento y la supervisión continúa de la misma, pero sobre todo por la motivación y el apoyo recibido durante la elaboración del presente.

Especial reconocimiento por el interés mostrado con el proyecto de investigación a mi familia y amigos los cuales me comprendieron, tuvieron paciencia y me dieron mucho ánimo en el transcurso de la elaboración del presente proyecto de investigación.

Bibliografía

1. Fuentes F, Mendoza R, Rosale A, Cisneros A. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Raton [Internet]. Tarqui C, editor. Instituto nacional de salud. Lima; 2008. 1-54 p. Available from: www.ins.gob.pe/insvirtual/images/.../guia_animales_ratón.pdf
2. Pardo L, Pérez A. Del laboratorio al campo abierto: El uso de protocolos de adaptación y socialización en *Rattus norvegicus*. *Suma Psicol.* 2011;18(1):127–9.
3. Salazar L, Restrepo J, Sánchez R. Evaluación nutricional con base en la proteína de dietas con chontaduro (*Bactris gasipaes*) mediante un biomodelo usando ratas de la cepa wistar (*Rattus norvegicus*). Universidad del Valle; 2011.
4. Benavides F, Guénet J. Sistemática de los roedores utilizados en el laboratorio. *Manual de genética de roedores de laboratorio: Principios básicos y aplicaciones.* 2003. 85-104 p.

5. Universidad de Murcia. Anatomía patológica en mamíferos [Internet]. 2012 [cited 2016 Jun 21]. p. 23. Available from: <http://ocw.um.es/cc.-de-la-salud/anatomia-patologica-especial-3/practicas-1/guia-necropsia-mamiferos.pdf>
6. Álvarez I, Segura GDE. Métodos de anestesia, analgesia y eutanasia. 2013;1–34.
7. Close B, Banister K, Baumans U, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, et al. Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. Parte 2. Lab Anim. 1997;31:293–316.
8. Martínez H, García H, B. Berdeja. Toxicidad de acroleína (contaminante ambiental) en tráquea y pulmones de ratas. Artemisa. 2006;31(3):90–6.
9. Carbajal V, Lloja L, Yatto E. Alteraciones en el sistema respiratorio producidas por intoxicación crónica con humo de tabaco en *Rattus norvegicus* variedad sprague dawley a diferentes altitudes. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman; 2003.
10. Melorose J, Perroy R, Careas S. Actualización la tableta de anamú: un medicamento herbario inmunoestimulante. Statew Agric L Use Baseline. 2004;8(3):57–64.
11. Ferrer J. Principales referencias etnomédicas sobre el anamú (*Petiveria alliacea* linn) y principios activos encontrados en la planta. Un acercamiento al tema. Rev CENIC Ciencias Biológicas. 2007;38(1):27–30.
12. Navarro C. El anamú, la inmunología y el cancer. Inmunol Pesqui [Internet]. 2009;2:5–22. Available from: http://www.javeriana.edu.co/universitas_scientiarum/
13. Pérez R, García M, Martínez M, Soto M. Actividad citotóxica y antioxidante de *Petiveria alliacea* L. Rev Chapingo Ser Hortic. 2006;12(1):51–6.
14. Lemus Z, García M, Batista A, de la Guardia O, Castillo A. La tableta de anamú: un medicamento herbario inmunoestimulante. Medisan [Internet]. 2004;8(3):57–64. Available from: http://www.bvs.sld.cu/revistas/san/vol8_3_04/san10304.htm#Categ

15. Santander SP, Hernandez JF, Barreto CC, Masayuki A, Moins-Teisserenc H, Fiorentino S. Immunomodulatory effects of aqueous and organic fractions from *Petiveria alliacea* on human dendritic cells. *Am J Chin Med* [Internet]. 2012 Jan [cited 2016 Jun 21];40(4):833–44. Available from: <http://www.worldscientific.com/doi/abs/10.1142/S0192415X12500620>
16. Castro AJ, Vázquez JM, Xolalpa NC. Medicinal Plants from Mexico , Central America , and the Caribbean Used as Immunostimulants. *Evidence-Based Complement Altern* [Internet]. 2016;1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/4017676>
17. Fernández E, López C. Plantas medicinales presentes en el vivero del centro ambiental de Itaipú binacional (Paraguay): Revisión crítica, catalogación y creación de una base de datos. 2014.
18. Vilchez M. Estudio preliminar de la utilización del Anamú (*Petiveria alliacea*) en la reducción del puerperio bovino en la finca El Rosario, municipio de la Trinidad, departamento de Estelí. Universidad Nacional Agraria; 2007.
19. Batista DA, Urdaneta LI, Colón SM, Esmérito BJ, Puente ZE, Alfonso CA, et al. Efecto protector de *Petiveria alliacea* L. (anamú) sobre la inmunosupresión inducida por 5-fluoruracilo en ratones Balb/c. *Bol Latinoam y del Caribe Plantas Med y Aromat*. 2011;10(3):256–64.
20. Pichardo N, Teo A. Actividad Inmunomoduladora de Especies Cultivadas Nativas de Mesoamérica (*P. alliacea* L y *S. domingensis* Willd). San Carlos de Guatemala; 2010.
21. Zaa C, Valdivia M, Marcelo A. Efecto antiinflamatorio y antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Petiveria alliacea*. *Rev.peru.biol*. 2012;19(3):329–34.
22. Santander P, Urueña C, Castañeda D, Cifuentes C, Aristizábal F, Cordero C, et al. Influencia de *Petiveria alliacea* En La Expresión Diferencial De Genes En Células Tumoraes. *Univ Med Bogotá*. 2009;3(50):284–96.
23. Pacheco AO, Moran JM, Breff DR, María E, Saborít A. Caracterización física, físico-química y química de extractos totales de hojas frescas de *Petiveria*

- alliacea L. con acción antimicrobiana. Rev Mex Cienc Farm. 2013;44(1):52–9.
24. Ferron C. Vías de administración de sustancias en animales de laboratorio [Internet]. <http://www.bioterios.com/2013/post.php?s=2013-05-03-vas-de-administracin-de-sustancias-en-animales-de-laboratorio>. 2013. p. 8.
 25. Rey G, González M, Bermúdez A, Lugo L, Garzón M, Llerena C, et al. Manual para Obtención y envío de muestras para análisis de eventos de interés en salud pública. 2011. 136 p.
 26. Salvador S. Manual de toma manejo y envío de muestras de laboratorio. 2013. p. 19, 44–6.
 27. Universidad Autónoma Metropolitana.Iztapalapa. Manual del Bioterio UAMI [Internet]. 2001. 1-16 p. Available from: http://148.206.32.94/informacion/consejo_divisional/lineamientos/MANUALBIOTERIO.pdf
 28. Santos M. Curso: Animal de experimentación como reactivo biológico en investigación , diagnóstico y control de fármacos. In: Unidad de reactivos y biomodelos de experimentación. 2013. p. 1–29.
 29. Ruiz A. Clinical , morphological , histochemical and clinical pathological studies of anamú (*Petiveria alliacea*) poisoning in cattle [Internet]. Iowa State University; 1972. Available from: <http://lib.dr.iastate.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=6226&context=rtd>
 30. Illnait M, Ferrer J, Blanco A. Efecto antifúngico de un extracto de *Petiveria alliacea* L . CENIC (Ciencias Biológicas). 2010;41(1):79–82.
 31. Fletes V, Soto A, García R, Morán J, Benítez C, Castañeda A, et al. Alteraciones morfológicas en el tracto respiratorio de ratas wistar inducidas por vapores de la raíz de hierba del zorrillo (*Petiveria alliacea*) del suroeste de México. Int J Morphol. 2013;31(1):121–7.