

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO DE LAS
HOJAS DE *Spinacia oleracea* (ESPINACA) EN *Rattus rattus*
*var. Albinus***

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

AUTOR:

CERVERA DELGADO, ALICIA ELIZABETH

ORCID: 0000-0001-8937-9878

ASESOR:

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

CHIMBOTE – PERÚ

2022

1. TITULO:

**TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO DE LAS
HOJAS DE *Spinacia oleracea* (ESPINACA) EN *Rattus
rattus var. Albinus***

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Cervera Delgado, Alicia Elizabeth

ORCID: 0000-0001-8937-9878

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú.

ASESOR Vásquez Corales,

Edison ORCID: 0000-0001-

9059-6394

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú.

JURADO

Ramírez Romero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Arteaga Revilla, Nilda María

ORCID: 0000-0002-7897-8151

Matos Inga, Matilde Anaís

ORCID: 0000-0002-3999-8491

HOJA DE FRIMA DEL JURADO Y ASESOR

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Presidente

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro

Mgtr. Matilde Anaís Matos Inga

Miembro

Dr. Edison Vásquez Corales

Asesor

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, mi alma mater por brindarme formación profesional, aspectos éticos y morales para darme paso a un mundo lleno de oportunidades.

A mi madre por compartir lecciones, conocimientos y valiosos aportes en la ejecución de la investigación para formarme como un gran profesional.

A la Q.F. Mily Ormeño Llanos por la gran cordialidad y apoyo en la realización y ejecución de mi tesis.

A la Q.F. Liz Elva Zevallos Escobar y al Q.F Vásquez Corales Edison por su tiempo, cordialidad, gran apoyo y consejos en el desarrollo de mi tesis.

Muchas gracias, por contribuir con este logro.

DEDICATORIA

A Dios que me permite lograr todo por darme la vida y ha sido mi refugio espiritual en todo momento.

El esfuerzo y dedicación que he puesto en este informe va dedicado con todo mi amor a mis abuelos Luis y Zoraida a quienes les hice la promesa que lograría ser una profesional; sé que los tengo viéndome desde el cielo con una sonrisa de orgullo.

A padres quienes son el principal pilar de mi vida profesional; quienes me han apoyado de infinitas maneras, depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin tener duda alguna de mi inteligencia y potencial para esforzarme en lo que quiero lograr.

A mis hermanas y hermano a quienes les debo muchas desveladas ya que son a quienes quiero dar ejemplo a que continúen con todo lo que se propongan.

Gracias.

Alicia

RESUMEN

El objetivo principal de la presente investigación fue determinar la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (*Espinaca*) en *Rattus rattus* var. *Albinus*. El estudio fue experimental. Se desarrolló a través del método para determinar la toxicidad aguda oral en ratas, por lo que se trabajó con ratas hembras que fueron divididas en un grupos control y un grupo experimental. Al grupo experimental se le administró por vía nasogástrica, 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* y al grupo control se le administró agua destilada isovolumetricamente y se mantuvo en seguimiento constante las 4 primeras horas para la evaluación de la reacción y se mantuvieron en observación durante 14 días. Los resultados demuestran una disminución de 25.63 g en el peso promedio el grupo experimental, mientras que el grupo control disminuyó 14.85 g. En los análisis bioquímicos se obtuvieron valores promedio de triglicéridos elevado (286.67 mg/dL), glucosa y colesterol normales, proteínas totales 5.02 g/L y albumina con un resultado de 2.51 g/L, en general, los valores obtenidos en los parámetros bioquímicos en sangre no mostraron alteraciones significativas asociado a la administración y se encuentran dentro de los parámetros normales. Por lo que se concluyó que las hojas de *Spinacia oleracea* (*Espinaca*), no tiene toxicidad aguda oral a dosis única de 2000 mg/kg en *Rattus rattus* var. *Albinus*.

Palabras clave: *Spinacia oleracea*, Toxicidad aguda oral, extracto hidroalcohólico.

ABSTRACT

The main objective of the present investigation was to determine the acute oral toxicity of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Spinacia oleracea* (Spinach) in *Rattus rattus* var. *Albinus*. The study was experimental. It was developed through the method to determine the acute oral toxicity in rats, for which we worked with female rats that were divided into a control group and an experimental group. The experimental group was administered by nasogastric route, 2000 mg/kg of the hydroalcoholic extract of the leaves of *Spinacia oleracea* and the control group was administered isovolumetrically distilled water and was kept in constant follow-up the first 4 hours for the evaluation of the reaction and they were kept under observation for 14 days. The results show a decrease of 25.63 g in the average weight of the experimental group, while the control group decreased 14.85 g. In the biochemical analyses, average values of high triglycerides (286.67 mg/dL), normal glucose and cholesterol, total proteins 5.02 g/L and albumin with a result of 2.51 g/L were obtained, in general, the values obtained in the biochemical parameters in blood did not show significant alterations associated with the administration and are within normal parameters. Therefore, it was concluded that the leaves of *Spinacia oleracea* (Spinach) do not have acute oral toxicity at a single dose of 2000 mg/kg in *Rattus rattus* var. *Albinus*.

Keywords: *Spinacia oleracea*, Acute oral toxicity, hydroalcoholic extract.

6. CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| 1. TITULO:..... | ii |
| 2. EQUIPO DE TRABAJO | iii |
| 3. HOJA DE FRIMA DEL JURADO Y ASESOR | iv |
| 4. HOJA DE AGRADECIMIENTOSY/O DEDICATORIA | v |
| 5. RESUMEN Y ABSTRACT | vii |
| 6. CONTENIDO | ix |
| 7. INDICE DE TABLAS | x |
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. REVISIÓN DE LA LITERATURA | 4 |
| III. HÍPÓTESIS:..... | 13 |
| IV. METODOLOGÍA | 14 |
| 4.1. Diseño de la investigación | 14 |
| 4.2. Poblacion y muestra..... | 16 |
| 4.3. Definición y operacionalizaciòn de variables | 17 |
| 4.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos | 17 |
| 4.5. Plan de análisis..... | 18 |
| 4.6. Matriz de consistencia..... | 19 |
| 4.7. Principios éticos..... | 20 |
| V. RESULTADOS | 21 |
| 5.1 Resultados..... | 21 |
| 5.2 Análisis de resultados | 24 |
| VI. CONCLUSION | 28 |
| ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:..... | 28 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS: | 29 |
| ANEXOS | 38 |

INDICE DE TABLAS:

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Peso promedio de <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i> antes y después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de <i>Spinacia oleracea</i> | 21 |
| Tabla 3. Manifestaciones clínicas en <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i> después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> | 22 |
| Tabla 4. Parámetros bioquímicos en sangre de <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i> después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de <i>Spinacia oleracea</i> | 23 |

I. INTRODUCCIÓN

La toxicidad es estudiada como parte importante en el desarrollo y proceso de un nuevo fármaco, sustancias químicas y plantas medicinales, evaluando el potencial de riesgo y peligro que un agente físico o químico puede causar en la salud humana.⁽¹⁾

Mediante esta realidad se estudia diversas especies vegetales teniendo control de las propiedades toxicológicas que tenga la especie para poder evitar diversos efectos adversos, como también, conocer y estudiar las propiedades beneficiosas que contenga.⁽²⁾

Las plantas medicinales han sido de suma importancia para el hombre desde hace miles de años, han sido utilizadas en la prevención y tratamiento de distintas enfermedades a lo largo del tiempo y por distintas épocas y culturas, ya que cumplen funciones indispensables para nuestro planeta y la vida sobre la tierra. Las plantas aseguran la producción y renovación de oxígeno necesario para la vida y son indispensables para la alimentación de los seres vivos; y a su vez, contienen principios medicinales, por ello se ha intensificado los estudios científicos sobre las plantas, cuyos resultados avalan sus propiedades medicinales.⁽³⁾

A nivel mundial el 80% de la población para la atención primaria de salud recurre u opta por la medicina tradicional o herbolaria.⁽²⁾

La planta *Spinacia oleracea* (Espinaca) pertenece a la familia de Amaranthaceae, es cultivada como verdura debido a sus hojas comestibles, que son grandes y de color verde oscuro. Tienen un gran aporte de vitaminas y minerales tales como Vitamina A, C, D, B6, B12 y minerales tales como Hierro, Calcio, Magnesio, Fósforo, Sodio y

Potasio. De igual manera se le atribuyen otras propiedades como Ácido fólico, Betacaroteno, Proteínas, Nitratos, Hidratos de carbono y Fibra. ⁽⁴⁾

Se realizaron diversos estudios referentes a las espinacas, revelando su alto contenido de nitratos, provenientes de la fertilización con compuestos inorgánicos que provocan que se acumulen en el vegetal. ⁽⁵⁾

Las hierbas y especies vegetales han ayudado en el tratamiento de enfermedades por cientos de años en todo el mundo y a lo largo de la historia se ha ido incrementando los estudios botánicos, herbolarios, terapéuticos y medicinales como uso de medicina alternativa y natural. ⁽⁶⁾

En países en desarrollo por medio de un estudio, la Organización Mundial de la Salud (OMS) planteó como estrategia seguir evaluando sobre medicina tradicional a las plantas con función terapéutica ya que desde el año 2002 se obtuvo un incremento en el uso de medicina tradicional principalmente en tratamiento en hospitales donde se observó una notable mejoría de alivio en los pacientes, disminuyendo la complicación de las reacciones adversas que causa algunos fármacos, igualmente en el gran incremento en el consumo de medicamentos naturales. ⁽⁷⁾

En el Perú se consume mucho la espinaca porque se le atribuye su gran valor nutritivo debido a su elevado contenido en agua y rico en vitaminas y minerales. Ya que contiene: Prótidos, lípidos, calcio, fósforo, hierro, glúcidos, vitamina A, vitamina B1, vitamina B2, vitamina C, y alto valor energético. ⁽⁴⁾

Existen diversas plantas con contenido tóxico ya que presenta un principio tóxico que al ser ingerida puede causar daño en el organismo o en casos más graves, la muerte; por

ello también se le denomina o nombra como “veneno”, ya que afecta el funcionamiento normal del organismo una vez sido ingerido, causando daños severos o incluso hasta la muerte. El efecto tóxico de las plantas se puede deber tanto a su composición tóxica, tales como: Taninos, nitratos, alcaloides, nitritos, ácido cianhídrico (HCN), saponinas, glucósidos, oxalatos siendo los más conocidos que conforman su grado de toxicidad; debiéndose a factores internos; como por ejemplo, la parte que se utilizará de la planta, la etapa fisiológica y la concentración de su principio tóxico; como también factores externos que influyen en la planta, tales como, el suelo, el clima, agentes infectantes del medio ambiente o químicos, etc.⁽⁶⁾

Según diferentes estudios, se ha demostrado toxicidad dependiendo de la variedad de la espinaca y de la maduración de las hojas como consumo crudo.

En base a lo antes escrito se propone la pregunta de investigación ¿Tendrá toxicidad aguda oral el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca) en *Rattus rattus* var. *Albinus*?

Objetivo general

Determinar toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca) en *Rattus rattus* var. *Albinus*.

Objetivos específicos

- a) Determinar el peso promedio de *Rattus rattus* Var. *albinus* antes y después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Spinacia oleracea*.

- b) Observar las manifestaciones clínicas en *Rattus rattus* Var. *albinus* después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea*.
- c) Analizar parámetros bioquímicos en sangre de *Rattus rattus* Var. *albinus* después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Spinacia oleracea*.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES

Lagarto A. et al. Realizaron estudios de toxicidad aguda oral y ensayos de irritación de extractos acuosos e hidroalcohólico de *Momordica charantia* L. con la finalidad de caracterizar su potencial toxicológico agudo. Fue realizado en ratas Wistar hembras mediante el método de las clases tóxicas agudas, con la dosis máxima de 2000 mg/kg de extracto hidroalcohólico de *Momordica charantia* L. En su resultado mostró signos tóxicos por causa de la presencia de etanol en el extracto y una ligera disminución del peso corporal que no fue significativa, por lo que determinaron que los extractos no producen toxicidad aguda por vía oral y tópica. ⁽⁸⁾

Dueñas et al, en su trabajo de experimentación tuvieron como objetivo evaluar la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui* , empleando 20 ratas divididos en dos subgrupos de 5 ratas hembras y 5 machos para,

aplicaron el método de dosis única de 2000 mg/kg vía oral, como resultado no se hubo ganancia de peso y no hubo lesiones anatomopatológicas macroscópicas ni signos de toxicidad durante los 14 días post administración, por lo que concluyeron que el extracto hidroalcohólico concentrado de la planta *Chuquiraga jussieui* se catalogó como no clasificado según la metodología de la OMS y como Categoría 5 por la GHS, OECD, considerándose no tóxica vía oral.⁽⁹⁾

Mena Y, et al. En su investigación tuvieron como objetivo evaluar la actividad gastroprotectora y la toxicidad aguda de las hojas de *Cnidocolus chayamansa*. Utilizaron como método para la actividad gastroprotectora con extracto etanolito a dosis de 100, 200 y 400 mg/kg, y la toxicidad aguda a dosis única de 2000 mg/kg en ratas. En sus resultados de la actividad gastroprotectora fueron de un porcentaje de inhibición del grado de ulceración de 21 % en dosis de 100 mg/kg, 99 y 100 % en dosis de 200 y 400 mg/kg, respectivamente. En los resultados de toxicidad se evidenció un aumento de peso promedio de 167.7 g en el grupo experimental, en el análisis macroscópico de los órganos no se observó afectación en ninguno de ellos. Por lo que concluyeron que sí tiene actividad gastroprotectora y es inocua por vía oral.⁽¹⁰⁾

Victoria M. et al, tuvieron como objetivo validar la actividad antiinflamatoria y toxicidad aguda de los extractos acuoso e hidroalcohólico de las hojas de *Annona squamosa L.* Realizaron un estudio de toxicidad aguda con dosis máxima de 2000 mg/kg vía oral en ratas hembras y machos. No se evidenció signos clínicos, ni daños macroscópicos en el estudio, por lo que se determinaron los extractos no producen toxicidad aguda oral.⁽¹¹⁾

Guaycha N. et al, realizaron estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares del tallo, raíz y hojas de *Moringa oleifera Lam.* en extractos hidroalcohólicos al 30%, 50% y 70%, con dosis máxima de 2000 mg/kg por vía oral en ratas wistar, realizaron ensayos hematológicos y bioquímicos de aminotransferasa de aspartato (AST), aminotransferasa de alanina (ALT), úrea y creatinina y macroscópicos a los órganos, cuyos resultados hematológicos y bioquímicos estuvieron dentro de los parámetros normales y hubo un incremento de peso de 20 g en el grupo experimental y en los análisis macroscópicos no evidenciaron daño en ningún órgano, por lo cual concluyeron que el extracto hidroalcohólico de *Moringa oleifera Lam.*, no produjo mortalidad ni indicadores de toxicidad.⁽¹²⁾

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

Toxicología y estudios toxicológicos

La toxicología estudia la identificación y cuantificación de efectos secundarios o reacciones adversas dadas por la exposición a sustancias químicas o agentes físicos, cuyo estudio e información es un gran aporte para la medicina y epidemiología, para poder analizar la etiología de diferentes enfermedades; en otros casos se puede complementar con toxicología que generaliza el estudio de los mecanismo de acción de los agentes tóxicos a partir de pruebas y así interpretar y determinar el o los agentes tóxicos.⁽¹³⁾

El objetivo principal del organismo es dar conocer ciertas sustancias químicas que pueden causar algún efecto desfavorable, analizar y detectar los niveles que poseen sustancias, y que compuestos son seguros y aquellos agentes que pueden ser tóxicos para la humanidad. Estas pruebas toxicológicas generalmente, investiga las condiciones que se da para que las células biológicas del organismo se vean afectadas por la actividad tóxica de una determinada estructura química o agente químico.⁽¹⁴⁾

Toxicidad

Se dice toxicidad al índice terapéutico de los efectos secundarios ya sean más intensos o menos intensos o graves en algunos casos por lo que la toxicidad viene a ser una parte del estudio del índice terapéutico tóxico, que se puede evidenciar por la presencia de signos tóxicos y mortalidad, mostrando datos fisiológicos irreversibles o reversible.⁽¹⁵⁾

Tipos de toxicidad

Los tipos de toxicidades se clasifican dependiendo del órgano o tejido en riesgo que puede ser o ha sido afectado, como, por ejemplo, en el caso de la zona de cabeza y cuello, se puede dar el efecto tóxico o efecto secundario tanto en la piel y el tejido celular subcutáneo, como también se puede evidenciar en las glándulas salivales, las mucosas, la laringe, el ojo y oído, la toroides, las articulaciones mandibulares, los tejidos blandos y la médula cervical. Dado como ejemplo el área anatómica de cabeza y cuello se pueden dar diversos cuadros clínicos como xerostomía que es la que predispone la generación de mucositos, disminuyendo la actividad antimicrobiana de las mucosas salivales. ⁽¹⁶⁾

Clasificación

Históricamente la toxicidad derivada del tratamiento radioterápico se ha separado en dos grandes grupos: agudos y crónicos. En la actualidad la tendencia es a evitar esta diferenciación tan artificiosa y considerar la toxicidad como un espectro continuo, aunque a efectos de clasificación es necesario delimitar alguna frontera. Así la definición clásica de efectos agudos y crónicos es la siguiente: ⁽¹⁶⁾

a) Toxicidad aguda

Es la capacidad de una sustancia o mezcla para producir diferentes tipos de efectos adversos, signos, síntomas y efectos tóxicos a corto plazo (usualmente 24 horas, pero se admite hasta 14 días máximo) después de la administración de una dosis única, (una exposición dada) o tras dosis o exposiciones múltiples en 24 horas.¹⁴ Dosis Letal 50

dosis, Estas son calculadas estadísticamente, de un agente físico o químico (radiación) que se espera que provoque la muerte aproximadamente 50 a 100 de los organismos de una población bajo un conjunto de 14 condiciones establecidas. ⁽¹⁷⁾

b) Toxicidad crónica

Crónicos o tardíos: Definiéndose como la determinación de causar daño a largo plazo, con efectos que tienen un periodo de latencia, manifestándose después de un largo tiempo con efectos crónicos tóxicos que resultan de una toxicidad leve o repetidas exposiciones a lo largo de un periodo. Los efectos crónicos pueden ser mutagénicos, neurológicos, daño a sistema reproductor o cancerígenos. ⁽¹⁸⁾

Escala de toxicidad

La escala de toxicidad de estudia de acuerdo a los niveles de ítems y clasificación de la severidad que son en signos G°, como: G°0 es la ausencia de alguna sustancia tóxica, G°1 es un grado leve de toxicidad, G°2 es grado moderado, G°3 grado indeseable y severa de toxicidad, G°4 toxicidad con riesgo de vida de forma importante, G°5 muerte causado por toxicidad. ⁽¹⁶⁾

Dosis tóxica:

El daño permanente hacia el organismo se debe a la cantidad de droga que se administra, el grado de toxicidad se relaciona con la relación de la naturaleza y puede presentar en forma aguda, semi aguda o crónica. Este de evaluar utilizando animales de mayor complejidad como ratones o ratas. ⁽¹⁹⁾

TAXONOMÍA:

Nombre científico: *Spinacia oleracea*

Nombre común: Espinaca

Clase: Equisetopsida

Subclase: Magnoliidae

Orden: Caryophyllales

Familia: Amaranthaceae

Género: *Spinacia*

Especie: *Oleracea* L.

FAMILIA AMARANTHACEAE

La familia que es perteneciente a la orden Caryophyllales, abarca un alrededor de 160 géneros y 2,400 especies. Su mayoría son hierbas o sub arbustos con unos cuantos árboles y trepadoras. La Amaranthaceae es una familia grandemente extendida y su hábitat se encuentra localizado en regiones tropicales y subtropicales. La mayor parte de las especies se dan en África tropical y Norte América, pero algunas de sus especies de la familia Amaranthaceae son oriundas de las regiones templadas. La familia Amaranthaceae era una familia que estaba separada de la Chenopodiaceae por las características que presentaban como los tépalos, brácteas suculentas y los estambres libres entre sí. Sin embargo, los estudios filogenéticos de caracteres moleculares

fundamentan la unión de ambos bajo Amaranthaceae. Numerosos géneros exóticos son utilizados como plantas ornamentales, otras especies del mismo género son utilizadas como forrajeras y como plantas medicinales. ⁽²⁰⁾

GÉNERO SPINACIA

La espinaca alrededor del año 1000 DC. C. se introdujo en Europa desde la región asiática, pero en el siglo XVIII comenzó a extenderse por toda Europa, principalmente en los Gran Bretaña, Países Bajos y Francia para su cultivo y desarrollo. Luego se fue distribuyendo hacia otros países incluyendo Estados Unidos y Latinoamérica. ⁽²¹⁾

El término espinaca, según el diccionario etimológico, está relacionado con la palabra latina (astilla, espina). La planta no tiene espinas, pero su nombre es original de Persia. En sus orígenes se llamó aspanachy, luego cambió a árabe, se llama isfina, y luego se hizo conocida en latín como *Spinacia*. ⁽²¹⁾

MORFOLOGÍA:

El tallo mide de 30 cm a 1cm de longitud en él se encuentra sus flores. Las hojas son de color verde oscuro con un aspecto cóncavo cuyo tamaño es variable dependiendo de la madures, son más o menos alternas y pecioladas en su forma y consistencia variable. ⁽²²⁾

VARIEDADES.

La clasificación de las espinacas se da por distintos criterios como por ejemplo la época de siembra, aspecto del cogollo, forma de las hojas y del tallo. Las variedades comerciales cultivadas pertenecen a semilla espinosa de la espinaca, donde sus hojas triangulares tienen un limbo que tiene dimensiones algo reducidas y una superficie lisa con periodo largo.⁽²²⁾

TEMPERATURA Y HÁBITAD:

Esta especie se cultiva y desarrolla en un ambiente frío, con temperatura mínima de crecimiento es de aproximadamente 5°C, aunque esta especie puede soportar temperaturas por debajo de los 0°C.⁽²³⁾

VALOR NUTRITIVO

La espinaca tiene gran valor debido a su elevado contenido en agua y rico en vitaminas y minerales. Ya que contiene: Prótidos, lípidos, calcio, fosforo, hierro, glúcidos, vitamina A, vitamina B1 y B2, vitamina C, valor energético.⁽²⁴⁾

USOS TERAPEUTICOS:

La espinaca tiene diversos usos en la medicina tradicional o complementaria, en los que se le destaca su efecto antioxidante, su efecto antiinflamatorio, antibacteriano, antiproliferativo, anticancerígeno. Cuyos efectos se le atribuye debido a su mecanismo de acción de los compuestos bioactivos presentes en la planta medicinal,

dentro de su valor nutritivo y la composición fitoquímica de la planta de espinaca la convierten en una excelente matriz en la medicina tradicional y un conservante natural.⁽²⁵⁾

VALORES FISIOLÓGICOS DE LOS ROEDORES DE EXPERIMENTACIÓN

Estas medidas se logran a través de información obtenida por medio de la palpación o la observación de los animales. Son parámetros sujetos a variaciones multifactoriales que reflejan mecanismos homeostáticos, que se utilizan como punto de referencia para diagnosticar el grado de normalidad o anormalidad de un organismo, ya que sufren variaciones acordes a las diferentes etapas de la vida y las condiciones físico-ambientales con las que el organismo se encuentra en contacto.⁽³³⁾

Periodo de observación: El tiempo de observaciones es de mínimo 14 días, tiempo necesario para determinar reacciones tóxicas, desde que inician los signos hasta que desaparezcan o se registre alguna muerte.

Exámenes clínicos: En el análisis clínicos se realiza observaciones de daño en membranas mucosas, en el pelaje, sistema respiratorio, autónomo y actividad somatomotora y se realiza la necropsia a los animales muertos.

Signos clínicos: Se analiza el comportamiento, temblores, convulsiones, salivación, diarrea, sueño, sedación, el tiempo de muerte, el peso en los días 1,7 y 14.⁽³⁵⁾

III. HIPÓTESIS:

H_a: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracia* (Espinaca), si tiene toxicidad aguda oral en *Rattus rattus* var. *Albinus*.

H₀: El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracia* (Espinaca), no tiene toxicidad aguda oral en *Rattus rattus* var. *Albinus*.

IV. METODOLOGÍA

4.1. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo de tipo aplicativo con diseño experimental.

4.1.1. Obtención de la droga vegetal

Las hojas de *Spinacia Oleracea* (Espinaca) fueron recolectadas En el distrito de Santa, provincia del Santa, departamento de Ancash a (6 m.s.n.m.). Estas fueron secadas en estufa a 45°C durante 4 horas posteriormente pulverizadas y almacenadas.

4.1.2. Obtención del extracto hidroalcohólico:

Hidroalcohólico:

Para la preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca) , se recolectó y secó 5 kilos de hojas de espinaca a 45°C , luego se pulverizó, se obtuvo 100.3 g del material vegetal y se maceró en 850 mL de alcohol al 80% a temperatura ambiente. Se filtró y evaporó el solvente para obtener el extracto. El ensayo se realizó en la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH).

4.1.3. Determinación de sólidos totales

Método de Gravimétrica:

Se pesó una cápsula de porcelana vacía, se vierte 1 mL de extracto previamente tarado, llevando a la cocina a 40°C para ser evaporada hasta que el residuo esté aparentemente seco, retirar de la cocina, volver a pesar la cápsula de porcelana más muestra de extracto, llegando a determinar que por cada 1 mL de extracto fluido contiene 0.10 g de extracto seco.⁽²⁶⁾

4.1.4. Determinación de la toxicidad aguda oral:

Se trabajó con ratas hembras var. *Albinus* (200 ± 20 g), tratándose con el extracto hidroalcohólico de hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca).

Utilizando el método de Clases Tóxicas Agudas, administrando el extracto hidroalcohólico de las hojas de espinaca por vía oral, calculada en base al análisis de sólidos totales del extracto.

Se administró por vía oral la dosis máxima de 2000 mg por kilogramo de peso corporal del animal de experimentación.

Se empleó 8 ratas los cuales se les retiró la alimentación 12 horas antes de la administración del extracto, que se clasificaron por grupos en el que al primer grupo (grupo control) se le administró agua destilada isovolumetricamente y al segundo grupo (experimental) se le administró la dosis máxima de 2000 mg/kg de peso por vía oral que se administró con una sonda nasogástrica. A los animales se les realizó un seguimiento constante por las 4 primeras horas para la evaluación de reacción continuando durante

los 14 días siguientes; registrando en las primeras 24 horas las muertes dadas según protocolo, registrándose cualquier signo clínico que se observe durante 14 días de la administración del extracto.⁽¹²⁾

Las observaciones clínicas a los animales incluyeron el comportamiento y el estado físico general; de las mucosas nasales y oculares en busca de secreciones y de la piel y pelaje, de igual manera se les observó su frecuencia respiratoria, sistema nervioso central y autónomo, en busca de cambios. Se realizó, además, la palpación del abdomen, se evaluó la actividad somato motora y se prestó especial atención a la posible ocurrencia de signos como temblores, convulsiones, diarrea, letargo, salivación, sueño y coma.⁽²⁷⁾

Se realizaron determinaciones bioquímicas sanguíneas, al finalizar el tiempo de experimentación. La obtención de sangre se realizó por punción cardíaca, previo ayuno de 12 h de los animales. Se determinó glucosa, colesterol total, triglicéridos, proteínas totales y albúmina.⁽²⁸⁾

Concluido el ensayo, se sacrificaron a los animales con una sobredosis de Tiopental.

Se realizó necrosis de todos los animales experimentados para los respectivos exámenes macroscópicos del hígado de *Rattus rattus* var. *Albinus*⁽²⁹⁾

4.2. POBLACION Y MUESTRA

4.2.1. Material botánico

Se obtuvieron 5 kilos de hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca), lo cual fue recolectado en el distrito de Santa, provincia del Santa, departamento de Ancash a (6 m.s.n.m.).

Luego se llevó al Herbarium truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo (UNT), para su identificación, posteriormente su verificación taxonómica.

4.2.2. Material biológico

Se emplearon 8 ratas albinas hembras de 2 meses de edad, con un peso promedio de (200 ± 20 gramos), que fueron adquiridas en el bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia - Lima.

4.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| Variable | Definición conceptual | Definición operacional | Indicador |
|--|---|---|---|
| <p>Dependiente:</p> <p>-Toxicidad aguda oral del extracto de hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (<i>Espinaca</i>)</p> | <p>La toxicidad aguda oral es la capacidad de una sustancia o mezcla para producir diferentes tipos de efectos adversos en corto plazo (usualmente 24 horas) después de la administración de una dosis única.</p> | <ul style="list-style-type: none"> - Medición peso y talla - Análisis de laboratorio - Evaluación de signos clínicos. - Evaluación macroscópica de órganos y tejidos. | <ul style="list-style-type: none"> - Peso (g) - Glucosa (g/dl) - Triglicéridos (mg/dl) - Proteínas totales (g/L) - Albumina (mg/dl) - Colesterol (mg/dl) - Piloerección (presenta / no presenta) |
| <p>Independiente:</p> <p>Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (<i>Espinaca</i>).</p> | <p>El extracto hidroalcohólico actúa como disolvente para la disolución de principios activos de una planta.</p> | <p>Efecto tóxico agudo</p> | <p>- 2000 mg/kg de peso</p> |

4.4. TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se utilizó la medición y observación de manera directa, registro y otras características físicas, macroscópicas que se observen en la evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca). Los datos obtenidos ser registraron en tablas elaboradas en una hoja de cálculo.

4.5. PLAN DE ANÁLISIS

El análisis de los datos se presentó a través de tablas elaboradas en una hoja de cálculo de Microsoft Excel 2016 que indican la distribución de frecuencias y porcentajes considerando promedio aritmético para evaluar el efecto tóxico.

4.6. MATRIZ DE CONSISTENCIA

| TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN | FORMULACIÓN DEL PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPOTESIS | VARIABLE | TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN | POBLACIÓN Y MUESTRA |
|---|---|---|--|---|--|---|
| <p>TOXICIDAD AGUDA ORAL DEL EXTRACTO DE LAS HOJAS DE <i>Spinacia oleracea</i> (ESPINACA) EN <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i></p> | <p>¿Tendrá toxicidad aguda oral el extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca) en <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i>?</p> | <p>Objetivo general.</p> <p>Determinar toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca) en <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>a) Determinar el peso promedio de <i>Rattus rattus</i> Var. <i>Albinus</i> antes y después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de <i>Spinacia oleracea</i>.</p> <p>b) Observar las manifestaciones clínicas en <i>Rattus rattus</i> Var. <i>Albinus</i> después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i>.</p> <p>c) Analizar parámetros bioquímicos en sangre de <i>Rattus rattus</i> Var. <i>Albinus</i> después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de <i>Spinacia oleracea</i>.</p> | <p>Hipótesis alternativa:</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca), si tiene toxicidad aguda oral en <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i>.</p> <p>Hipótesis nula:</p> <p>El extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca), no tiene toxicidad aguda oral en <i>Rattus rattus</i> var. <i>Albinus</i>.</p> | <p>Dependiente</p> <p>Toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca)</p> <p>Independiente</p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca).</p> | <p>Estudio de tipo aplicativo con diseño experimental.</p> | <p>Hojas de <i>Spinacia oleracea</i> (Espinaca)</p> <p>Muestra vegetal:</p> <p>Se empleó aproximadamente 5 kilos de hojas</p> |

4.7. PRINCIPIOS ÉTICOS

En el estudio se valoró ante todo los principios éticos alineado al código de ética y su reglamento versión 004 del 2021 – Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. Se promueve la memoria del uso ancestral de plantas en la actualidad reconocimiento para preservar la cultura del país, registrando así con el estudio, los datos relevantes, fortaleciendo desde lo científico las propiedades terapéuticas, causando impacto como fuente de nuevos medicamentos y otros beneficios para la humanidad. La finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad, puesto que es un bien común. El manejo de animales de experimentación se realizó con el debido cuidado y respeto del bienestar acorde a los objetivos de la investigación, evitando por ende un sufrimiento innecesario.⁽³⁰⁾ Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, que promueve la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales, para preservar su legado cultural y registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. ⁽³¹⁾

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1 Peso promedio de *Rattus rattus* Var. *Albinus* antes y después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Spinacia oleracea*.

| GRUPO | DIA 1 | DIA 7 | DIA 14 | Δ 1 - 14 día |
|---------------------|--------------|--------------|---------------|-------------------------|
| EXPERIMENTAL | 227.28g | 205.47g | 201.65g | 25.63g |
| CONTROL | 238.65 g | 233.37 g | 223.8 g | 14.85g |

onde peso promedio g
Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2 Manifestaciones clínicas en *Rattus rattus* var. *Albinus* después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea*.

| Órganos y sistemas | Grupo control negativo | | | | Grupo experimental 2000 mg/kg | | | |
|-------------------------|------------------------|------------|-------------|------------|----------------------------------|---------------|-------------|----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| Nº de Ratas | | | | | | | | |
| Autónomo | NSP | NSP | NSP | NSP | Somnolencia | Somnolencia | Somnolencia | Somnolencia |
| Comportamiento | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | Sedación leve | NSP | Sedación leve |
| Sensorial | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Frecuencia cardiaca | 152 lpm | 194 lpm | 200 lpm | 164 lpm | 70 lpm | 68 lpm | 80 lpm | 92 lpm |
| Frecuencia respiratoria | 84/ min | 98/ min | 100/ min | 96/ min | 100/min | 100/min | 69/min | 86/min |
| Ocular | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Gastrointestinal | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP | NSP |
| Cutáneo | NSP | NSP | NSP | NSP | Piloerección leve | NSP | NSP | Piloerección leve |

Leyenda:

NSP = No se presentó

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 3 Parámetros bioquímicos en sangre de *Rattus rattus* var. *Albinus* después de 14 días de la administración de dosis única por vía oral del extracto hidroalcohólico de *Spinacia oleracea*.

| | GLUCOSA | COLESTEROL | TG | PROTEINAS TOTALES | ALBUMINA |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-----------------|----------------------|----------|
| Grupo control (Blanco) | 97.95 mg/dL | 60.4 mg/dL | 216.25 mg/dL | 5.73 g/L | 2.99 g/L |
| Grupo experimental (2000mg/Kg) | 91.3 mg/dL | 31.77 mg/dL | 286.67 mg/dL | 5.02 g/L | 2.51g/L |

Leyenda:

TG: Triglicéridos

Fuente: Datos propios de la investigación.

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis de toxicidad aguda oral de las hojas de *Spinacia oleracea* se desarrolló a partir de la determinación de toxicidad aguda oral del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca) en *Rattus rattus* var. *Albinus*. La planta *Spinacia oleracea* pertenece a la familia de Amaranthaceae, es cultivada como verdura debido a sus hojas comestibles, grandes y de color verde oscuro. Tienen elevado contenido en agua y fitoquímicos como polifenoles, flavonoides, carotenoides y ácido ascórbico.⁶

En el análisis de toxicidad aguda por vía oral en *Rattus rattus* var. *Albinus*, se realizó el control del peso de los animales de experimentación, como se muestra en la **TABLA 1** en el que, desde el primer día de estudio, seguido el séptimo día de estudio y culminando el pesaje del día catorce y ultimo del análisis en el que cuyo resultado mostraron una reducción en los pesos corporales de los animales del grupo experimental que en promedio es una disminución de peso de 25. 63g. Según Cossio et al ⁽³²⁾, en su estudio explica que la razón de algunas pérdidas de peso en los animales de investigación se debe, a que estos están expuestos a diferentes procedimientos durante el desarrollo de la investigación, el peso corporal normal de *Rattus rattus* es de 276.5 ± 111.70 gr, de acuerdo a los días de crecimiento final. Por lo que podemos concluir que el resultado del presente estudio, en cuanto a la disminución del peso de los animales de experimentación, no parece ser atribuida a la planta de ensayo, ya que no se reflejó diferencias en el consumo de agua y alimentos entre los grupos y no se considera una diferencia significativa debido a que está dentro de los parámetros normales. En comparación con Victoria M. ⁽¹¹⁾ en su estudio analizó la toxicidad aguda con extracto hidroalcohólico a diferentes concentraciones de etanol (30%, 50%, 70%), en la cual

tuvo como resultado una disminución del peso promedio en 30% de 16.5 g, en 50% de 13.07 g y al 70% 22.36 g. por lo que concluyo que no son datos significativos que se asocien a un efecto tóxico del extracto.

Así mismo en la **TABLA 2** se observó la comparación de las manifestaciones clínicas – tóxicos en las ratas del grupo control con las del grupo experimental después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca), cuyo resultado evidenció somnolencia en todas las ratas del grupo experimental, sedación leve de aproximadamente 20 minutos en la rata 2 y 4 del grupo experimental, luego regresaron a la normalidad, de igual forma se pudo observar piloerección leve en las ratas 1 y 4 del grupo experimental; también se evidenció una disminución de la frecuencia cardiaca en la rata 2 la cual obtuvo un resultado de 68 l/min, también hubo una disminución de la frecuencia respiratoria en la rata 3 del grupo experimental debido al estado de somnolencia que presentó; a nivel sensorial, gastrointestinal, ocular no presentaron signos asociados a toxicidad (NSP), por lo que se considera una vez más, que dicha planta no muestra como resultado signos tóxicos.

Sánchez J.⁽³³⁾ en su estudio analizó los valores fisiológicos de roedores de experimentación en los que detalla los valores normales en cuanto a frecuencia respiratoria, cuyo rango normal para ratas es 66 – 114 r/min y frecuencia cardiaca el rango normal es de 250-600 l/min. Estos datos son relevantes por deberse al mismo espécimen de experimentación y comparable según sus valores o estándares normales.

En los parámetros bioquímicos sanguíneos como se observa en la **TABLA 3** son de gran valor en los ensayos toxicológicos, ya que son indicativos del alcance y

profundidad de un daño. Además, los resultados alcanzados pueden ser correlacionados con los posibles daños sobre un órgano específico. La obtención de sangre se realizó por punción cardiaca, previo ayuno de 12 horas de los animales.

Se determinó glucosa, colesterol, triglicéridos, proteínas totales y albumina. En los cuales se obtuvo como resultado promedio de glucosa de las ratas del grupo experimental de 91.3 mg/dL; en cuanto al valor promedio de colesterol el resultado fue de 31.77 mg/dL, el resultado de Triglicéridos en el grupo experimental fue de 286.67 mg/dL, el resultado promedio de proteínas totales fue de 5.02 g/L y de albumina el resultado fue de 2.51 g/L. En los resultados bioquímicos los valores del grupo experimental en comparación con el grupo control se muestra una pequeña diferencia en el examen de triglicéridos en donde los valores del grupo control fueron de 216.25 mg/dL y del grupo experimental el resultado fue de 286.67 mg/dL, lo cual se encuentra por encima de los valores normales establecidos en la investigación de Mancebo A.⁽³⁴⁾; en cuanto a las pruebas de glucosa y colesterol, se encuentran dentro del rango normal establecido, en cambio con las pruebas de proteínas totales con un resultado de 5.02 g/L (Grupo experimental) y albumina con un resultado de 2.51 g/L (Grupo experimental), ambos análisis se encuentran por debajo del rango normal establecido, lo cual se le puede asociar a posibles alteraciones renales leves y hepáticas leves asociados a la alimentación y consumo de agua diaria de los animales de experimentación. De manera general, los valores obtenidos en los indicadores bioquímicos no mostraron alteraciones significativas asociado a la administración y se encuentran dentro del rango establecido por el grupo control.

En relación con los resultados obtenidos por Dueñas ⁽⁹⁾ en el cual muestra que, el método de dosis única de 2000mg/kg, de la OCDE, en la cual utilizado también en el presente ensayo, se podría clasificar las sustancias de manera similar a otros métodos de prueba de toxicidad, sin embargo, este método de clasificación de toxicidad aguda se basa en evaluaciones biométricas con dosis fijas para que la sustancia se clasifique para fines de evaluación de peligro. Teniendo en cuenta los resultados logrados al administrar, por vía oral, el extracto hidroalcohólico a dosis única en el estudio de Dueñas y en comparación a este, al no observarse signos evidentes de toxicidad en los animales de experimentación, según las normativas de la Comunidad Europea para la clasificación de la toxicidad aguda oral es considerada no tóxico.

VI. CONCLUSION

- Se logró evaluar el peso promedio en *Rattus rattus* var. *Albinus* después de los 14 días de administración, tuvo una disminución de 25.63 g demostrando estar dentro de los parámetros normales.
- Se observaron las manifestaciones clínicas después de la administración de dosis única de 2000 mg/kg del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* en la cual no presentó signos asociados a toxicidad.
- En los parámetros bioquímicos en muestra sanguínea, después de los 14 días de evaluación, los resultados no mostraron alteraciones asociadas a algún proceso de toxicidad y se encontraron dentro del rango normal, por lo se concluye que no es una planta tóxica vía oral.

ASPECTOS COMPLEMENTARIOS:

- Mediante la evaluación de la toxicidad aguda oral de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca), la cual evidenció no ser toxica, pero al igual que todas las plantas medicinales, es recomendable la ingesta responsable.
- Se recomienda realizar estudios fitoquímicos y toxicológicos a diferentes partes de la planta de diferentes especies vegetales perteneciente a la familia de la planta estudiada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Reyna V. Evaluación de la Toxicidad Aguda y Subcrónica del Extracto Acuoso de *Chiranthodendron pentadactylon* Larreat. Universidad nacional autónoma de México. [Tesis]. 2012. [consultado el 28 de febrero 2020] México. Disponible en: <https://www.zaragoza.unam.mx/portal/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/Tesis%20Completa%20Toxicidad%20Aguda.pdf>
2. Silvero A.; Morínigo S.; Meza A.; Mongelós M.; González A.; Figueredo S. Toxicidad aguda de las hojas de *Xanthium spinosum* en ratones balb/c. Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública. [internet]. 2016 [consultado el 28 de abril 2019], Vol 33 (1) pp.113-119. Lima, Perú. Disponible: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=36344764014>
3. Cosme I. El uso de plantas medicinales. Universidad veracruzana intercultural. México. [tesis]. México. 2008. [consultado el 28 de abril 2019]. Disponible en: https://cdigital.uv.mx/bitstream/handle/123456789/8921/tra6_p23-26_2010-0.pdf?sequence=1&isAllowed=y
4. Campos L. Alimentos sanadores: que comer para prevenir y curar enfermedades, editorial del nuevo extremo S.A, [internet]. 2013 [citado el 28 de abril 2019]. Disponible en: <https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechp/detail.action?docID=3226014>.

5. Peñuela M. Influencia de los procesos de cocción y conservación sobre el contenido de nitratos y nitritos en espinacas (*Spinacia oleracea* L.). [tesis]. España: Universidad Complutense de Madrid. 1994. [citado el 10 de enero del 2020]. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/19708480.pdf>
6. Edward S. Ayensu. Las plantas medicinales. [internet]. Artículo: Aplicación del poder curativo de las plantas en el mundo. Washington, D.C. [consultado el 28 de abril 2020]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/q1460s/q1460s01.htm#TopOfPage>
7. Organización Mundial de la Salud. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2001-2005 [internet]. Ginebra: OMS 2002. [citado el 10 de enero del 2020]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/es/m/abstract/Js21201es/>
8. Lagarto Alicia, Couret Micaela, Guerra Isabel, López Raisell. Ensayos de irritación y toxicidad oral aguda de extractos acuosos e hidroalcohólicos de *Momordica charantia* L. Rev Cubana Plant Med [Internet]. Septiembre de 2008 [consultado el 20 de enero de 2022]; 13 (3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000300005&lng=en
9. Dueñas A, Cortés R, Marrero O, Pérez J, Olazábal. Toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de la planta *Chuquiraga jussieui*, administrado vía oral en ratas. [en

- línea]. Rev. La técnica. [Consultado el 10 de enero del 2022]; 1(10). pp.12-17.
2013. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/332356922_Toxicidad_aguda_del_extracto_o_hidroalcohólico_de_la_planta_Chquiraga_jussieui_administrado_via_oral_en_ratas
10. Mena L, González D, Valido A, Escobar R, Pizarro A, Castillo A. Actividad gastroprotectora y toxicidad aguda del extracto de hojas de *Cnidocolus Chayamansa* Rev. Medicentro Electrónica [Internet]. 2017 [citado el 16 de febrero del 2022]; 21(1): 11-21. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432017000100003&lng=es
11. Victoria M, Morón F, Morejón Z, Martínez M, López M. Tamizaje fitoquímico, actividad antiinflamatoria y toxicidad aguda de extractos de hojas de *Annona squamosa L.* Rev. Cubana Plant Med [Internet]. 2006 [citado el 16 de febrero del 2022];11(1) Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v11n1/pla02106.pdf>
12. Guaycha N, Jaramillo C, Cuenca S, Tocto J, Marquez I. Estudios farmacognósticos y toxicológicos preliminares de hojas, tallo y raíz de *Moringa oleífera Lam.* Rev. Ciencia UNEMI [Internet]. 2017 [citado el 16 de febrero del 2022]; 10(22) pp. 60-66. Disponible en:
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/459/363>

13. Solari S, Ríos J. ¿Cuál es la utilidad clínica de un estudio toxicológico?. Rev. Med. Chile. 2009. [Citado el 18 de mayo del 2020].137: 1395-1399. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rmc/v137n10/art18.pdf>
14. Moscoso R. Determinación de la toxicidad por aluminio del efluente de la planta potabilizadora del cebollar en el rio tomebamba, utilizando bioensayos eco toxicológico. [tesis]. Cuenca: Universidad de Cuenca.2014. [citado el 4 de Mayo del 2020]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/20392/1/TESIS.pdf>
15. Fortuna E. Evaluación de la toxicidad aguda del extracto hidroalcohólico de hojas de *Mutisia acuminata* R.& P. chinchilcuma en cerebros y cerebelos de ratas albinas cepa Holtzman. [tesis]. Lima: Universidad Wiener. 2013 [citado el 29 de abril del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/72/034%20FARM%20FORTUNA%2C%20rev.%20LB%2C%20finalizado.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Peña C. Tipos de toxicidad y escalas de valoración. Servicio de Oncología Radioterápica. Hospital Universitario 12 de octubre. Madrid. Oncología [citado el 4 de Mayo del 2020]; vol.28 (2). 2005. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000200004

17. Rodriguez J., Quesada W., Perez R., Digna A., Guzman A., Leon G. Evaluación de la toxicidad por administración única del producto QT2B21 en ratas Sprague Dawley. Instituto Nacional de Oncología y Radiobiología. Rev Cubana Plant Med. 2004. [citado el 4 de Mayo del 2020]; vol 9 (1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000100009
18. Siccha S. Caracterización físico química del extracto fluido de *Marteñas laevis* (chuchuhuasi) y su toxicidad sobre artemia salina. [tesis]. Trujillo: Universidad católica los ángeles de Chimbote.2018. [en línea]. [citado el 4 de Mayo del 2020]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7932/CARACTERIS_TICAS_TOXICIDAD_SICCHA_SANCHEZ_SILVIA_CRISTINA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Samper P, Perez M, Cabezas M. Toxicidad en tratamientos de abdomen y pelvis: tipo de toxicidad y escalas de valoración. Rev. Scielo. 2005. [citado el 4 de Mayo del 2020]. vol. 28 (2). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0378-48352005000200006
20. López A. Maleza de las familias Aizoaceae, Amaranthaceae y Boraginacea en el área urbana de torreón, Coahuila [Tesis]. Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro” Torreón, Coahuila. 2013. [citado el 4 de Mayo del 2020]. Disponible en:

<http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/7009/ALEX%20ALADINO%20LOPEZ%20RAMIREZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

21. Arias L., Espinoza L., Fuentes L., Garzón C., Niño N., Jiménez J., et al. El cultivo de la espinaca en Colombia (*Spinacia oleracea* L.) y su manejo fitosanitario en Colombia [Tesis]. Bogotá: Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano; 2010 [citado el 4 de Mayo del 2020]. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=6SWjDwAAQBAJ&lpg=PP1&hl=es&pg=P1#v=onepage&q&f=false>
22. Romero M. Producción ecológica y certificada de hortalizas de clima frío. 1^{era} edición. Fundación Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano. Colombia 2003. [citado el 4 de Mayo del 2021]. Pag 132. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=wZaghpJoVqsC&pg=PA132&lpg=PA132&dq=taxonomia+de+espinaca&source=bl&ots=2W8Fkp4vBJ&sig=6ciweh76qZDnkWjl2v3JDvVtIs&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwim35enwoTcAhVLnlkKHdKaB_sQ6AEIpQEwDQ#v=onepage&q=taxonomia%20de%20espinaca&f=false
23. Agroalimentación. 2009. El cultivo de la espinaca. [Consultado el 06 Febrero del 2022] Disponible en: <http://www.abcagro.com/hortalizas/espinaca2.asp>
24. Edward S. Ayensu. Las plantas medicinales. [internet]. Artículo: Aplicación del poder curativo de las plantas en el mundo. Washington, D.C. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/q1460s/q1460s01.htm#TopOfPage>

25. Ozleyen A., Perón G., Rajkovic J., Max R., Labanca F., Coutinho H., et al. Plantas del género *Spinacia*: de moléculas bioactivas a alimentos y aplicaciones fitofarmacológicas. ScienceDirect [Internet]. 2019 junio [citado el 04 de Mayo del 2021]; Vol 88. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0924224418306769>
26. Avalos C. Efecto del gel de extracto etanólico de hojas de *Piper aduncum* en la inflamación inducida en *Rattus rattus* var. *Norvegicus*. [internet]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo. 2016. [citado el 10 de setiembre del 2021]. Disponible: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3065/TESIS%20MAESTRIA%20C%3%89SAR%20LUIS%20AVALOS%20CAPRIST%3%81N.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
27. Paixao A., Mancebo B., Regalado A., Chomg D., Sanchez L. Evaluación de la toxicidad aguda oral del extracto etanólico de *Tephrosia vogelii* Hook (kalembre). Rev. Salud Anim. 2017. [citado el 04 de mayo del 2021]. Vol. 39 (2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rsa/v39n2/rsa02217.pdf>
28. Rojas J., Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. [Internet]. Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2009 [citado el 04 de Mayo del 2021]. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v70n3/a04v70n3.pdf>

29. Salvador A.; Victoria M.; Morón F.; Morejon Z.; Martinez M.; Lopez M. Tamizaje fitoquímico, actividad antiinflamatoria y toxicidad aguda de extractos de hojas de *Annona squamosa* L. [Rev.] 2006 [citado el 04 de Mayo del 2021]; 11 (1). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962006000100002
30. Comité Institucional de ética en investigación. código de ética para la investigación. versión 004 [artículo en línea] Chimbote, Perú. 2021 [citado 26 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2019/codigo-deetica-para-la-investigacion-v004.pdf>
31. DECLARACIÓN DE HELSINKI: PRINCIPIOS ÉTICOS PARA LA INVESTIGACIÓN MÉDICA SOBRE SUJETOS HUMANOS [Internet]. [citado EL 14 DE JULIO DEL 2021]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-569X2000000200010
32. Cossio M, Gómez R, Pilco S, Lancho J, Arruda M. Propuesta de una ecuación lineal para valorar la velocidad de crecimiento somático a partir de la masa corporal de rata machos wistar. Rev. Scielo.2012. [citado el 26 de mayo del 2021].73 (2); 93 – 100. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v73n2/a03v73n2.pdf>
33. Sánchez J. Valores fisiológicos de los roedores de experimentación. [Internet]. México: Instituto nacional de Neurología y Neurocirugía"Manuel Velasco Suárez". [Citado el 04 de Mayo del 2021]. Disponible en:

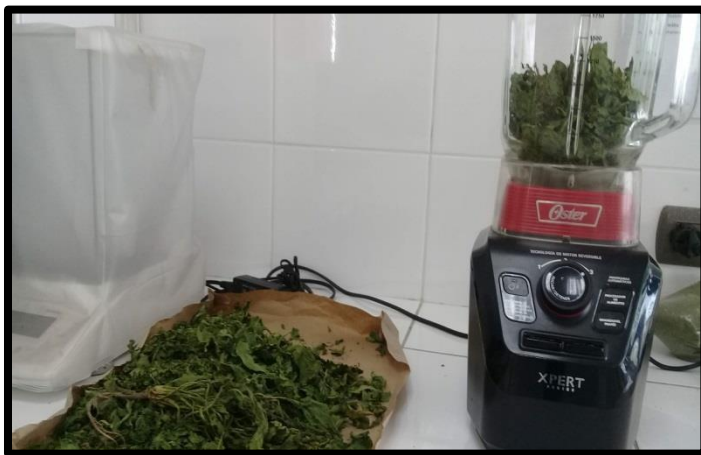
http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:AFbBjTySSUoJ:www.inn.n.salud.gob.mx/descargas/investigacion/bioterio/t_valores_fisiologicos.pdf+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe

34. Mancebo, A.; Scull, I.; González, Y.; Arteaga, ME; González, BO.; Fuentes, D.; Hernández, O.; Correa, M. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas (28 días) por vía oral del extracto acuoso de *Morinda citrifolia* en ratas Sprague Dawley. [internet]. Revista de Toxicología. Asociación Española de Toxicología Pamplona, España. [Citado el 04 de Mayo del 2020]: 2002; vol. 19 (2). Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/919/91919204.pdf?fbclid=IwAR0usAsTUXk4LHCPr4LEYseWsI9Tj-WnlN1mMLEd9A9IpWNXr6B1-7uGFNc>
35. Saldaña L. Toxicidad aguda del extracto acuoso de hojas de *Calathea lutea* “bijao” en ratones albinos balb/c. [Tesis]. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos- Perú [Citado el 28 de Febrero del 2022]. 2019. Disponible en: https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/6139/Layne_Tesis_Titulo_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=

ANEXOS

ANEXO 1

Recolección, selección, lavado, secado y pulverización de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca).



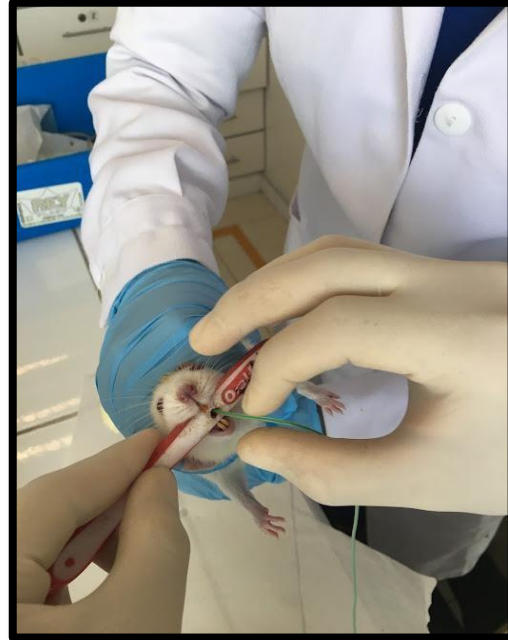
ANEXO 2

Obtención del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca).



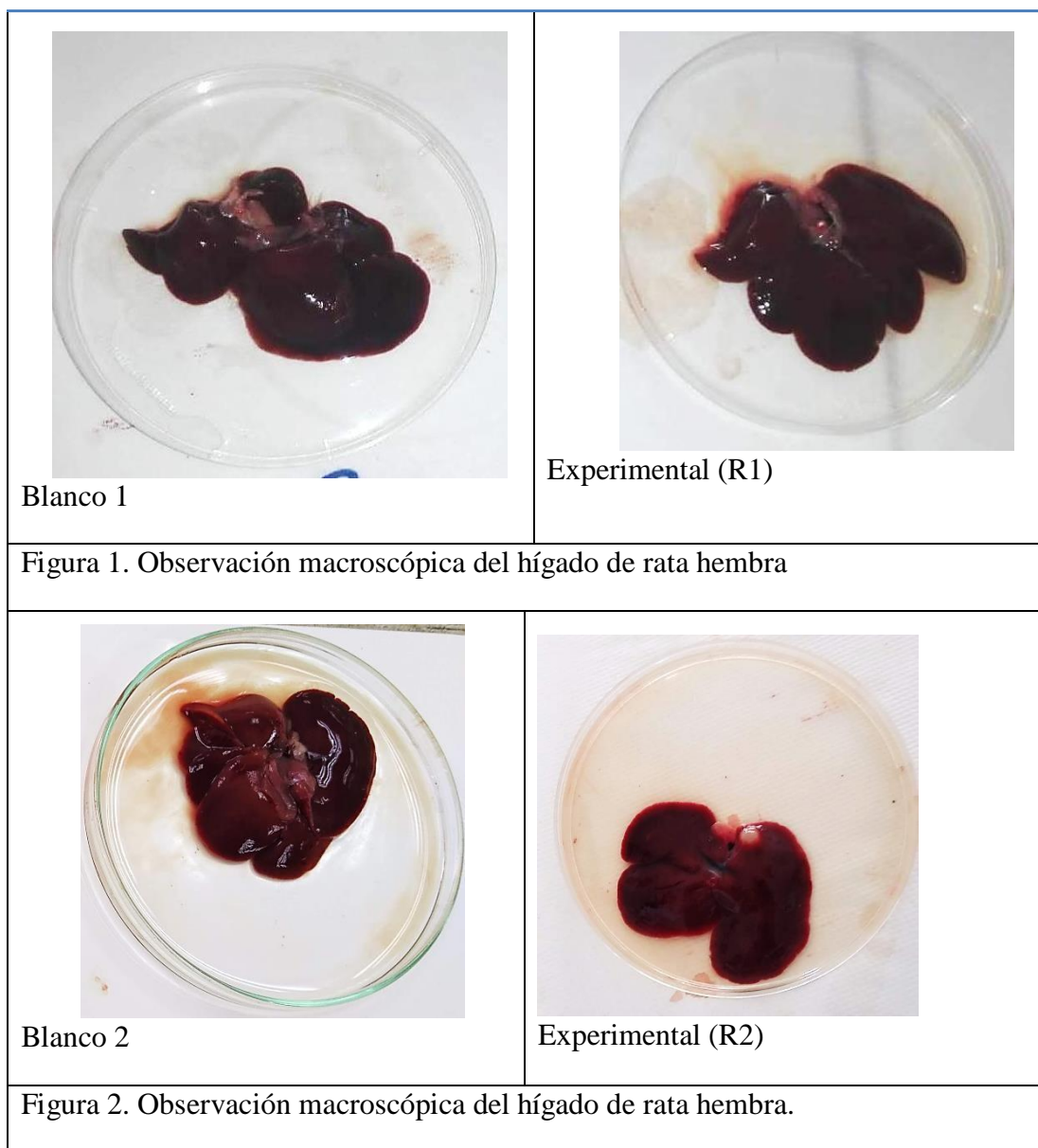
ANEXO 3

Procedimiento experimental.



ANEXO 3

Observaciones macroscópicas del hígado de *Rattus rattus* al término de la experimentación con extracto hidroalcohólico de las hojas de *Spinacia oleracea* (Espinaca).





Blanco 3



Experimental (R3)

Figura 3. Observación macroscópica del hígado de rata hembra.



Blanco 4



Experimental (R4)

Figura 4. Observación macroscópica del hígado de rata hembra

Certificado taxonómico del Herbarium Truxillense (HUT)

 **Herbarium Truxillense (HUT)**
Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 099 – 2018- HUT

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Caryophyllanae
- Orden: Caryophyllales
- Familia: Amaranthaceae
- Género: ***Spinacia***
- Especie: ***S. oleracea*** L.
- Nombre común: "espinaca"

Muestra alcanzada a este despacho por ALICIA ELIZABETH CERVERA DELGADO, identificada con DNI: 75168070, con domicilio Av. César Vallejo, Mz-12, Lte- 03, San Juan, Chimbote. Estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto: Efecto antianémico de las hojas de ***Spinacia oleracea*** "espinaca".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 23 de Octubre del 2018


Dr. JOSE MOSTACERO LEON
Director del Herbario HUT




cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

ANEXO 5

Certificado de buen estado nutricional, sanitario y clínico de las muestras biológicas
(ratas cepa Holtzman).



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

JEFATURA DE BIOTERIO – DUICT UPCH

CERTIFICADO


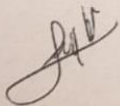
El Bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia **CERTIFICA** que los productos biológicos que se describen a continuación:

17 ratas de la cepa Holtzman, hembras de 6 semanas de edad.

Cuentan con un buen estado nutricional, sanitario y clínico; importante para este tipo de productos biológicos que son utilizados con diversos fines en el área biomédica.

Se expide el presente certificado a la Srta Alicia Elizabeth Cervera Delgado.

Lima, 26 de Junio del 2019



José Fernando Nuñez Vicaña
Médico Veterinario Zootécnica UPCH
Jefe del Bioterio UPCH
Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología DUICT
Universidad Peruana Cayetano Heredia