



DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5106

Determinación de los efectos tóxicos agudos producidos por el extracto alcohólico de *Bidens pilosa* Linné In vivo en un grupo de ratones de 7 a 10 semanas de edad

Autor principal

Pinilla Castañeda Carlos Alexander

cpinilla@ucm.edu.co

<https://orcid.org/0000-0002-5909-5636>

GICTA- grupo de investigación en cromatografía y técnicas afines
Universidad de Caldas Manizales

Blandón Marín, Giovanni

gblandon@ucm.edu.co

<https://orcid.org/0000-0001-7792-7363>

Toro Osorio, Bibiana

bmtoro@ucm.edu.co

López Muñoz, Diego Fernando

Digo495@hotmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-6156-1619>

Ríos García Luz Karime

Luzkarioss20@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0002-6991-6282>

Escobar Diaz Manuela

manuela.escobar@ucm.edu.co

<https://orcid.org/0000-0002-2844-7643>

María José Velásquez Rodríguez

maria.velasquez1@ucm.edu.co

<https://orcid.org/0000-0003-1717-0789>

Grupo de investigación en enfermedades infecciosas
GINEI Manizales Universidad Católica de Manizales
Carrera 23 No. 60 - 63 – Colombia
Infectious Diseases Investigation Group –
GINEI Manizales Catholic University,
Carrera 23 No. 60 - 63 – Colombia

Correspondencia: cpinilla@ucm.edu.co

Artículo recibido 18 enero 2023 Aceptado para publicación: 18 febrero 2023

Conflictos de Interés: Ninguna que declarar

Todo el contenido de **Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar**, publicados en este sitio están disponibles bajo

Licencia [Creative Commons](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/) 

Cómo citar: Pinilla Castañeda , C. A., Blandón Marín, G., Toro Osorio, B., López Muñoz, D. F., Ríos García , L. K., Escobar Diaz , M., & Velásquez Rodríguez, M. J. (2023). Determinación de los efectos tóxicos agudos producidos por el extracto alcohólico de *Bidens pilosa* Linné In vivo en un grupo de ratones de 7 a 10 semanas de edad. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 9084-9098. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5106

RESUMEN

En este trabajo se evaluaron los efectos tóxicos agudos inducidos por el extracto alcohólico de *Bidens pilosa* Linné in vivo en una línea de ratones Balb/c de 7 a 10 semanas de edad, de ambos sexos, como biomodelos al efecto tóxico agudo y Test de Micronúcleos. Se formaron cinco grupos experimentales, a estos grupos se les administró por vía oral (sonda) el extracto de *Bidens pilosa* a diferentes concentraciones por cada uno (500, 2500, 5000, 7500 y 10000 mg L⁻¹). Los dos grupos restantes fueron utilizados como controles (negativo/positivo), a los ratones control positivo se les suministró Colchicina y todos los grupos fueron observados y analizados durante 15 días.

Posteriormente, los ratones fueron sacrificados para obtener muestras sanguíneas con lo que se realizaron los extendidos de sangre periférica y se extrajo quirúrgicamente el fémur de cada uno para el frotis de médula ósea. Los extendidos fueron coloreados con tinción Giemsa y Buffer Giordano.

La médula ósea de los ratones inoculados con el extracto de *Bidens pilosa* fue estimulada a partir de 7500 mg L⁻¹. A partir de dicha concentración, se empezaron a observar inclusiones eritrocitarias compatibles con cuerpos de Howell Jolly en sangre periférica, además de presencia de micronúcleos satélites causados por la fragmentación del núcleo y la posterior interrupción del ciclo celular. Los ratones inoculados en concentración de 10000 mg L⁻¹ sufrieron daños más severos los cuales fueron notorios tanto en el extendido de sangre periférica como en el de médula ósea. Por lo tanto, se puede inferir que este extracto cuenta con sustancias de naturaleza antioxidante los cuales van a ayudar a la disminución de la formación de radicales libres con lo cual se ha probado en humanos que minimizan eventos inflamatorios. Esto dando origen a futuras investigaciones en el desarrollo de productos farmacéuticos.

Palabras clave: test de micronúcleos; citotoxicidad; *Bidens pilosa* Linné; genotoxicidad DL₅₀.

Determination of the acute toxic effects produced by the alcoholic extract of *Bidens pilosa* Linné In vivo in a group of mice from 7 to 10 weeks of age

ABSTRACT

In this work, the acute toxic effects induced by the alcoholic extract of *Bidens pilosa* Linné were evaluated in vivo in a line of Balb/c mice from 7 to 10 weeks of age, of both sexes, as biomodels for the acute toxic effect and Micronucleus Test. Five experimental groups were formed, these groups were administered orally (gavage) the extract of *Bidens pilosa* at different concentrations for each one (500, 2500, 5000, 7500 and 10000 mg L⁻¹). The remaining two groups were used as controls (negative/positive), the positive control mice were given Colchicine and all groups were observed and analyzed for 15 days.

Subsequently, the mice were sacrificed to obtain blood samples, with which peripheral blood smears were made and the femur was surgically removed from each one for the bone marrow smear. The smears were stained with Giemsa stain and Giordano Buffer.

The bone marrow of the mice inoculated with the *Bidens pilosa* extract was stimulated from 7500 mg L⁻¹. From this concentration, erythrocyte inclusions compatible with Howell Jolly bodies began to be observed in peripheral blood, in addition to the presence of satellite micronuclei caused by the fragmentation of the nucleus and the subsequent interruption of the cell cycle. Mice inoculated at a concentration of 10,000 mg L⁻¹ suffered more severe damage, which was evident both in the peripheral blood smear and in the bone marrow smear. Therefore, it can be inferred that this extract has substances of an antioxidant nature which will help reduce the formation of free radicals, which has been proven in humans to minimize inflammatory events. This giving rise to future research in the development of pharmaceutical products.

Keywords: *micronucleus test; cytotoxicity; Bidens pilosa* Linné; *genotoxicity LD50,*

INTRODUCCIÓN

El ensayo de micronúcleos en médula ósea de murinos; prueba incluida en la batería estándar de genotoxicidad, fue empleado para evaluar el potencial clastogénico, contextualizado esto como un agente mutagénico que da lugar a o induce a la interrupción o rotura de cromosomas. Con lo cual se evalúa el efecto deletéreo que deja el extracto de *Bidens pilosa linné* a diferentes concentraciones en partes por millón en grupos experimentales de murinos de 7 a 10 semanas de edad; con lo cual se buscó como modelo práctico, para determinar qué efecto deja en ellos las diferentes concentraciones del producto, en su médula ósea.

En la presente investigación se incluyó el estudio de genotoxicidad, entendido como la capacidad relativa de un agente de ocasionar daño en el material genético, originando efectos biológicos adversos. El daño inducido en el material genético incluye no sólo al ADN, sino también a todos aquellos componentes celulares que se encuentran relacionados con el comportamiento de los cromosomas dentro de la célula.

Bidens pilosa L. es una planta nativa de Sudamérica, distribuida en regiones tropicales y subtropicales. Es una especie anual, cosmopolita, la cual mide aproximadamente 0,6-2 metros de altura (Lawal et al., 2015). La capacidad farmacológica de esta planta se ha relacionado con la presencia de flavonoides y poliacetilenos (Cortés-Rojas et al., 2013).

B. pilosa L. Es utilizada como ingrediente en infusiones con fines medicinales, los cuales son preparados con uno o varios de sus componentes (hojas, flores, semillas y tallos) (Bartolomé et al., 2013). Es una planta que se usa tradicionalmente en medicamentos antiinflamatorios, diuréticos, antirreumáticos, antibióticos o antidiabéticos, también se emplea empíricamente como remedio para tratar trastornos estomacales, incluida la úlcera péptica (Brandão et al., 1998, Álvarez et al., 1999).

En Colombia la decocción de la planta es utilizada para el tratamiento de enfermedades hepáticas, indigestión, diarreas, además de ser usado como expectorante e hipoglicemiante (Valdés & Ponce de León, 2001). Numerosos estudios han referenciado a *B. pilosa* como una planta con una gran cantidad de propiedades beneficiosas, entre las que se encuentra su actividad quimioprotectora (Arroyo et al., 2010), eliminación de radicales libres debido a la presencia de componentes polifenólicos, propiedades antioxidantes (D. Cortés-Rojas et al., 2013), fuerte actividad antipalúdica (Branda et al., 1997) e incluso, propiedades antibacterianas, lo cual es de gran importancia debido al

fenómeno de multirresistencia que se ha venido presentando en la actualidad (Cruz-Carrillo et al., 2010).

Estos estudios sirven de herramienta para conocer si el producto es capaz de interactuar con el material genético del murino y qué grado de genotoxicidad ocasiona, para poder contextualizar su uso a una concentración adecuada y que no induzca a un efecto adverso en los posibles consumidores del extracto. Permitiendo enriquecer el conocimiento sobre el producto y suministrando su uso de mejor manera.

METODOLOGÍA

Obtención del extracto

Para obtener el extracto de las partes aéreas de la planta primero se realizó la colecta y la identificación taxonómica del espécimen en el herbario de la Universidad de Caldas, posterior a ello se realizó el secado y molido, para la extracción se realizó en baño ultrasonido durante 30 minutos, usando como solvente de extracción etanol absoluto grado analítico. Seguidamente, se realizó la fase de evaporación del solvente en rota evaporador a 40°C durante 12 horas. A partir del extracto obtenido se prepararon soluciones acuosas a diferentes concentraciones (500, 2500, 5000, 7500 y 10000 mg L⁻¹).

Modelo biológico.

Se emplearon 35 ratones *Mus musculus* Variedad albinus cepa Balb/c, de calidad convencional, procedentes del bioterio de la Universidad de Caldas, adscrito al departamento de Salud Animal de la facultad de Ciencias Agropecuarias. Una vez llegaron al bioterio de experimentación, los individuos tenían entre siete y ocho semanas de edad y su peso promedio era de 19 gramos. Antes de iniciar los ensayos los murinos fueron sometidos por una semana a las condiciones del bioterio de experimentación para permitir la adaptación al medio. Durante todo el proceso experimental, los individuos fueron alimentados con suplemento alimenticio a base de proteínas, vitaminas, ácido fólico, grasa animal, carbohidratos y minerales, junto con suministro constante de agua y con un fotoperiodo 12 horas/12 horas. Los murinos fueron divididos en siete grupos experimentales. A cinco grupos se les administró por vía oral el extracto de *Bidens pilosa* utilizando diferentes concentraciones por cada uno (500, 2500, 5000, 7500 y 10000 mg L⁻¹). los dos grupos restantes fueron utilizados como controles, a los ratones control positivo se les suministró por vía oral Colchicina.

Diseño experimental.

Se conformaron cinco grupos experimentales (1 - 5) y dos de control (positivo/negativo), a cada uno de los cuales fueron asignados aleatoriamente cinco individuos entre machos y hembras. A todos los individuos de cada uno de los grupos experimentales se les administró la misma dosis del extracto de *Bidens pilosa* (0.016 ml por el peso en gramos de cada animal), mientras que al grupo control positivo se les administró Colchicina. La concentración de extracto asignada a cada grupo fue: 500 mg L⁻¹ para el grupo 1, 2500 mg L⁻¹ para el grupo 2, 5000 mg L⁻¹, 7500 mg L⁻¹ y 10000 mg L⁻¹, para los grupos 3, 4 y 5 respectivamente.

Suministro del extracto.

El día del experimento cada animal fue individualizado y pesado. A cada ratón se le suministró de forma oral un volumen de 0.016 ml de la solución a la concentración correspondiente a su grupo, por gramo de peso utilizando sonda nasogástrica pediátrica calibre 12 y una jeringa de insulina con graduaciones de 0.01 ml.

Observación y registro de datos.

A partir del momento de la administración del extracto, los grupos conformados por los murinos fueron observados diariamente durante un período de 15 días, registrando cualquier anomalía determinada por los siguientes parámetros:

Aspecto físico:	Comportamiento:	Exámenes físicos:
Posiciones extrañas	Consumo de agua y alimento	Tono muscular
Posiciones de cola y orejas	Actividad espontánea	Convulsiones
Pilo erección	Comportamiento exploratorio	Parálisis
Excretas	Agresividad	Opacidad corneal
Estado general	Fonación	Lesiones en piel
Posiciones extrañas	Consumo de agua y alimento	Muerte

Al finalizar este período de tiempo se procedió al sacrificio de los ratones utilizando el método de Cámara Letal y de presión torácica a cada uno de los individuos. Teniendo en

cuenta la Ley colombiana 84 de 1989 capítulo quinto y sexto, del Estatuto nacional de la protección de animales Institución que rige la experimentación animal.

Seguidamente, se realizó la correspondiente autopsia efectuándose un examen macroscópico de órganos y tejidos. Finalmente, los fémures fueron extraídos quirúrgicamente y preservados en solución salina isotónica al 0,85%, para desarrollar posteriormente los frotis de médula ósea. La sangre recolectada fue almacenada en tubos EDTA, manejando una correcta relación sangre anticoagulante como parámetro de calidad, con el objetivo de realizar Extendidos de Sangre Periférica.

Posterior los extendidos sobre láminas portaobjetos se colorearon con la tinción de Giemsa en un tiempo estimado de 5 minutos para médula ósea y 3 minutos para sangre periférica.

Test de micronúcleos a nivel de la inclusión eritrocitaria.

Para una adecuada evaluación, se analizó un grupo de ratones el cual fue utilizado como control positivo, estos fueron inoculados por vía oral con Colchicina, un medicamento que es utilizado ocasionalmente para el tratamiento de la gota, que en concentraciones elevadas genera citotoxicidad. A partir de lo anterior, se procedió a la realización del test de micronúcleos sobre los extendidos de médula ósea previamente coloreados.

Estos ratones también estuvieron bajo observación por 15 días y durante ese periodo se les suministró la misma una dosis de 0.016 ml de solución por cada en gramo de peso del animal de Colchicina teniendo en cuenta su peso. Al finalizar este proceso, los ratones fueron sacrificados y se realizaron extendidos de médula ósea y sangre periférica utilizando tinción Giemsa. Finalmente, todas las placas obtenidas fueron analizadas en la Fundación Autónoma de las Américas, ubicado en la ciudad de Pereira, Risaralda.

Equipos usados

- Microscopio YW3698, cuyas dimensiones son de 2592 x 1944; 1,4 MB de resolución y 2048 x 1536 píxeles.
- Un molino de referencia 1093 Cyclotec Sample Mill con un filtro de 1 mm, horno Thelco Laboratory (Thermo Scientific) 3500.
- Baño ultrasonido de referencia Branson 2510-DTH.
- Micropipetas Unicanal Eppendorf de volúmenes de 0,1-10, 10-100, 100-100 ML (Hamburgo, Alemania)

- Micropipeta Multicanal FisherBrand Elite de 30-300 μ L (Waltham, Massachusetts (Estados Unidos)).
- Rotaevaporador Laborata 4003, Heidolph Instruments GmbH & Co (Waltham, Massachusetts (Estados Unidos)).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados DL50

La creciente necesidad de nuevos tratamientos como agentes antimicrobianos ha llevado a la constante investigación de plantas medicinales que por su potencial fitofarmacéutico posibilitan la generación de nuevas terapias. Existe la percepción general de que los tratamientos herbales son siempre seguros para la salud humana, sin embargo, existen estudios que sugieren que estas plantas pueden ocasionar efectos adversos como genotoxicidad, lo que genera gran preocupación (Harutyunyan, K et al 2019). Por esta razón, es importante evaluar los efectos tóxicos que pueden causar los extractos obtenidos a partir de productos herbales, por lo cual se sugiere emplear siempre ensayos genotóxicos en especies bacterianas o mamíferos, con al menos una prueba “in vivo” (Sponchiado, G et al 2015).

La médula ósea de los murinos está constituida por células estromales, macrófagos, mastocitos, megacariocitos, eritrocitos, granulocitos, monocitos y linfocitos, además de los precursores de cada linaje; así como células no hematopoyéticas como osteoblastos y osteoclastos. Así pues, los ratones son considerados como un sistema cada vez más importante para el estudio hematopoyético, siendo calificado como organismo modelo dada su similaridad con la hematopoyesis humana (Bolliger & Everds, 2012).

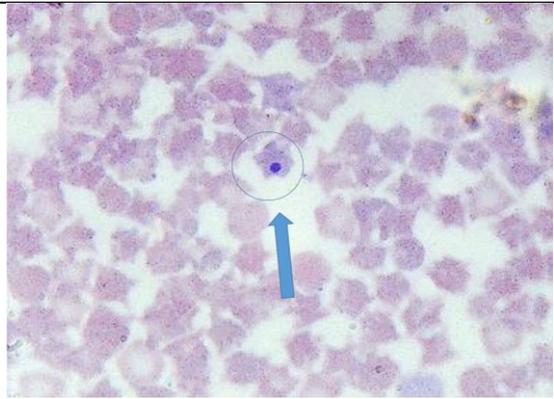
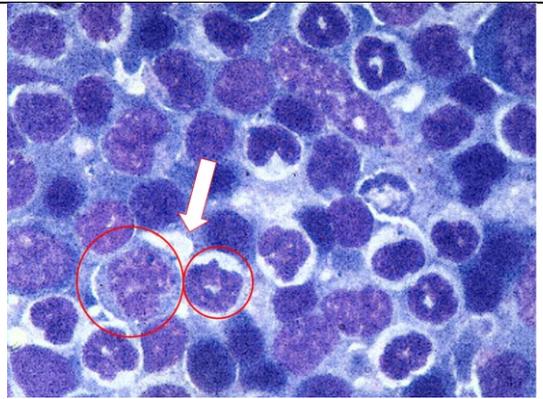
Para el desarrollo de este estudio se empleó como modelo biológico 35 ratones *Mus musculus* Variedad albinus, los cuales fueron divididos en siete grupos experimentales (n=5/grupo). A cinco de estos grupos se les administró por vía oral (sonda) el extracto de *Bidens pilosa* a diferentes concentraciones por cada uno (500, 2500, 5000, 7500 y 10000 mg L⁻¹). Los dos grupos restantes fueron utilizados como controles (negativo/positivo), a los ratones control positivo se les suministró Colchicina y todos los grupos fueron observados y analizados durante 15 días.

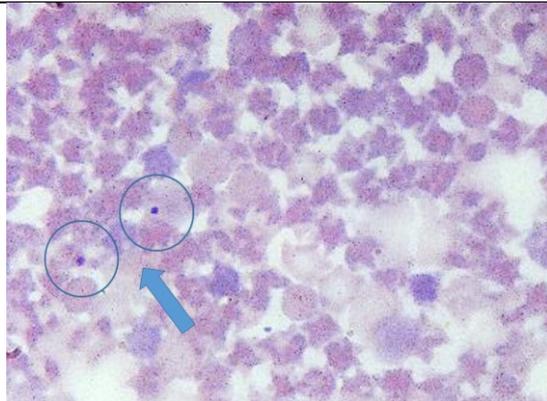
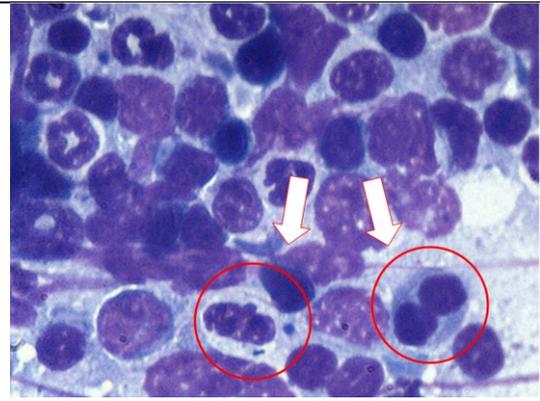
Posteriormente, los ratones fueron sacrificados para obtener muestras sanguíneas con lo que se realizaron los extendidos de sangre periférica y se extrajo quirúrgicamente el

fémur de cada uno para el frotis de médula ósea. Los extendidos fueron coloreados con tinción Giemsa y Buffer Giordano. Para evaluar la genotoxicidad del extracto a diferentes concentraciones se desarrolló el test de micronúcleos, para lo cual fue de gran importancia los ratones empleados como control positivo.

La médula ósea de los ratones inoculados con el extracto de *Bidens pilosa* fue estimulada a partir de 7500 mg L⁻¹. A partir de dicha concentración, se empezaron a observar inclusiones eritrocitarias compatibles con cuerpos de Howell Jolly en sangre periférica (imagen 1), además de presencia de micronúcleos satélites (imagen 2) causados por la fragmentación del núcleo y la posterior interrupción del ciclo celular.

Los ratones inoculados con el extracto de *B. pilosa* en concentración de 10000 mg L⁻¹ sufrieron daños más severos los cuales fueron notorios tanto en el extendido de sangre periférica como en el de médula ósea. En el primer caso (imagen 3), fue evidente el predominio del componente mononuclear de tamaño homogéneo compatible con linfocitos, aumento de inclusiones eritrocitarias y adicionalmente hubo presencia de células nucleadas rojas (aproximadamente 3 por cada 100 células). En el extendido de médula ósea, fue evidente el aumento de Karyorrhexis y la marcada policromatofilia (imagen 4).

	
<p>Imagen 1. Extendido de sangre periférica de ratón inoculado con el extracto de <i>B. pilosa</i> a una concentración de 7500 mg L⁻¹.</p>	<p>Imagen 2. Extendido de médula ósea de ratón inoculado con el extracto de <i>B. pilosa</i> a una concentración de 7500 mg L⁻¹.</p>

	
<p>Imagen 3. Extendido de sangre periférica de ratón inoculado con el extracto de <i>B. pilosa</i> a una concentración de 10000 mg L⁻¹.</p>	<p>Imagen 4. Extendido de médula ósea de ratón inoculado con el extracto de <i>B. pilosa</i> a una concentración de 10000 mg L⁻¹.</p>

A 5000 ppm hubo cambios sugestivos en cuanto a la estructura celular de los ratones, sin embargo, no se observó fragmentación en los núcleos al no haber ruptura de cromátides. Por otro lado, los ratones inoculados con el extracto de *B. pilosa* a concentraciones de 500 mg L⁻¹ y 2500 mg L⁻¹ no demostraron citotoxicidad sobre los ratones estudiados, lo que podría sugerir su posible utilización con fines farmacéuticos dada las propiedades medicinales de la planta.

En un estudio desarrollado por Arroyo, J et al (2010) se analizó el efecto quimioprotector de *B. pilosa* utilizando ratas como modelo biológico, se determinó que tanto el extracto metanólico como etanólico redujo el número de micronúcleos causados por el tóxico inductor, gracias a los flavonoides producidos por la planta. Sin embargo, Costa R et al., (2008) determinó que *B. pilosa* no está libre de efectos nocivos y que infusiones de la planta a concentraciones mayores de 40 µL/ml deben ser evitadas, teniendo en cuenta que la decocción es menos peligrosa. No obstante, en este estudio se menciona también la importancia del método de extracción, ya que este puede ocasionar la neutralización de algunos compuestos protectores como la quercetina.

Liang, Yu-Chuan et al, determinaron que el extracto en polvo de *B. pilosa* no genera toxicidad en dosis diarias del 5% o menos. Bastos C et al., analizaron el extracto de *B. pilosa* y *Cúrcuma longa* para evaluar la mucositis intestinal, evidenciando que la exposición de los animales a una dosis única de 2000 mg/kg de BP/CL no desencadenó signos de toxicidad. El análisis de estudios que determinen la genotoxicidad causada por

B. pilosa es compleja y limitada debido a que existen diferencias en cuanto a las partes utilizadas de la planta, los métodos de extracción, los modelos biológicos, las dosis administradas y los ensayos de toxicidad empleados.

Como se mencionaba anteriormente, la búsqueda constante de tratamientos terapéuticos respaldada por la medicina tradicional, ha impulsado a que muchos investigadores estudien hierbas con potencial fitofarmacéutico y posteriormente sus posibles consecuencias. Cada medicamento posee toxicidad, pero un valioso compuesto farmacológicamente activo debe tener un equilibrio aceptable entre los efectos terapéuticos y los efectos tóxicos o adversos (Mohamed, H & Aly, M, 2018).

En cuanto a algunas plantas similares a la estudiada, Queiroz, F, et al analizaron la actividad de *Phyllanthus niruri* L, observaron que los ratones revelaron baja toxicidad en el extracto acuoso administrado por vía intraperitoneal a una dosis de 1.8 mg / kg / día. Rebouças S et al, determinaron que los extractos de corteza acuosos o etanólicos de *Himatanthus articulatus* a 2000 mg / kg ocasionaron la presencia de micronúcleos, mientras que dosis más bajas mostraron efectos protectores para el ADN de los ratones. Los micronúcleos son restos de cromosomas o incluso cromosomas completos que quedan en el espacio intracitoplasmático durante la mitosis o división celular, lo cual puede ser causado por agentes genotóxicos. La colchicina es un agente aneuploidogénico, que bloquea la polimerización de los microtúbulos durante la formación del huso mitótico (Cedano et al, 2012). Esta prueba es utilizada a menudo para predecir el potencial carcinogénico de determinados compuestos, sin embargo, algunos factores como la técnica de tinción pueden ocasionar variabilidad en los resultados (Abrevaya et al, 2007).

Para evaluar la genotoxicidad en este estudio fue utilizado como control positivo colchicina. La colchicina es un alcaloide derivado de *Colchicum autumnale* que bloquea la división celular al inhibir la mitosis, Dosis inferiores a 0,5 mg/kg habitualmente no tienen un desenlace fatal (Marfil et al, 2003). Como control negativo se estudió la médula ósea de ratones sin inocular, en donde se observaron precursores con características morfológicas normales: núcleos ligeramente ovales, cromatina fina y citoplasma azul oscuro. Se puede apreciar también células en forma de anillo lo cual hace parte de la estructura medular normal del ratón (Biermann et al, 1999).

En el caso contrario, fue notoria la presencia de precursores eritroides con alteraciones morfológicas y micronúcleos intra-citoplasmáticos (Imagen 5), producto de restos de material genético debido a la inconclusa y por ende anormal separación del núcleo causada por la toxicidad generada por dicho medicamento. En el frotis de sangre periférica también fue evidente la presencia de micronúcleos como consecuencia al efecto deletéreo causado por la colchicina (Imagen 6) además de linfocitos con destrucción en los núcleos celulares y moderadas células rojas nucleadas.

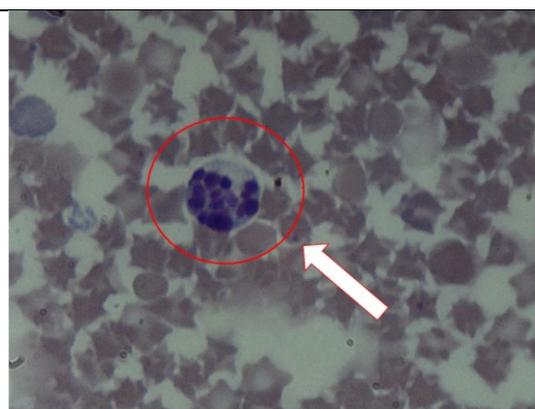
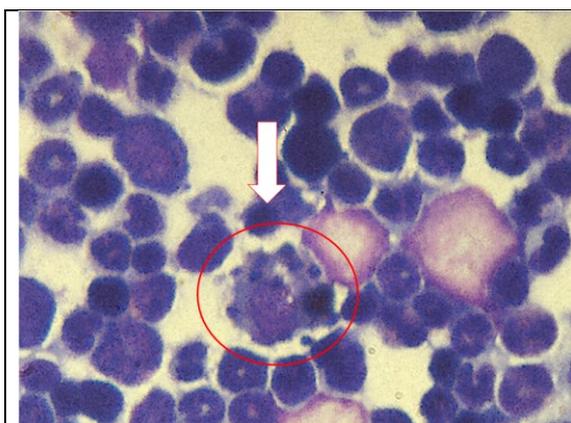


Imagen 5.

Médula ósea de ratón utilizado como control positivo tras el suministro de Colchicina.

Imagen 6.

Extendido de sangre periférica de ratón utilizado como control positivo tras el suministro de Colchicina.

En cuanto al recuento de reticulocitos en el control negativo se observaron 27 reticulocitos en 10 campos. La media aproximada obtenida en el conteo celular en los cinco ratones restantes considerados como controles positivos fue de 32 reticulocitos, siendo estos valores no muy diferentes. En 1975, Roscoe determinó que en ratones adultos los reticulocitos típicamente representan del 1 al 3% del total de los eritrocitos maduros, dato que es confirmado en el 2012 por Bolliger y Everds, quienes determinaron que el número de reticulocitos circulantes es mayor en ratones ($200-500 \times 10^9 / L$) que en muchas otras especies, debido a que la vida útil de los glóbulos rojos en murinos es corta (38-52 días). Por ende, probablemente los reticulocitos observados en el extendido de sangre periférica de estos ratones no fueron generados por la colchicina si no que hacen parte de su normocelularidad.

Es importante mencionar, que también fue evidente la policromatofilia en todas las concentraciones del extracto estudiado, la cual iba aumentando a medida que se incrementaba la cantidad de sustancia inoculada. Sin embargo, la anisocitosis es una característica hematológica común en los murinos originada por la presencia normal de células policromatofílicas que son más grandes que los glóbulos rojos maduros. De la misma forma, en ratones sanos puede haber presencia de cuerpos de Howell Jolly (O'Connell et al, 2015). Sin embargo, no hay estudios que determinen hasta qué punto estas características son consideradas normales o patológicas.

CONCLUSIONES

El extracto de *Bidens pilosa linne* con una concentración 7500 mg L⁻¹, usado para evaluar los efectos tóxicos agudos en un modelo biológico se empezaron a observar inclusiones eritrocitarias compatibles con cuerpos de Howell Jolly en sangre periférica, además de presencia de micronúcleos satélites causados por la fragmentación del núcleo y la posterior interrupción del ciclo celular. Los ratones inoculados en concentración de 10000 mg L⁻¹ sufrieron daños más severos los cuales fueron notorios tanto en el extendido de sangre periférica como en el de médula ósea.

Se puede inferir que este extracto cuenta con sustancias de naturaleza antioxidante los cuales van a ayudar a la disminución de la formación de radicales libres con lo cual se ha probado en humanos que minimizan eventos inflamatorios. Esto dando origen a futuras investigaciones en el desarrollo de productos farmacéuticos.

Finalmente estos estudios permiten ampliar el conocimiento acerca de productos que hacen parte de la medicina tradicional como una alternativa a la medicina moderna, con el fin de garantizar su calidad, producción, validación y requisitos definidos. Por lo cual, deben ser utilizados de manera racional.

BIBLIOGRAFÍA

- Harutyunyan, K et al (2019). Genotoxic potential of selected medicinal plant extracts in human whole blood cultures. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 8. 160-162. 10.15171/jhp.2019.25.
- Sponchiado, G et al (2015). Quantitative genotoxicity assays for analysis of medicinal plants: A systematic review. *Journal of ethnopharmacology*. 178. 10.1016/j.jep.2015.10.026.

- Bolliger, A, & Everds, N. (2012). Haematology of the Mouse. *The laboratory Mouse*, 331-347 doi: 10.1016/b978-0-12-382008-2.00014-3
- Arroyo, J et al (2010). Efecto quimioprotector de *Bidens pilosa* en el cáncer de mama inducido en ratas. *Anales de la Facultad de Medicina*, 71(3), 153-160. Recuperado en 24 de mayo de 2020, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832010000300003&lng=es&tlng=es.
- Liang, Yu-Chuan et al, (2019). Toxicity study of *Bidens pilosa* in animals. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 10. 10.1016/j.jtcme.2019.04.002.
- Bastos C et al (2015). Use of *Bidens pilosa* L. (Asteraceae) and *Curcuma longa* L. (Zingiberaceae) to treat intestinal mucositis in mice: Toxicopharmacological evaluations. *Toxicol Rep* (3): 279-287. Published 2015 Oct 30. doi:10.1016/j.toxrep.2015.10.013
- Mohamed, H & Aly, M. (2018). Evaluation of Genotoxicity of *Euphorbia triaculeata* Forssk. extract on Mice Bone Marrow Cells in vivo. *Toxicology Reports*. 5.10.1016/j.toxrep.2018.05.007.
- Queiroz, F., et al. (2013). Evaluation of (anti) genotoxic activities of *Phyllanthus niruri* L. in rat bone marrow using the micronucleus test. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 49(1), 135-148. <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000100015>
- Rebouças S et al. (2013) Assessment of the genotoxic and mutagenic properties of *Himatanthus articulatus* bark extracts used as phytotherapeutic drug in the Amazon. *J Ethnopharmacol*; 147(2):474-480. doi:10.1016/j.jep.2013.03.041
- Cedano DA, Martínez GS, Escalera VF, et al. La prueba de micronúcleos en sangre como bioindicador de genotóxicos. *AbanicoVet*. 2012;2 (2):43-54.
- Abrevaya, X, Carballo, M, & Mudry, M. (2007). The bone marrow micronucleus test and metronidazole genotoxicity in different strains of mice (*Mus musculus*). *Genetics and Molecular Biology*, 30(4): 1139-1143
- Marfil, L et al (2003). Intento autolítico con colchicina. *Farm Hosp*, 27 (3): 188-190
- Biermann H, Pietz B, Dreier R, Schmid K, Sorg C, Sunderkötter C. 1999. Murine leukocytes with ring-shaped nuclei include granulocytes, monocytes, and their precursors. *J Leukoc Biol* 65:217–231.

Roscoe B. Jackson Memorial Laboratory., & Green, E. L. (1975). *Biology of the laboratory mouse*. New York: Dover Publications.

Bolliger, A, & Everds, N. (2012). Haematology of the Mouse. *The laboratory Mouse*, 331-347 doi: 10.1016/b978-0-12-382008-2.00014-3

O'Connell, K., et al (2015). Practical murine hematopathology: a comparative review and implications for research. *Comparative medicine*, 65(2), 96–113