

TOXICIDAD AGUDA DE *Aleurites moluccana* POR VIA ORAL EN RATAS SPRAGUE-DAWLEY

Orellana-Cuéllar, Laura Rocío^{1,2}, Montañez Jara, Melissa¹, Moron Moran, Irvin Daniel¹,
Orellana Mantarí, Angie Melissa¹, Casildo Benavente, Liz Astrid¹,
Aguilar Vergara, Emily Lindsay¹, Barrutia Yovera, Julia Francesca¹, Granda Arana, Bryan Augusto¹,
Sánchez Vilcapuma, Walter Junior¹, Villanueva Ospino, Arturo Alejandro¹

¹.Escuela Académico Profesional de Medicina Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

².Sociedad Científica San Fernando, Facultad de Medicina Humana, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú

CIMEL 2014; 19(1):4-9

RESUMEN

Objetivo: Determinar la toxicidad aguda por *Aleurites moluccana* por administración oral en ratas Sprague-Dawley. **Metodología:** Estudio experimental realizado en el Instituto de Patología de la Facultad de Medicina-UNMSM. Se usaron treinta ratas Sprague-Dawley, hembras y machos, de 6 semanas de edad. Se formaron aleatoriamente tres grupos de diez ratas: grupo A1, recibió 8,2 mg/Kg de peso de *A. moluccana*; grupo A2, recibió 2000 mg/Kg de peso de *A. moluccana*; grupo control, recibió agua *ad libitum*. Se evaluaron los signos clínicos de toxicidad, los pesos, variables bioquímicas y las características histopatológicas de hígado, riñón, corazón, intestino, bazo y gónadas. Se consideró significativo un $p < 0,05$ para las pruebas estadísticas. **Resultados:** No existe diferencia significativa en los pesos, ni en las variables bioquímicas entre los grupos (Kruskal-Wallis, $p > 0,05$). Los grupos A1 y A2 presentaron signos clínicos de toxicidad y la muerte de tres ratas; células hepáticas binucleadas y regenerativas en el hígado; y hemorragia glomerular en el riñón. **Conclusiones:** Las variables clínicas e histopatológicas en hígado y riñón demostraron que la *Aleurites moluccana* produce toxicidad aguda, las variables bioquímicas no demostraron este efecto.

Palabras Clave: *Aleurites moluccana*. Toxicidad aguda. Ratas Sprague-Dawley

ACUTE TOXICITY OF *Aleurites moluccana* BY ORAL ADMINISTRATION IN SPRAGUE-DAWLEY RATS

ABSTRACT

Objective: To determinate the acute toxicity of *Aleurites moluccana* by oral administration in Sprague-dawley rats.. **Methodology:** Experimental study conducted at the Institute of Pathology, School of Medicine-San Marcos. Thirty Sprague-Dawley rats were included, males and females , 6 weeks old. Three groups were formed randomly from ten rats: A1 group received 8.2 mg / kg body weight of *A. moluccana*; A2 group received 2000 mg/kg weight of *A. moluccana*, the control group received water. We assessed clinical signs of toxicity, weights, biochemical variables and histopathological features of liver, kidney, heart, intestine, spleen and gonads. It was considered significant if $p < 0.05$ for statistical tests. **Results:** There is no significant difference in the weights, or biochemical variables between groups (Kruskal-Wallis, $p > 0.05$). Groups A1 and A2 showed clinical signs of toxicity and death of three rats; binucleate liver cells and regenerative liver cells and glomerular bleeding in the kidney. **Conclusions:** Clinical and histological variables of liver and kidney tissue supported that *Aleurites moluccana* produces acute toxicity in rats, biochemical variables did not shoe that effect.

Keywords: *Aleurites moluccana*. Acute toxicity. Sprague-Dawley.

INTRODUCCIÓN

Aleurites moluccana es un árbol que pertenece a la familia de las Euphorbiaceae. Es nativo de Indonesia y la India, pero existen plantaciones en las islas del océano Pacífico y en los trópicos, principalmente en el sur de Brasil. En el sur del continente asiático se usa como medicina tradicional para el tratamiento de úlceras, dolor de cabeza, asma, heridas, fiebre e hipercolesterolemia^{1,2}. Se usa la cáscara para tratar la disentería; las hojas, para cefalea y gonorrea; y la semilla, para la inflamación y estreñimiento^{1,2}. Una investigación realizada por Pedrosa RC y cols. reportaron que el extracto de metanol de *Aleurites moluccana* posee efecto hipolipemiente en ratas³. Estudios informan que especies pertenecientes a la familia Euphorbiaceae contienen diterpenos tóxicos, como los ésteres de forbol^{4,5}. Cai-Yan Li y cols. reportaron que una planta de la familia Euphorbiaceae (*Jatropha curcas*) produjo toxi-

cidad en ratas al ser administrada por vía oral, siendo, posiblemente, los ésteres de forbol responsables de dicho efecto⁶.

La “Nuez de la india” (*Aleurites moluccana*) se está comercializando en tiendas de productos naturales a nivel nacional como un “efectivo reductor de peso”. Esta situación es preocupante por los posibles daños que produciría en la salud de sus consumidores. Se reporta un caso de toxicidad en España por el consumo de la semilla de *Aleurites moluccana*, este caso se observó en una mujer de 33 años de edad que presentó signos y síntomas relacionados con toxicidad tales como la presencia de bradicardia sinusal con bloqueo auriculoventricular de primer grado, frecuencia cardiaca de 45 por minuto, hipotensión arterial (90/60 mmHg), pérdida excesiva de fluidos por diarreas, desmayos, mareos, náuseas y vómitos⁷.

Sobre la base de lo expresado, el presente trabajo tiene por ob-

jetivo determinar si la administración oral del preparado de la semilla de *Aleurites moluccana* (“Nuez de la india”) en ratas Sprague-Dawley produce toxicidad aguda a nivel clínico, bioquímico e histológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño: Estudio experimental

Animales: Se empleó treinta ratas (quince hembras y quince machos) de la cepa Sprague-Dawley, de 5 semanas de edad, todas procedentes del bioterio de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima, Perú). Las ratas se mantuvieron a 22°C (± 3), en el bioterio del Instituto de Patología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con un ciclo de luz/oscuridad de 12h cada uno. Se alimentaron con Papeadito Engordina (18 % Proteína) y agua *ad libitum*, una vez por día en una cantidad del 20% del peso total de la rata durante la noche previa limpieza de las jaulas de los roedores. El bioterio contaba con un calefactor, un termómetro ambiental, deshumecedor y extractor de aire para obtener las condiciones ambientales óptimas. Las treinta ratas fueron distribuidas de manera aleatoria en 3 grupos (Control, Grupo A1 y Grupo A2) de diez ratas cada grupo. Así mismo cada grupo estuvo conformado por cinco hembras y cinco machos para evaluar la toxicidad en ambos sexo debido al componente hormonal que altera el metabolismo de los tóxicos.

Definición operacional de las variables: La toxicidad se evaluó a nivel clínico, bioquímico e histológico. A nivel clínico, se consideró toxicidad a la presencia de cambios en la piel, el pelaje, los ojos y las membranas mucosas, y patrones de comportamiento. Se realizaron observaciones clínicas fuera de la jaula una vez al día durante el estudio. Asimismo, la disminución del peso fue considerada como signo de toxicidad; el peso se registró una vez por semana durante todo el estudio. Todas las características registradas como signo de toxicidad son establecidas por el protocolo de la OECD 423(8); así mismo, aquellos signos de los grupos experimentales fueron comparados con el grupo control para determinar los signos y síntomas de toxicidad a este nivel.

A nivel bioquímico, se consideró toxicidad a los valores de transaminasas hepáticas (TGO y TGP), gamma glutamiltranspeptidasa (GGT), Fosfatasa Alcalina (FA), úrea y creatinina superiores a la mediana del grupo control. Los valores normales(9) en ratas Sprague-Dawley de 5 – 8 semanas de edad son:

TGO: Hembra: 79,5 – 248,1 / Macho: 65,8 – 266,2 (UI/L)

TGP: Hembra: 22,2 – 69,8 / Macho: 26,3 – 68,5 (UI/L)

GGT: Hembra: 0 – 2,33 / Macho: 0 – 0,86 (UI/L)

FA: Hembra: 60,5 – 284,1 / Macho: 150,5 – 421,3 (UI/L)

Úrea: Hembra: 33,11 – 86,50 / Macho: 38,00 – 63,30 (mg/dL)

Creatinina: Hembra: 0,23 -0,80 / Macho: 0,32 – 0,71 (mg/dL)

Histológicamente, la presencia de esteatosis microvascular, cambio de las células de Kupffer y células multinucleadas, y regeneración se consideraron como signos de toxicidad en el hígado de acuerdo a la presencia o ausencia que estima el estudio de Alcaraz-Contreras¹⁰. Así mismo en riñones la hiperplasia y hemorragia glomerular fueron reportados como indicadores de daño según Reye-Estrada et al¹¹; también el engrosamiento de pliegues de la mucosa y fibrosis indican daño en el intestino de acuerdo a los estudios de Barzaga¹². La hiperplasia de epitelio superficial y degeneración de folículos, en el ovario, el epitelio alterado con vacuolizaciones y núcleos picnóticos (apoptosis), en el testículo, la hiperplasia de la pulpa roja, la presencia de megacariocitos, la reducción en la cantidad de no-granulocito, las lesiones tanto para los linfocitos T como para los B y el aumento de la celularidad de los folículos linfoides, en el bazo, además de los cambios estructurales e infiltración leucocitaria en el corazón fueron tomados en cuenta¹³.

Procedimientos: La evaluación de la toxicidad aguda oral se realizó según lo estipulado en el ensayo 423 de las directrices de la Organización Económica para el Comercio y Desarrollo (OECD), Guía para la evaluación de químicos⁸.

Sustancia de prueba: En un recipiente se colocó la semilla pelada de *Aleurites moluccana*, se cortó en trozos de 0.3 x 0.3 cm y se molió usando un mortero. Luego se procedió a diluir en distintos volúmenes de agua hirviendo, dependiendo de la concentración que se requería.

Toxicidad aguda oral por 14 días: Los animales distribuidos aleatoriamente fueron clasificados en grupo dosis A1 y dosis A2, que recibieron 8,2 mg/Kg y 2000 mg/Kg de *Aleurites moluccana*, respectivamente; y un grupo control al que se le administró agua destilada. Las sustancias se administraron una vez al día; durante las noches antes de su alimentación por un periodo de catorce días por vía oral mediante canulación orogástrica. Catorce días indica la duración de la receta de la *Aleurites moluccana*, establecida por el mercado y sustentado según lo que se estipula en el ensayo 423 de la OECD⁸

Necropsia e histopatología: Finalizados los 14 días de admi-

nistración, se procedió a la toma de muestras sanguíneas de cada uno de los animales para realizar los estudios bioquímicos correspondientes. Luego se procedió al sacrificio por desnucación cervical, previa sedación con éter dietílico por vía inhalatoria mediante una cámara. La finalidad del sacrificio fue la de efectuar el estudio anatómico-patológico del hígado, corazón, intestino, riñón, gónadas y bazo. Los órganos fueron pesados y descritos según su macroscopía. Posteriormente fueron infiltrados en parafina y cortados en secciones usando un micrótopo, para después ser teñidos con hematoxilina-eosina (HE), Azul de Toluidina y Pararosanilina este último solo para hígado y riñón. Los cortes se observaron bajo un microscopio óptico, a un aumento de 40X.

Aspectos éticos: El presente trabajo se realizó conforme lo establecido en The guide for care and use of laboratory animal de la National Academy Press Washington¹⁴.

Análisis de datos: Se ordenaron los datos en el programa Microsoft Excel v. 2010. Se realizó un análisis univariado mediante frecuencias y porcentajes para variables cualitativas, y mediana y percentil 25 y 75 para las variables cuantitativas. Se usó el análisis bivariado usando Kruskal-Wallis para la comparación entre los 3 grupos y el Test post hoc de Dunn (programa estadístico Stata v11.1) para comparar los grupos de dos a dos. Se consideró significativo un $p < 0,05$ en todos los casos.

RESULTADOS

En relación a los signos de toxicidad, los grupos que recibieron A. moluccana (Grupos: Dosis A1 y Dosis A2) presentaron apatía moderada e intensa, con disminución del movimiento, disminución de reflejos, piloerección, caída de pelaje y disminución de la apertura ocular. Mientras que el grupo control no presentó ninguna alteración clínica.

En cuanto al peso, no se evidenció diferencia en los pesos finales entre los 3 grupos, tanto en hembras y en machos, obteniéndose un $p=0,070$ y $p=0,294$ respectivamente, según el test Kruskal-Wallis (Tabla 1).

Los resultados bioquímicos a nivel de TGO, TGP, úrea, creatinina, GGT y FA no reportaron diferencia significativa entre los tres grupos, tanto en las ratas hembras como en las ratas

Tabla 1. Media de los pesos de las ratas según sexo y grupo

	CONTROL	DOSIS A1	DOSIS A2
Machos	135.13	132.4	108.9
Hembras	92.47	60.47	72.27

machos (prueba Kruskal-Wallis, $p > 0,05$) (Tabla 2)

A nivel hepático, se halló en las ratas hembras esteatosis en los grupos A1 y A2, siendo mayor en el grupo A2. También hubo presencia de células hepáticas binucleadas y en regeneración, las cuales estuvieron en mayor grado en los grupos a los que se administró nuez. Por el contrario, la presencia de linfocitos e hipertrofia de células de Kupffer fue mayor en el grupo control. El grupo control presentó mayor cantidad de animales con necrosis hepática (4 de 5) que el grupo A1 (2 de 5), a diferencia del grupo A2, que no lo presentó. No hubo diferencia entre los grupos respecto al número de animales que presentaron congestión hepática.

En cuanto las ratas macho, los grupos A1 y A2 presentaron un mayor número de células binucleadas y en regeneración en comparación al grupo control. Así mismo, la congestión hepática se presentó en todas las ratas de los dos grupos a los cuales se les administró el preparado de A. moluccana mas no en el grupo control. Los resultados encontrados evidencian la presencia de un mayor grado de esteatosis en el grupo control a diferencia de los grupos expuestos a A. moluccana. La necrosis hepática encontrada en el grupo control (4 de 5) fue mayor en relación al grupo A1 (2 de 5); sin embargo, no se evidenció tal hallazgo en el grupo A2. (Tabla 3 y Figura 1)

A nivel renal, las hembras de los grupos dosis A1 y A2 presentaron congestión (5 de 5) y dilatación tubular y papilar (5 de 5) en comparación del grupo control (3 de 5 y 0 de 5, respectivamente). La necrosis tubular fue moderada en el grupo dosis A2 e intensa en el grupo dosis A1, a diferencia del grupo control que presentó lesión leve en su mayoría y moderada en algunas. La hemorragia glomerular fue leve y moderada en los grupos A1 y A2 respectivamente, a diferencia del grupo control que en su mayoría no lo presentaron. El grupo control presentó un mayor grado de hiperplasia glomerular que los grupos a los que se le administró A. moluccana (Tabla 4).

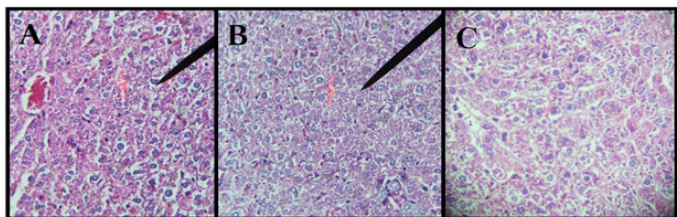
Por su parte, la mayoría de los machos que pertenecieron a los

Tabla 2. Valores p de las variables bioquímicas entre los grupos según sexo

	TGO	TGP	UREA	CREATININA	GGT	FA
Macho	0.067	0.174	0.913	0.195	0.250	0.267
Hembra	0.228	0.770	0.875	0.427	0.457	8.28

Figura 1. Características histológicas del hígado en los grupos al final de estudio

A: Grupo Dosis A1. B: Grupo Dosis A2. C: Grupo Control



grupos A1 y A2 presentaron hiperplasia glomerular y hemorragia glomerular leve (Tabla 4). Por otro lado, no se encontró diferencia significativa entre los 3 grupos con respecto a la necrosis tubular, congestión y dilatación tubular y papilar (Tabla 4 y Figura 2). No se evidenció ninguna alteración histológica en el intestino delgado, corazón, testículo, ovario y bazo.

Al iniciar la parte experimental se registró la muerte de tres ratas: A1 (hembra) al segundo día, A2 (hembra) al tercer día y A2 (macho) al cuarto día, estos decesos se produjeron 24 horas post-intervención. Al realizar la necropsia correspondiente no se evidenció daño en la tráquea ni en las vías respiratorias superiores. Asimismo se observó que los hígados tenían un mayor tamaño y un color más oscuro de lo normal.

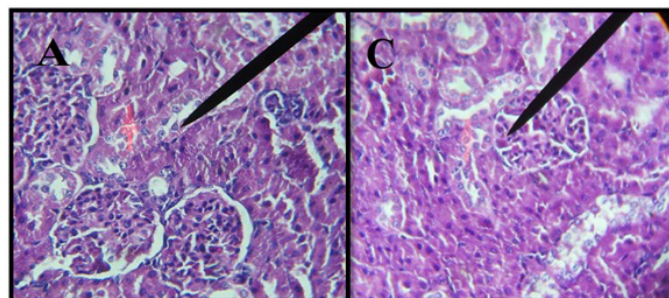
DISCUSIÓN

A nivel clínico, los signos observados en los grupos que recibieron *A. moluccana*, fueron apatía, apertura ocular disminuida, reflejos disminuidos, piloerección y caída de pelaje, estos fueron reportados también por Cai-Li y Gonzales-Torres como signos de toxicidad^{6,15}.

Los resultados bioquímicos constituyen otro indicador relevante en los estudios toxicológicos. En nuestro estudio no se evidenció diferencia significativa entre los grupos; sin embargo, no puede descartarse que el material fitoquímico no sea

Figura 2. Características histológicas del riñón en los grupos al final de estudio

A: Grupo Dosis A2. C: Grupo Control



tóxico, dado que Rojas J. y González Y. reportaron que los valores de las pruebas bioquímicas para toxicidad son evidenciados en experimentos de mayor duración en comparación con este trabajo que tuvo una duración de 14 días^{16,17}.

A nivel hepático, la presencia de células hepáticas binucleadas y en regeneración en los animales que recibieron nuez podría ser producto de la toxicidad de la *A. moluccana*, teniendo como base los resultados de Alcaraz-Contreras¹⁰ quien reportó toxicidad hepática por plomo con presencia de células hepáticas binucleadas. Por otro lado la acumulación de células de Kupffer hipertrofiadas y linfocitos en los hepatocitos necrosados en mayor proporción en el grupo control puede deberse a la esteatosis, provocada posiblemente por la dieta hipercalórica que recibía el animal de experimentación^{18,19} (la dieta hipercalórica dada fue la continuación de la dieta que se daba a la rata en el bioterio de adquisición); esto concuerda con los resultados de Adorna Z. cuyo estudio relata sobre la fisiopatología de esteatohepatitis que fue inducida con una dieta líquida rica en grasas que posteriormente produjo hipertrofia en las células de Kupffer con aumento de sus secreciones¹⁹.

A nivel renal, la hemorragia glomerular es un indicador de toxicidad. En los grupos que recibieron *A. moluccana* se vio

Tabla 3. Características histológicas del hígado en los grupos al final de estudio

Grupos	Esteatosis				C. Hepáticas (binucleadas)				C. Hepáticas (regenerativas)				Linfocitos			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Hembras																
Control	2	1	2	0	3	2	0	0	4	1	0	0	1	4	0	0
Dosis A1	0	1	3	1	1	2	2	0	3	1	1	0	4	0	1	0
Dosis A2	0	4	1	0	1	4	0	0	3	2	0	0	5	0	0	0
Machos																
Control	1	1	3	0	2	2	1	0	2	2	0	0	4	1	0	0
Dosis A1	0	4	1	0	0	5	0	0	4	1	0	0	5	0	0	0
Dosis A2	0	4	0	0	2	3	0	0	3	2	0	0	5	0	0	0

-Nulo, +Leve, ++Moderado, +++Intenso

Tabla 4. Características histológicas del riñón en los grupos según sexo y dosis al final de estudio

Grupo	Necrosis Tubular				Hiperplasia Glomerular				Hemorragia Glomerular			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
Hembras												
Control	0	3	2	0	0	1	4	0	3	2	0	0
Dosis A1	0	1	2	2	0	5	0	0	2	3	0	0
Dosis A2	0	1	3	1	0	3	2	0	1	4	0	0
Machos												
Control	0	1	4	0	0	4	1	0	1	2	2	0
Dosis A1	0	0	5	0	0	5	0	0	0	5	0	0
Dosis A2	0	1	4	0	0	5	0	0	0	4	0	0

- Nulo, +Leve, ++Moderado, +++Intenso.

esto a nivel histológico, los resultados estuvieron en concordancia con lo reportado por Reyes-Estrada et al quienes califican la hemorragia glomerular como indicador de daño renal en intoxicación por vincristina¹¹.

La existencia de diferentes hallazgos histológicos entre hembras y machos se podría explicar por las diferencias hormonales que repercuten en el metabolismo de los tóxicos²⁰. En cuanto a los animales de experimentación muertos, la falta de lesiones en la tráquea y en las vías respiratorias podría indicar que no fue producido por una mala aplicación de la cánula. Las características atribuidas al daño hepático podrían explicar una posible toxicidad a este órgano.

Sobre la base de estos resultados, la toxicidad de *A. moluccana* podría explicarse porque pertenece a la familia Euphorbiaceae, donde se ha hallado la presencia de ésteres de forbol, que presentan propiedades tóxicas según Cai Li⁶. Además, en el examen fitoquímico realizado a la *A. moluccana* se comprueba la presencia de triterpenos y saponinas, las cuales serían los responsables de su toxicidad según Rojas J. y cols¹⁷.

Una de las limitaciones de este estudio es la presencia de esteatosis hepática en todos los animales de experimentación, lo cual no permitió evaluarlo como un indicador de toxicidad. La esteatosis hepática podría deberse a la dieta a la que estuvieron sometidos los animales de experimentación¹⁹. Pese a esta limitación, este trabajo aporta en el conocimiento de los posibles efectos dañinos de la *A. moluccana* que está siendo comercializado como un producto para bajar de peso y abre el camino para futuras investigaciones.

En conclusión la administración oral del preparado de la semilla de *Aleurites moluccana* ("Nuez de la india") produce toxicidad aguda sobre la base de los resultados clínicos e histológicos del riñón en base a la presencia de hemorragia

glomerular y en hígado por la presencia de células hepáticas binucleadas y en regeneración, pero no a nivel bioquímico ni histológico en el intestino, corazón, gónadas y bazo

Agradecimientos:

Agradecemos la asesoría de la estudiante universitaria Katherine Chávez Conde.

Correspondencia:

Laura Rocío Orellana Cuéllar

969519369 / laura.orellana.1993@hotmail.com

Dirección: Jr. Adolfo Jacobo Mz. Q lote 5 – San Martín de Porres

Recibido: 01-05-2014

Aprobado: 16-10-2014

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Edible Medicinal and Non-Medicinal Plants - Volume 1, Fruits [Internet]. [cited 2014 Aug 6]. Available from: <http://www.springer.com/life+sciences/agriculture/book/978-90-481-8660-0>
2. Cesca TG, Faqueti LG, Rocha LW, Meira NA, Meyre-Silva C, de Souza MM, et al. Antinociceptive, anti-inflammatory and wound healing features in animal models treated with a semisolid herbal medicine based on *Aleurites moluccana* L. Willd. Euphorbiaceae standardized leaf extract: semisolid herbal. *J Ethnopharmacol.* 2012 Aug 30;143(1):355–62.
3. Pedrosa RC, Meyre-Silva C, Cechinel-Filho V, Benassi JC, Oliveira LFS, Zancanaro V, et al. Hypolipidaemic activity of methanol extract of *Aleurites moluccana*. *Phytother Res.* 2002 Dec 1;16(8):765–8.
4. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, AEMPS. Retirada del producto nuez de la india-magicnuez. 2012 May 28;
5. Goel G, Makkar HPS, Francis G, Becker K. Phorbol esters: structure, biological activity, and toxicity in animals. *Int J Toxicol.* 2007 Aug;26(4):279–88.
6. Li C-Y, Devappa RK, Liu J-X, Lv J-M, Makkar HPS, Becker K. Toxi-

- city of *Jatropha curcas* phorbol esters in mice. *Food Chem Toxicol*. 2010 Feb;48(2):620–5.
7. Pinillos MA, Beaumont C., Jean Louis C., Rubio C., Martínez Jarauta J., Vellilla N. Intoxicación por “nuez de la india” (aleurites moluccana). *Revista de toxicología, órgano oficial de la asociación española de toxicología*; 2007.
 8. OECD. OECD guideline for testing of chemicals [Internet]. Available from: http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/suppdocs/feddocs/oced/oced_gl423.pdf
 9. Goñi ACL, Blanco D, Peña A, Ronda M, González BO, Arteaga ME, et al. Valores hematológicos y bioquímicos de las ratas Sprague Dawley producidas en CENPALAB, Cenp: SPRD. REDVET-Rev Electrónica Vet-Rev Electrónica Vet [Internet]. 2011 [cited 2014 Aug 6];12(11). Available from: <http://recyt.fecyt.es/index.php/REDVET/article/viewFile/14779/9346>
 10. Alcaraz-Contreras Y, Pérez-Medina AL, Cárdenas-Pérez AG, Vázquez-Guevara MA, Durán-Castro E, Deveze-Álvarez MA, et al. Hepatotoxicidad por exposición a plomo y su protección con tiamina y ácido ascórbico. *Rev Mex Cienc Farm*. 2012;43(1):72–8.
 11. Reyes-Estrada CA, Alvarado-Acosta JL, Gutiérrez-Hernández R, Presno-Bernal M, Yahuaca-Mendoza P. Toxicidad hepática y renal por vincristina en modelo murino. *Rev Investig Científica* [Internet]. 2008 [cited 2014 Aug 6];4(2). Available from: <http://www.uaz.edu.mx/cippublicaciones/ricvol4num2tom1/Ciencias%20de%20la%20Salud/TOXICIDAD.pdf>
 12. Barzaga Fernández PG, Vega Montalvo R, Tillán Capó J, Martín Viana N de la P, Carrillo Domínguez C, Guerra Sardiñas I. Actividad antiulcerosa y toxicidad aguda oral de celulosa microcristalina suspensión al 12 %. *Rev Cuba Farm*. 2004 Aug;38(2):1–1.
 13. Cardiotoxicidad por plomo en ratas Sprague Dawley - Página 3 de 4 - *Revista Médica Electrónica de PortalesMedicos.com* [Internet]. [cited 2014 Aug 6]. Available from: <http://www.revista-portalesmedicos.com/revista-medica/cardiotoxicidad-por-plomo-en-ratas-sprague-dawley/3/>
 14. Health NIO, others. Guide for the care and use of laboratory animals [Internet]. National Academies; 1985 [cited 2014 Aug 6]. Available from: <http://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=NzcrAAAAYA AJ&oi=fnd&pg=PA1&dq=The+guide+for++care+and+use+of+la boratory+animal+de+la+8%C2%B0edition.+&ots=69EHCwPKd D&sig=5aVIDG4DCVQI0HIpMebUVlfoGiI>
 15. González Torres Y, Scull Campos I, Bada Barro AM, González Navarro B, Fuentes Morales D, Arteaga Pérez ME, et al. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas del extracto acuoso de *Morinda royoc* L. en ratas Cenp: SPRD. *Rev Cuba Plantas Med*. 2003;8(2):0–0.
 16. González Torres Y, Scull Campos I, Bada Barro AM, Fuentes Morales D, González Navarro B, Arteaga Pérez ME, et al. Ensayo de toxicidad a dosis repetidas durante 28 días del extracto acuoso de *Cecropia peltata* L.(yagruma) en ratas Cenp: SPRD. *Rev Cuba Plantas Med*. 2006;11(2):0–0.
 17. Rojas J, Díaz D. Evaluación de la toxicidad del extracto metanólico de hojas de *Passiflora edulis* Sims (maracuyá), en ratas. *An Fac Med*. 2012 May 12;70(3):175–80.
 18. Boletín SCHAP. Sección científica y técnica: Orientaciones generales para el enfrentamiento de la biopsia hepática por punción en enfermedades no tumorales del hígado.
 19. Adorna Carmenate Z. Esteatohepatitis no alcohólica: Fisiopatología y modelos experimentales. *Rev Cuba Investig Bioméd*. 2007 Mar;26(1):0–0.
 20. Kuhn GR. Manuel Repetto Jiménez. [cited 2014 Aug 6]; Available from: <http://www.busca-tox.com/05pub/Desarrollo%20y%20evolucion%20historica%20de%20la%20toxicologia.%20Toxicologia%20Fundamental%20Repetto%20M%20y%20Repetto%20G.pdf>