

## Toxicidad crónica de polvo de taninos obtenidos de corteza de *Pinus caribaea* Morelet por vía oral en ratas

### Chronic oral toxicity of tannin powders obtained from bark of *Pinus caribaea* Morelet in rats

Ana Margarita Bada Barro,<sup>I</sup> Jorge Luis Santana Romero,<sup>II</sup> Bárbara O. González Navarro,<sup>III</sup> Yana González Torres,<sup>I</sup> Consuelo González Triana,<sup>IV</sup> María Elena Arteaga Pérez,<sup>V</sup> Dennys Gómez Rosales,<sup>VI</sup> Axel A. Mancebo Rodríguez<sup>I</sup>

<sup>I</sup> Máster en Ciencias. Centro de Toxicología Experimental, Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Doctor en Ciencias Químicas. Instituto Superior de Ciencias y Tecnologías Aplicadas (InsTEC). Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>III</sup> Doctora en Ciencias Veterinarias. Médico Veterinario. Investigadora Auxiliar. CENPALAB. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>IV</sup> Máster en Ciencias Químicas. Ingeniera Química. Investigadora Auxiliar. CENPALAB. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>V</sup> Máster en Ciencias en Toxicología Experimental. Médico Veterinario. Investigador Auxiliar. CENPALAB. Ciudad de La Habana, Cuba.

<sup>VI</sup> Máster en Ciencias en Prevención de Enfermedades. Médico Veterinario. CENPALAB. Ciudad de La Habana, Cuba.

---

#### RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** se han demostrado los efectos antimutagénicos y no genotóxicos de los taninos de *Pinus caribaea* Morelet, así como su influencia en la mejoría de la calidad de vida de pacientes.

**OBJETIVOS:** evaluar la toxicidad crónica del polvo de taninos obtenido de corteza de *P. caribaea* por vía oral.

**MÉTODOS:** se realizó un estudio de toxicidad crónica (6 meses) por vía oral en ratas Cenp: SPRD. Se conformaron un grupo control y 3 tratados (1, 2,5 y 5 mg/kg/d/6 meses). Se realizaron observaciones clínicas diarias. El peso corporal y los consumos de agua y alimento se midieron semanalmente. Al inicio, en la semana 13 y al final del estudio se realizaron exámenes de laboratorio clínico. Al concluir los 6 meses se sacrificaron todos los animales y se efectuó necropsia completa de cada uno, así como el estudio microscópico de los órganos y tejidos de

los animales de los grupos Dosis alta y control.

**RESULTADOS:** durante el estudio murió 1 hembra del grupo Dosis baja, el resto de los animales alcanzó el final del estudio con buen estado. Los signos clínicos descritos estuvieron distribuidos por todos los grupos y no guardaron relación con la sustancia de ensayo. La curva de peso corporal fue similar para todos los grupos. El consumo de agua se incrementó en los animales tratados con la dosis mayor, el consumo de alimento no se vio afectado. Los parámetros de laboratorio clínico presentaron diferencias, aunque se mantuvieron dentro de los rangos normales reportados para la especie. Los hallazgos de anatomía patológica no guardaron relación con la administración del polvo de taninos.

**CONCLUSIONES:** la administración oral durante 6 meses del polvo de taninos de corteza de *P. caribaea* no produjo toxicidad.

**Palabras clave:** *Pinus caribaea*, polvo de taninos, toxicidad crónica, plantas medicinales.

---

## ABSTRACT

**INTRODUCTION:** effects of antimutagenic and non-genotoxic agents of tannins from *Pinus caribaea* Morelet, as well as its influence in improvement of quality life of patients.

**OBJECTIVES:** to assess chronic oral toxicity of tannin powder obtained from bark of *P. caribaea*.

**METHODS:** we performed a study on chronic toxicity (6 months) *per os* in C57BL/6J mice. We made clinical observations daily. There was a control group and 3 treated (1, 2, 5 and 5 mg/kg/d/6 months). We performed clinical observations daily. Body weight and water and food consumptions were measured weekly. At the beginning, in 13 week and at the end of study, we carried out clinical laboratory examinations. At 6 months all animals were sacrificed and we made a complete necropsy of each, as well as a microscopical study of organs and tissues of animals in groups of higher dose and control.

**RESULTS:** during study a female in lower dose group died, the remainder finished the study in a good state. Clinical signs described were distributed by all groups and had not relation with assay substance. Body weight curve was similar for all groups. Water consumption increased in animals treated with the higher dose, but the food consumption was normal. Clinical laboratory parameters had differences, although they were within normal ranks reported for the species. Findings of pathologic anatomy have not relation to administration of tannin powders.

**CONCLUSIONS:** There was not toxicity with *per os* administration during 6 months of tannin powders from bark of *P. caribaea*.

**Key words:** *Pinus caribaea*, tannin powders, chronic toxicity, medicinal plants.

---

## INTRODUCCIÓN

Los polifenoles, grupo al que pertenecen los taninos, han demostrado poseer propiedades importantes que generan aplicaciones industriales, cosméticas o farmacéuticas. Los taninos vegetales constituyen una familia de sustancias que ha

llamado poderosamente la atención de la comunidad científica en los últimos años por causa de sus interesantes propiedades y crecientes aplicaciones.<sup>1</sup>

Los taninos son metabolitos secundarios que acumulan las plantas durante de su vida y cumplen con determinadas funciones.<sup>1</sup> Varios autores le han asignado a estos compuestos un papel defensivo contra plagas o en el ataque de herbívoros depredadores.<sup>2-4</sup> Otros autores consideran que los taninos son productos de reserva que la planta moviliza ante condiciones no propicias para el crecimiento como pueden ser altas temperaturas, alta intensidad luminosa, estrés hídrico, entre otras.<sup>5</sup>

Los taninos se dividen en 3 grandes grupos: taninos hidrolizables, condensados y complejos.<sup>6</sup> Los taninos de la especie *Pinus caribaea* Morelet, son del tipo condensados proantocianidinas de origen floroglucinólicos, que se caracterizan por una unión estable a proteínas, ADN y otros biopolímeros a pH 2.<sup>7</sup> Han demostrado poseer una importante bioactividad como agentes antioxidantes, fotoprotectores, cicatrizantes, reafirmantes, antiulcerosos, astringentes y antivirales.<sup>1</sup>

Algunos autores han demostrado los efectos antimutagénicos y no genotóxicos de los taninos de *P. caribaea*, así como su influencia en la mejoría de la calidad de vida de los pacientes.<sup>8,9</sup>

Teniendo en cuenta las propiedades atribuidas a los taninos y la duración de los tratamientos propuestos en pacientes con enfermedades crónicas, el objetivo principal fue estudiar los efectos producidos por la ingestión a dosis repetida durante 6 meses del polvo de taninos (solución acuosa) en ratas. El ensayo se realizó según lo establecido en la Directriz 452 de la OECD (*Organization for Economic Cooperation and Development*),<sup>10</sup> ajustando el tiempo de duración a 6 meses según recomienda la FDA (*Food and Drug Administration*).<sup>11</sup>

## MÉTODOS

El estudio fue conducido bajo los Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medio Ambiental<sup>12</sup> y por lo establecido en la Guía para el Cuidado, Uso, y Reproducción de los Animales para la Experimentación en el Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB, 2000).

### *Sustancia de ensayo*

Polvo de taninos de corteza de *P. caribaea* Morelet proveniente del Instituto Superior de Ciencia y Tecnologías Nucleares, con los parámetros siguientes: color carmelita, textura de polvo fino (tp 50-60 µm) y olor característico a madera. El material vegetal está ubicado con el número HBW 321 en la xiloteca del Instituto de Investigaciones Forestales de Cuba.

### *Biomodelo*

Se utilizaron 160 ratas Cenp: SPRD (rango de peso de 35 a 55 g), distribuidas en 4 grupos experimentales, compuesto cada uno por 20 hembras y 20 machos. Los animales se readaptaron durante 11 d antes de comenzar el estudio y fueron alojados en cajas T<sub>4</sub> de policarbonato en grupos de 3 o 2 animales del mismo sexo por caja. El agua se administró en biberones de policarbonato de 1 L con pipeta de

acero inoxidable. Se ofreció como alimento la fórmula EMO 1002 granulada (AlyCo<sup>®</sup>, CENPALAB). Tanto el agua como el alimento fueron esterilizados en autoclave. Durante todo el ensayo el alimento se retiró 12 h antes de administrar la sustancia y se suministraba nuevamente 3 h después la administración. El consumo de agua se realizó a voluntad.

#### *Nivel de dosis, frecuencia y duración*

La frecuencia de administración fue de 6 días a la semana durante 26 semanas. Al grupo Control se le administró agua destilada, que fue el vehículo en que se disolvió el polvo de taninos para ser administrado. Se emplearon 3 niveles de dosis:

1. Dosis baja (1 mg/kg de peso corporal).
2. Dosis media: (2,5 mg/kg peso corporal).
3. Dosis alta (5 mg/kg peso corporal).

Para mantener las dosis constantes a lo largo del estudio se varió el volumen de sustancia a administrar, en función del peso corporal y respetando el factor de volumen de administración (1 mL/100 g de peso corporal).

#### *Condiciones ambientales*

Los parámetros ambientales fueron monitoreados diariamente utilizando un medidor de temperatura y humedad relativa. La temperatura de la sala fue de 22,6 ± 2,3 °C y la humedad relativa de 69,8 ± 8,4 %. Se trabajó con un fotoperíodo de 12 h luz/12 h oscuridad.

#### *Observaciones clínicas*

Se realizó observación clínica diaria y se evaluó el estado general de los animales. Se prestó particular atención a la aparición de diarrea, cambios en piel y pelaje, membranas mucosas y ojos, así como cualquier alteración de los sistemas respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo, actividad somatomotora y patrón de comportamiento, temblores, convulsiones, letargo, salivación, sueño y coma.

#### *Peso corporal y consumos de alimento y agua*

El peso corporal se determinó de forma individual en una balanza técnica *Sartorius* (PT 1200) a todos los animales, antes de administrar la sustancia por primera vez y semanalmente hasta finalizar el estudio. Los consumos de alimento y agua se calcularon una vez por semana durante todo el estudio.

#### *Exámenes de laboratorio clínico*

Los exámenes de laboratorio clínico se realizaron 3 veces: al inicio del estudio a 100 % de los animales, en la semana 13 y al finalizar el estudio a 50 % de los animales (10 animales/sexo/grupo). La extracción de sangre se realizó a través del seno orbital de los animales, que se mantuvieron en ayuno durante las 12 h anteriores a la extracción de sangre.

#### *Hematología*

Se determinaron hemoglobina (HB); hematócrito (HTC); eritrocitos (ERI); constantes corpusculares como volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina

corpúscular media (HCM) y concentración de hemoglobina corpúscular media (CHCM); conteo de plaquetas (PLT); conteo total de leucocitos (LEU); y conteo diferencial de leucocitos: neutrófilos (N), linfocitos (L), eosinófilos (E) y monocitos (M). Todos los parámetros se determinaron en un contador de células MICROS ABX (Roche Diagnostic Systems), con excepción de las células diferenciadas que se observaron al microscopio.

#### *Bioquímica sanguínea*

Se determinaron las proteínas totales (PT), albúmina (ALB), alanino aminotransferasa (ALT), aspartato aminotransferasa (AST), fosfatasa alcalina (ALP), creatinina (Cre), bilirrubina total (Bil-T), colesterol total (Chol), urea nitrogenada (BUN), calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ), fósforo (Phos), glucosa (GLU) y el coeficiente albúmina/globulina (A/G) en un analizador automático Hitachi-704 (Boehringer Mannheim GmbH). Se estableció el balance electrolítico mediante la medición de sodio ( $\text{Na}^+$ ) y potasio ( $\text{K}^+$ ) en un espectrofotómetro de absorción atómica PYE UNICAM.

#### *Exámenes de patología*

Se realizó necropsia completa a todos los animales al finalizar el estudio. Se examinó la superficie externa del cuerpo, todos los orificios y cavidades. Se determinó el peso corporal *postmortem* y los pesos de hígado, riñones, adrenales, corazón, pulmones, timo, bazo, encéfalo y testículos u ovarios. Se calculó el peso relativo de los órganos (peso de órgano/peso *postmortem*) x 100.

Se procesaron histológicamente: encéfalo (varias secciones), hipófisis, nervio periférico, médula espinal (cervical, torácica y lumbar), ojos (retina, nervio óptico), glándulas salivares, lengua, esófago, estómago, duodeno, yeyuno, íleon, ciego, colon, recto, hígado, páncreas, conducto biliar, adrenales, paratiroides, tiroides, tráquea, pulmones, aorta, corazón, nódulos linfáticos, bazo, timo, riñones, vejiga urinaria, músculo esquelético, próstata, testículos/epidídimos, vesículas seminales, úteros, ovarios, glándulas mamarias, esternón con médula ósea (incluidas las articulaciones) y todas las lesiones macro y las masas palpables.

Se examinaron al microscopio los órganos y tejidos de todos los animales de los grupos Dosis alta, Control y del animal que murió durante el ensayo.

#### *Análisis estadístico*

Para el análisis estadístico se empleó el paquete estadístico SPSS (Versión 10.0.5, 1999). Todos los datos obtenidos fueron introducidos en bases de datos. Se determinó la media (X) y la desviación estándar (DE) para cada grupo por sexo. Se realizó análisis de varianza (ANOVA) factorial simple teniendo en cuenta la variable grupo, para determinar las diferencias se empleó la prueba LSD. Se trabajó para un nivel de significación de  $p < 0,05$ .

## **RESULTADOS**

#### *Observaciones clínicas*

El estudio terminó con 99,4 % de supervivencia. El día 41 del estudio (semana 7) murió una hembra del grupo Dosis baja. El resto de los animales alcanzó el final del

estudio con buen estado físico y manteniendo un comportamiento típico de la especie. Un total de 79 animales no presentaron ningún signo clínico (49,4 %). La manifestación clínica más frecuente fue la caída de pelo, fundamentalmente en la parte anterior del cuerpo (cabeza, patas delanteras y zona escapular), la cual se observó en 60 animales, distribuidos en todos los grupos y en los 2 sexos. Presentaron inflamación del pabellón auricular 3 hembras, 2 del grupo Control y 1 del grupo Dosis alta. Esta manifestación apareció en la segunda mitad del estudio y se mantuvo en los 3 animales hasta concluir el estudio.

#### *Peso corporal*

El peso corporal describió una curva marcadamente ascendente entre la primera y novena semana del estudio en las hembras y en los machos hasta alrededor de las semanas 10 y 11 ([fig. 1](#)); a partir de estas semanas el peso continuó incrementándose pero de forma menos acentuada en los 2 sexos. El análisis estadístico arrojó diferencias significativas entre grupos hasta la semana 5 del estudio en uno y otro sexos. A partir de la 6ta semana las diferencias desaparecieron; este parámetro se comportó de forma muy similar en los 4 grupos, en los 2 sexos. Al final del estudio se observó una disminución de peso en todos los grupos, no significativa estadísticamente.

#### *Consumo de alimento y agua*

El consumo diario de alimento ([fig. 2](#)) mantuvo un comportamiento irregular durante todo el estudio. Al inicio del ensayo la cantidad de alimento consumido, en los 2 sexos, fue menor, aumentando en la medida en que avanzó el estudio y retornando a los valores iniciales en la última semana. El análisis estadístico demostró diferencias entre grupos en las hembras, en 11 de las 26 semanas analizadas, y en los machos en 8 semanas.

El consumo de agua también mostró un comportamiento irregular ([fig. 3](#)). El análisis estadístico demostró diferencias significativas entre grupos en las hembras en 11 de las 26 semanas analizadas, y solo en 3 semanas en los machos.

#### *Hematología*

En las hembras se observaron diferencias entre grupos en las variables del hemograma en el muestreo 3; el grupo Dosis alta tuvo los valores más bajos, a su vez presentó los valores más altos de leucocitos totales (tabla 1).

**Tabla 1.** Valores de media (X) y desviación estándar (DE) de los parámetros hematológicos. Hembras

Muestreo	Grupo	Parámetros hematológicos/ X ± DE											
		HB g/dL	ERI 10 <sup>6</sup> / mm <sup>3</sup>	HT C %	V C M fL	HC M pg	CH CM g/ dL	PLT 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup>	LEU 10 <sup>6</sup> / mm <sup>3</sup>	N %	L %	M %	E %
1	Control	10,96 ±	6,11 ± 0,67	38,42 ±	6,29	17,5	28,5	746,6 ± 124,	3,98 ± 1,06	9,0 ±	9,0 ± 9	0,1 ±	-

		1,1 6		4,0 9	± 1, 6	± 0, 52 a	± 0, 57 a	6	a	3, 5	± 3, 4	0, 3	
	Do sis baj a	10, 31 ± 1,5 4	5,75 ± 0,82	36, 36 ± 5,4 1	6 3, 1 ± 1, 9	17 ,9 1 ± 0, 55 a	28 ,3 5 ± 0, 51 a	651, 7 ± 105, 4	4,40 ± 1,38 a	8, 3 ± 3, 5	9 1, 4 ± 3, 5	0, 2 ± 0, 4	-
	Do sis me dia	10, 65 ± 1,1 0	5,67 ± 0,61	36, 27 ± 4,1 2	6 3, 9 ± 2, 3	18 ,8 1 ± 0, 83 b	29 ,4 2 ± 0, 96 b	684, 1 ± 139, 3	6,39 ± 1,68 b	1 0, 0 ± 4, 1	8 9, 5 ± 4, 3	0, 3 ± 0, 7	0, 1 ± 0, 3
	Do sis alta	10, 22 ± 1,3 0	5,59 ± 0,69	35, 10 ± 4,3 4	6 2, 7 ± 2, 0	18 ,3 1 ± 0, 67 a	29 ,1 9 ± 0, 34 b	664, 4 ± 162, 4	6,00 ± 1,52 b	8, 0 ± 3, 0	9 1, 8 ± 3, 0	0, 1 ± 0, 3	0, 0 ± 0, 2
2	Co ntr ol	13, 58 ± 1,0 8	8,37 ± 0,77	43, 84 ± 4,0 7	5 2, 3 ± 1, 2 <sup>a</sup>	16 ,2 1 ± 0, 41	31 ,0 1 ± 0, 61	679, 5 ± 115, 0	4,24 ± 0,84	5, 3 ± 2, 7	9 4, 3 ± 2, 8	0, 3 ± 0, 5	0, 1 ± 0, 3
	Do sis baj a	13, 66 ± 0,6 1	8,25 ± 0,35	44, 97 ± 1,9 2	5 4, 5 ± 1, 8 <sup>b</sup>	16 ,5 7 ± 0, 52	30 ,3 9 ± 0, 71	619, 4 ± 150, 9	4,98 ± 1,35	7, 8 ± 3, 4	9 1, 9 ± 3, 4	0, 0 ± 0, 3	0, 2 ± 0, 4
	Do sis me dia	13, 94 ± 0,8 7	8,45 ± 0,46	45, 95 ± 2,7 7	5 4, 4 ± 2, 5 <sup>b</sup>	16 ,5 4 ± 0, 66	30 ,3 7 ± 0, 51	676, 6 ± 150, 4	5,39 ± 1,17	5, 8 ± 2, 4	9 4, 0 ± 2, 5	0, 1 ± 0, 3	0, 0 ± 0, 3
	Do sis alta	13, 37 ± 0,7 6	7,99 ± 0,40	43, 66 ± 2,6 4	5 4, 6 ± 1, 5 <sup>b</sup>	16 ,7 8 ± 0, 53	30 ,6 3 ± 0, 44	641, 4 ± 91,3	5,19 ± 1,26	4, 3 ± 1, 9	9 5, 0 ± 1, 6	0, 5 ± 0, 7	0, 2 ± 0, 6
3	Co ntr ol	12, 93 ± 0,9 5 <sup>a,b</sup>	8,42 ± 0,76 a,c	45, 13 ± 4,0 0 <sup>a</sup>	5 3, 6 ± 1, 1	15 ,4 2 ± 0, 0	28 ,6 8 ± 0, 0	524, 2 ± 118, 3	5,17 ± 1,39 a	5, 8 ± 1, 6	9 3, 7 ± 1, 1	0, 5 ± 0, 5	-

					5	55	97				6		
Dosis baja	12,21 ± 0,67 <sup>a,c</sup>	7,76 ± 0,41 <sup>b,c</sup>	42,46 ± 2,15 <sup>a,b</sup>	54,77 ± 1,04	15,55 ± 0,41	28,78 ± 0,31	513,7 ± 68,0	4,26 ± 0,97 <sup>a</sup>	6,5 ± 2,3	9,3 ± 0,2	0,3 ± 0,5	0,1 ± 0,3	
Dosis media *	13,10 ± 0,81 <sup>b</sup>	8,30 ± 0,51 <sup>a,c</sup>	44,91 ± 2,78 <sup>a</sup>	54,2 ± 3,1	15,81 ± 0,68	29,17 ± 0,70	578,7 ± 141,3	4,83 ± 1,02 <sup>a</sup>	5,7 ± 1,9	9,4 ± 1,9	0,1 ± 0,3	-	
Dosis alta	12,10 ± 1,03 <sup>c</sup>	7,53 ± 0,71 <sup>b</sup>	41,15 ± 3,33 <sup>b</sup>	54,6 ± 1,1	16,07 ± 0,61	29,40 ± 0,93	538,8 ± 120,6	6,19 ± 0,92 <sup>b</sup>	7,1 ± 3,5	9,2 ± 3,5	0,1 ± 0,3	-	

HB: hemoglobina, HTC: hematócrito, ERI: eritrocitos, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media, PLT: conteo de plaquetas, LEU: conteo total de leucocitos, N: neutrófilos, L: linfocitos, E: eosinófilos, M: monocitos, -: valor 0, n= 10, \*n= 9. Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas p< 0,05.

En los machos se observaron diferencias entre grupos en las variables del hemograma en los muestreos intermedio y final; los grupos Dosis baja y Dosis alta presentaron los valores más bajos (tabla 2).

**Tabla 2.** Valores de media (X) y desviación estándar (DE) de los parámetros hematológicos. Machos

Muestreo	Grupo	Parámetros hematológicos/ X±DE											
		HB g/ dL	ERI 10 <sup>6</sup> / mm <sup>3</sup>	HTC %	VCM fL	HCM pg	CHCM g/ dL	PLT 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup>	LEU 10 <sup>3</sup> / mm <sup>3</sup>	N %	L %	M %	E %
1	Control	10,70 ± 1,14	5,95 ± 0,67	37,69 ± 4,02	63,5 ± 1,4 <sup>a,c</sup>	18,03 ± 0,57 <sup>a</sup>	28,45 ± 0,42	728,8 ± 112,7	4,05 ± 0,82 <sup>a</sup>	7,1 ± 3,7 <sup>a</sup>	92,6 ± 3,8 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,5	-
	Dosis	10,79 ± 0,79	5,85 ± 0,79	37,86 ± 0,79	64,7 ± 0,79	18,44 ± 0,79	28,4 ± 0,79	690,4 ± 0,79	4,41 ± 0,79	9,4 ± 0,79	89,9 ± 0,79	0,1 ± 0,79	0,1 ± 0,79



	baja	± 1,43	0,76	± 4,81	± 1,8 <sup>a,b</sup>	± 0,46 <sup>a,b</sup>	9 ± 0,46	116,0	1,30 <sup>a</sup>	± 4,7 <sup>a</sup>	± 5,9 <sup>a</sup>	6 ± 1,4	± 0,5
	Dosis media	10,60 ± 1,02	5,62 ± 0,55	36,65 ± 3,50	65,4 ± 2,2 <sup>b</sup>	18,91 ± 1,15 <sup>b</sup>	28,97 ± 1,26	694,7 ± 114,7	6,64 ± 1,49 <sup>b</sup>	13,2 ± 5,2 <sup>b</sup>	86,4 ± 5,0 <sup>b</sup>	0,3 ± 0,5	0,05 ± 0,2
	Dosis alta	10,40 ± 0,84	5,76 ± 0,47	36,24 ± 2,76	63,0 ± 2,5 <sup>c</sup>	18,08 ± 0,68 <sup>a</sup>	28,73 ± 0,35	654,6 ± 130,6	5,63 ± 1,52 <sup>c</sup>	13,8 ± 4,6 <sup>b</sup>	85,8 ± 4,5 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,4	0,1 ± 0,3
2	Control	15,14 ± 0,61 <sup>a</sup>	9,29 ± 0,41 <sup>a</sup>	50,08 ± 2,29 <sup>a</sup>	53,9 ± 1,4	16,29 ± 0,31 <sup>a</sup>	30,24 ± 0,56	563,0 ± 196,7	5,76 ± 1,62	6,6 ± 2,5 <sup>a</sup>	93,1 ± 2,4 <sup>a,b</sup>	0,2 ± 0,4	0,01 ± 0,3
	Dosis baja	14,19 ± 1,10 <sup>b</sup>	8,58 ± 0,60 <sup>b</sup>	47,02 ± 3,35 <sup>b</sup>	54,8 ± 1,8	16,51 ± 0,72 <sup>a,b</sup>	30,14 ± 0,49	665,3 ± 104,5	6,38 ± 1,25	9,1 ± 3,7 <sup>b</sup>	90,6 ± 4,1 <sup>a</sup>	0,2 ± 0,4	0,1 ± 0,3
	Dosis media	14,61 ± 0,47 <sup>a,b</sup>	8,62 ± 0,30 <sup>b</sup>	47,59 ± 1,99 <sup>b</sup>	55,2 ± 1,3	16,94 ± 0,37 <sup>b</sup>	30,70 ± 0,56	627,7 ± 62,8	5,69 ± 1,22	4,9 ± 2,1 <sup>a</sup>	95,0 ± 2,1 <sup>b</sup>	0,1 ± 0,3	-
	Dosis alta	14,08 ± 0,54 <sup>b</sup>	8,64 ± 0,29 <sup>b</sup>	46,53 ± 2,28 <sup>b</sup>	53,8 ± 1,9	16,33 ± 0,51 <sup>a</sup>	30,29 ± 0,46	700,4 ± 86,2	5,66 ± 0,94	6,0 ± 2,1 <sup>a</sup>	93,8 ± 2,1 <sup>b</sup>	0,2 ± 0,4	-
3	Control	13,18 ± 1,10 <sup>a</sup>	8,74 ± 0,79	46,50 ± 3,84 <sup>a,b</sup>	53,2 ± 1,6	15,06 ± 0,48 <sup>a</sup>	28,37 ± 0,26 <sup>a</sup>	540,1 ± 71,2	6,03 ± 2,29	9,4 ± 4,1	90,4 ± 4,1	0,2 ± 0,4	-

Do sis baj a	12, 59 ± 1,1 5 <sup>a</sup>	8,27 ± 0,69	44, 51 ± 4,1 0 <sup>a</sup>	53 ,8 ± 2, 3	15, 20 ± 0,6 9 <sup>a</sup>	28 ,2 7 ± 0, 37 <sup>a</sup>	493, 9 ± 127, 4	7,45 ± 2,68	7, 0 ± 3, 8	92 ,4 ± 3, 9	0 , 4 ± 0 , 5	0, 2 ± 0, 4
Do sis me dia	14, 21 ± 0,7 5 <sup>b</sup>	8,76 ± 0,70	48, 44 ± 2,4 0 <sup>b</sup>	54 ,1 ± 1, 5	15, 91 ± 0,5 3 <sup>b</sup>	29 ,3 6 ± 0, 74 <sup>b</sup>	550, 1 ± 82,5	7,02 ± 1,37	7, 6 ± 3, 2	92 ,2 ± 3, 4	0 , 2 ± 0 , 4	-
Do sis alt a	12, 77 ± 1,2 9 <sup>a</sup>	8,30 ± 0,74	43, 57 ± 3,8 0 <sup>a</sup>	52 ,5 ± 2, 0	15, 38 ± 0,5 7 <sup>a</sup>	29 ,2 4 ± 0, 74 <sup>b</sup>	541, 6 ± 142, 1	5,80 ± 1,43	5, 4 ± 1, 6	94 ,2 ± 1, 9	0 , 4 ± 0 , 5	-

HB: hemoglobina, HTC: hematocrito, ERI: eritrocitos, VCM: volumen corpuscular medio, HCM: hemoglobina corpuscular media, CHCM: concentración de hemoglobina corpuscular media, PLT: conteo de plaquetas, LEU: conteo total de leucocitos, N: neutrófilos, L: linfocitos, E: eosinófilos, M: monocitos, -: valor 0, n= 10. Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas p< 0,05.

### Bioquímica sanguínea

En los 2 sexos se observaron diferencias intergrupos en 8 de los parámetros estudiados en el muestreo 2; en el muestreo 3 las hembras presentaron diferencias en 7 parámetros y los machos en 4 de los parámetros estudiados (tablas 3 y 4).

**Tabla 3.** Valores de media (X) y desviación estándar (DE) de los parámetros de bioquímica sanguínea. Hembras

Parámetros de Bioquímica sanguínea/ X±DE											
P U/L	AST U/L	ALT U/L	ALB g/L	Bil-T umol/L	PT g/L	GLU mmol/L	BUN mmol/L	Ca mmol/L	Phos mmol/L	Chol mmol/L	TG mmol/L
4,0 ± 52,0 <sup>a</sup>	137,7 ± 20,1 <sup>a</sup>	40,6 ± 8,2 <sup>a</sup>	38,93 ± 2,96 <sup>a,c</sup>	6,13 ± 1,17 <sup>a</sup>	47,31 ± 4,76 <sup>a</sup>	8,07 ± 1,38 <sup>a</sup>	7,60 ± 1,83 <sup>a</sup>	2,57 ± 0,21 <sup>a</sup>	4,98 ± 0,95 <sup>a,b</sup>	1,92 ± 0,38 <sup>a</sup>	0,45 ± 0,10 <sup>a</sup>
8,9 ± 5,7 <sup>b</sup>	146,1 ± 13,1 <sup>a</sup>	45,2 ± 7,8 <sup>a</sup>	40,24 ± 1,13 <sup>b</sup>	6,84 ± 1,73 <sup>a</sup>	55,63 ± 2,74 <sup>b</sup>	6,99 ± 0,90 <sup>b</sup>	8,50 ± 1,26 <sup>a</sup>	2,20 ± 0,25 <sup>b</sup>	5,33 ± 0,56 <sup>a</sup>	1,96 ± 0,39 <sup>a</sup>	0,19 ± 0,08 <sup>b</sup>
109,9 ± 22,4 <sup>b</sup>	156,0 ±	66,2 ±	37,82 ±	6,25 ± 1,16 <sup>a</sup>	50,78 ± 1,85 <sup>b</sup>	6,08 ± 0,87 <sup>c</sup>	8,46 ± 1,79 <sup>a</sup>	2,64 ± 0,30 <sup>a</sup>	4,99 ± 0,37 <sup>a,b</sup>	2,20 ± 0,36 <sup>b</sup>	0,65 ± 0,20 <sup>c</sup>

	21,0 <sup>b</sup>	9,8 <sup>b</sup>	1,0 <sup>3a</sup>													
9,2 ± 4,6 <sup>b</sup>	156,7 ± 29,8 <sup>b</sup>	63,3 ± 12,8 <sup>b</sup>	40,17 ± 2,28 <sup>b,c</sup>	7,72 ± 0,93 <sup>b</sup>	55,65 ± 4,04 <sup>c</sup>	6,02 ± 0,68 <sup>c</sup>	9,88 ± 1,54 <sup>b</sup>	2,61 ± 0,16 <sup>a</sup>	4,69 ± 0,49 <sup>b</sup>	2.40 ± 0.31 <sup>b</sup>	0.59 ± 0.21 <sup>c</sup>					
9,3 ± 5,5	117,7 ± 24,6 <sup>a,b</sup>	51,8 ± 8,7 <sup>a</sup>	47,23 ± 2,30	6,24 ± 0,37 <sup>a</sup>	125,47 ± 9,77 <sup>a</sup>	6,04 ± 0,72 <sup>a</sup>	7,89 ± 1,50 <sup>a</sup>	3,04 ± 0,13	3,46 ± 0,20	1.68 ± 0.29	1.23 ± 0.42 <sup>a</sup>					
7,3 ± 8,5	102,7 ± 18,2 <sup>a</sup>	49,7 ± 11,1 <sup>a</sup>	46,60 ± 2,02	5,86 ± 0,62 <sup>a</sup>	120,97 ± 11,43 <sup>a,b</sup>	6,72 ± 0,63 <sup>b</sup>	8,46 ± 1,17 <sup>a</sup>	2,95 ± 0,15	3,48 ± 0,32	1.84 ± 0.23	1.20 ± 0.35 <sup>a</sup>					
5,4 ± 4,5	130,4 ± 25,7 <sup>b</sup>	61,2 ± 3,9 <sup>b</sup>	47,79 ± 1,99	7,88 ± 1,21 <sup>b</sup>	126,98 ± 19,83 <sup>a</sup>	5,93 ± 0,89 <sup>a</sup>	11,40 ± 1,62 <sup>b</sup>	3,12 ± 0,29	3,46 ± 0,26	1.61 ± 0.26	1.75 ± 0.53 <sup>b</sup>					
6,1 ± 0,9	99,5 ± 10,6 <sup>a</sup>	56,0 ± 4,5 <sup>a,b</sup>	46,81 ± 2,13	6,00 ± 1,52 <sup>a</sup>	111,91 ± 7,88 <sup>b</sup>	6,99 ± 0,63 <sup>b</sup>	9,89 ± 1,42 <sup>c</sup>	2,81 ± 0,42	3,14 ± 0,38	1.60 ± 0.25	1.51 ± 0.57 <sup>a,b</sup>					
2,5 ± 2,2	106,2 ± 26,2	61,4 ± 18,4 <sup>a</sup>	50,43 ± 2,59	5,56 ± 0,63 <sup>a,b</sup>	90,41 ± 5,82 <sup>a</sup>	5,60 ± 0,73	7,60 ± 0,67 <sup>a,c</sup>	2,51 ± 0,15 <sup>a</sup>	2,27 ± 0,20	1.67 ± 0.24 <sup>a</sup>	1.21 ± 0.57					
5,6 ± 5,8	117,4 ± 9,3	63,4 ± 24,7 <sup>a</sup>	53,81 ± 2,95	6,27 ± 0,80 <sup>a</sup>	97,78 ± 6,22 <sup>b</sup>	5,93 ± 0,88	8,40 ± 1,12 <sup>a</sup>	2,89 ± 0,25 <sup>b</sup>	2,49 ± 0,35	2.21 ± 0.50 <sup>b</sup>	1.32 ± 0.56					
3,3 ± 8,1	111,5 ± 12,9	45,6 ± 7,0 <sup>b</sup>	50,26 ± 2,48	5,12 ± 0,66 <sup>b</sup>	86,65 ± 5,17 <sup>a</sup>	6,27 ± 0,60	6,21 ± 0,82 <sup>b</sup>	2,71 ± 0,12 <sup>c</sup>	2,22 ± 0,18	1.88 ± 0.28 <sup>a,c</sup>	1.40 ± 0.85					
7,1 ± 6,7	107,3 ± 18,6	46,3 ± 8,6 <sup>b</sup>	51,14 ± 4,08	5,46 ± 1,04 <sup>b</sup>	90,10 ± 8,33 <sup>a</sup>	6,60 ± 1,38	6,87 ± 1,37 <sup>c</sup>	2,62 ± 0,12 <sup>a</sup>	2,35 ± 0,11	2.04 ± 0.29 <sup>b,c</sup>	1.17 ± 0.48					

Proteínas totales: PT, albúmina: ALB, alanino aminotransferasa: ALT, aspartato aminotransferasa: AST, fosfatasa alcalina: ALP, creatinina: Cre, bilirrubina total: Bil-T, colesterol total: Chol, urea nitrogenada: BUN, calcio: Ca<sup>2+</sup>, fósforo: Phos, glucosa: GLU, coeficiente albúmina/globulina: A/G, M: muestreo, n= 10. Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas p< 0,05.

**Tabla 4.** Valores de media (X) y desviación estándar (DE) de los parámetros de bioquímica sanguínea. Machos

M	Grupo	Parámetros de bioquímica sanguínea/ X±DE													
		ALP U/L	AST U/L	ALT U/L	ALB g/L	Bil-T μmol/L	PT g/L	GLU mmol/L	BUN mmol/L	Ca mmol/L	Phos mmol/L	Chol mmol/L	TG mmol/L	Cre μmol/L	A/G
1	Control	90,1 ± 6,3	15,3 ± 2	45,5 ± 3	3,8 ± 0,5	6,97 ± 1,1	48,19 ± 2,4	7,46 ± 0	7,80 ± 1	2,38 ± 0	5,38 ± 0	1,81 ± 0	0,42 ± 0	40,9 ± 11	3,7 ± 9

		11 2, 4 <sup>a</sup>	± 1 7, 3	7, 7 <sup>a</sup>	± 1, 7 8 <sup>a</sup> ,c	10 a	6 <sup>a</sup>	88 a	41	29 a	60 a,b	44 a	07 a	,0 a	0, 4 3 <sup>a</sup>
	D o s i s b a j a	10 16 ,9 ± 17 2, 1 <sup>b</sup>	1 6 1, 1 ± 2 2, 3, 7	4 6, 8 ± 7, 4 <sup>a</sup>	3 9, 8 6 ± 1, 9 7 <sup>b</sup>	5, 92 ± 1, 27 b	54, 24 ± 3,3 1 <sup>b</sup>	6, 77 ± 0, 74 b	8, 32 ± 2, 16	2, 57 ± 0, 35 a,b	5, 46 ± 0, 69 a	1, 89 ± 0, 32 a	0, 20 ± 0, 10 b	50 ,8 ± 5, 9 <sup>b</sup>	2, 7 4 ± 0, 3 3 <sup>b</sup>
	D o s i s m e d i a	11 22 ,0 ± 18 2, 3 <sup>b</sup>	1 4 7, 1 ± 1 8, 2	6 9, 7 ± 1 0, 3 <sup>b</sup>	3 7, 5 ± 1, 6 3 <sup>a</sup>	6, 76 ± 1, 15 a	51, 95 ± 2,7 6 <sup>c</sup>	5, 91 ± 0, 60 c	7, 18 ± 1, 51	2, 66 ± 0, 20 b	5, 39 ± 0, 43 a,b	1, 92 ± 0, 24 a	0, 82 ± 0, 33 c	50 ,2 ± 10 ,2 b	2, 6 2 ± 0, 1 7 <sup>b</sup> ,c
	D o s i s a l t a	11 14 ,2 ± 22 2, 2 <sup>b</sup>	1 5 7, 4 ± 1 8, 8	6 5, 3 ± 1 2, 2 <sup>b</sup>	3 8, 9 ± 1, 9 0 <sup>b</sup> ,c	7, 00 ± 0, 57 a	54, 28 ± 3,5 4 <sup>b</sup>	6, 17 ± 0, 82 b	8, 08 ± 1, 26	2, 91 ± 0, 44 c	5, 07 ± 0, 36 b	2, 14 ± 0, 27 b	0, 80 ± 0, 41 c	50 ,5 ± 9, 5 <sup>b</sup>	2, 5 4 ± 0, 1 7 <sup>c</sup>
2	Co n t r o l	38 1, 4 ± 59 ,8	1 3 5, 6 ± 3 2, 8 <sup>a</sup>	5 9, 2 ± 1 4, 9	4 3, 2 6 ± 1, 6 2 <sup>a</sup> ,b	6, 56 ± 1, 01 a	11 2,7 0± 9,5 0	6, 09 ± 0, 94	8, 48 ± 1, 23 a	2, 99 ± 0, 16 a	3, 88 ± 0, 33 a	1, 73 ± 0, 33 a	0, 97 ± 0, 33	75 ,4 ± 3, 1 <sup>a</sup>	0, 6 3 ± 0, 0 5
	D o s i s b a j a	37 0, 7 ± 75 ,1	1 2 1, 2 ± 1 8, 0 <sup>a</sup> ,b	5 5, 9 ± 1 0, 0	4 1, 6 3 ± 2, 1 4 <sup>a</sup>	5, 11 ± 0, 57 b	11 2,0 9± 11, 56	6, 48 ± 1, 36	7, 39 ± 0, 63 b	2, 77 ± 0, 16 b,c	3, 65 ± 0, 30 a	1, 44 ± 0, 21 b	0, 98 ± 0, 57	75 ,0 ± 2, 7 <sup>a</sup>	0, 6 0 ± 0, 0 8
	D o s i s m e d i a	40 7, 4 ± 43 ,1	1 0 0, 2 ± 1 6,	5 7, 0 ± 3, 5	4 4, 3 8 ± 1, 6	6, 21 ± 0, 88 a,c	11 1,3 9± 8,7 0	6, 07 ± 0, 75	9, 95 ± 1, 00 c	2, 89 ± 0, 14 a,c	3, 30 ± 0, 23 b	1, 47 ± 0, 19 b	1, 07 ± 0, 17	70 ,8 ± 2, 7 <sup>b</sup>	0, 6 7 ± 0, 0 8

		8 <sup>b</sup>		0 <sup>b</sup>											
	Dosis alta	402,9 ± 103,3	116,9 ± 23,3	59,5 ± 9,3	42,1 ± 2,0	557 ± 81 <sub>b,c</sub>	109,0 ± 10,68	617 ± 0,58	838 ± 0,64 <sub>a</sub>	266 ± 0,15 <sub>b</sub>	331 ± 0,20 <sub>b</sub>	151 ± 0,21 <sub>b</sub>	109 ± 0,28	72,2 ± 2,4 <sup>b</sup>	0,64 ± 0,06
3	Control	287,4 ± 47,5	121,1 ± 8,0	59,7 ± 5,1	45,8 ± 1,4	495 ± 03	83,57 ± 5,22	575 ± 0,60	706 ± 0,36 <sub>a</sub>	270 ± 0,18 <sub>a,b</sub>	254 ± 0,16 <sub>a</sub>	187 ± 0,46	109 ± 0,37	64,2 ± 5,7	1,22 ± 0,10
	Dosis baja	305,3 ± 48,5	129,4 ± 18,2	67,4 ± 9,1 <sub>b</sub>	46,7 ± 2,1	576 ± 1,48	85,47 ± 5,70	608 ± 1,19	762 ± 0,63 <sub>b</sub>	281 ± 0,26 <sub>a</sub>	268 ± 0,26 <sub>a</sub>	186 ± 0,21	107 ± 0,47	63,4 ± 4,3	1,22 ± 0,13
	Dosis media	264 ± 35,4	115,7 ± 2,9	50,3 ± 6,3 <sup>c</sup>	45,8 ± 1,7	495 ± 1,28	82,22 ± 5,53	632 ± 1,28	598 ± 0,55 <sub>c</sub>	257 ± 0,14 <sub>b</sub>	232 ± 0,18 <sub>b</sub>	197 ± 0,36	131 ± 0,43	61,9 ± 3,1	1,27 ± 0,09
	Dosis alta	269,8 ± 68,4	109,1 ± 3,9	50,0 ± 7,9 <sup>c</sup>	46,0 ± 2,4	500 ± 62	81,79 ± 5,35	551 ± 0,80	631 ± 0,66 <sub>c</sub>	253 ± 0,24 <sub>b</sub>	254 ± 0,14 <sub>a</sub>	207 ± 0,27	095 ± 0,24	65,0 ± 3,6	1,29 ± 0,07

Proteínas totales: PT, albúmina: ALB, alanino aminotransferasa: ALT, aspartato aminotransferasa: AST, fosfatasa alcalina: ALP, creatinina: Cre, bilirrubina total: Bil-T, colesterol total: Chol, urea nitrogenada: BUN, calcio: Ca<sup>2+</sup>, fósforo: Phos, glucosa: GLU, coeficiente albúmina/globulina: A/G, M: muestreo. Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas p < 0,05.

El sodio alcanzó valores superiores en las hembras de los grupos Dosis media y alta en el muestreo 3 ([tabla 5](#)).

*Exámenes de patología*

El peso relativo de las adrenales fue significativamente mayor en las hembras del grupo Dosis alta y el peso del hígado fue menor en los machos de los grupos Dosis media y alta (tabla 6).

**Tabla 6.** Valores de media (X) y desviación estándar (DE) del peso relativo de órganos (%)

Sexo	Grupo	Órganos									
		Bazo	Adrenal	Riñón	Hígado	Ovarios	Testículo	Tímolo	Corazón	Pulmón	Encéfalo
Hembras	Control	0,18 ± 0,03	0,019 ± 0,006 <sup>a</sup>	0,31 ± 0,003	2,69 ± 0,20 <sup>a</sup>	0,040 ± 0,010	-	0,07 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,39 ± 0,04	0,71 ± 0,07
	Dosis * baja	0,17 ± 0,02	0,021 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,32 ± 0,002	3,06 ± 0,32 <sup>b</sup>	0,044 ± 0,009	-	0,08 ± 0,03	0,34 ± 0,10	0,40 ± 0,04	0,69 ± 0,05
	Dosis media	0,18 ± 0,02	0,020 ± 0,003 <sup>a</sup>	0,30 ± 0,002	2,82 ± 0,17 <sup>a</sup>	0,042 ± 0,011	-	0,07 ± 0,02	0,33 ± 0,04	0,41 ± 0,04	0,72 ± 0,06
	Dosis alta	0,19 ± 0,03	0,025 ± 0,005 <sup>b</sup>	0,31 ± 0,004	3,01 ± 0,26 <sup>b</sup>	0,037 ± 0,013	-	0,08 ± 0,02	0,35 ± 0,04	0,43 ± 0,04	0,74 ± 0,08
Machos	Control	0,15 ± 0,03	0,011 ± 0,004	0,29 ± 0,002	3,16 ± 0,56 <sup>a</sup>	-	0,36 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,29 ± 0,03	0,31 ± 0,03	0,46 ± 0,04
	Dosis baja	0,15 ± 0,02	0,012 ± 0,002	0,29 ± 0,002	3,16 ± 0,30 <sup>a</sup>	-	0,35 ± 0,03	0,07 ± 0,05	0,31 ± 0,05	0,31 ± 0,03	0,45 ± 0,03
	Dosis media	0,14 ± 0,02	0,011 ± 0,002	0,28 ± 0,003	2,61 ± 0,28 <sup>b</sup>	-	0,35 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,28 ± 0,03	0,29 ± 0,03	0,47 ± 0,03
	Dosis alta	0,15 ± 0,01	0,011 ± 0,003	0,29 ± 0,001	2,72 ± 0,29 <sup>b</sup>	-	0,37 ± 0,08	0,05 ± 0,01	0,28 ± 0,03	0,31 ± 0,04	0,47 ± 0,04

		02		3				01			
--	--	----	--	---	--	--	--	----	--	--	--

N= 20, \*N= 19. Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas  $p < 0,05$ .

No se observaron alteraciones anatomopatológicas en los órganos estudiados (Dosis alta) por lo que no fue necesario examinar los grupos tratados de Dosis baja y Dosis media.

En el animal muerto durante el estudio se describió una neumonía lobular mucopurulenta, con áreas con depósitos de fibrina y abundantes bacterias. En el momento de la muerte el animal presentaba un estado septicémico.

El estudio histopatológico detectó la presencia en hígado de focos inflamatorios de células redondas y del sistema retículo endotelial; en riñones, focos de linfocitos alrededor de los vasos de la zona córtico medular, nefrocalcinosis; estos hallazgos se presentaron tanto en animales controles como tratados con la Dosis alta.

## DISCUSIÓN

La ingestión de grandes cantidades de taninos puede resultar en efectos adversos para la salud; sin embargo, el consumo de pequeñas cantidades de algunos de ellos puede ser beneficioso para la salud humana.<sup>13</sup> En el presente estudio se ensayaron 3 niveles de dosis, bajas en comparación con los estudios agudos anteriormente realizados, donde se emplearon dosis límites de 2000 mg/kg en dosis única.<sup>14</sup>

La administración diaria de estas dosis durante 26 semanas no provocó la muerte de los animales, el único animal que murió antes de finalizar el estudio, presentaba un estado septicémico que pudo ser provocado por diversas causas, entre ellas perforación durante la administración, aunque esta no se evidenció durante la necropsia. El principal signo clínico observado, la depilación, transitó por diferentes etapas y pasó a ser ligera en algunos casos; en otros se mantuvo hasta el final del estudio y en algunos animales se acompañó de pequeñas costras, en su mayoría resultado de arañazos provocados por el propio animal durante el acicalamiento. Este signo clínico se presentó en animales de todos los grupos, y en ningún caso incidió de forma negativa en el estado general de estos, por lo que no está relacionado con la administración de la sustancia de ensayo. Muchos son los microorganismos que pueden causar inflamación del oído medio que concommitan con infecciones del tracto respiratorio y pueden haber afectado de manera accidental a estos animales.<sup>15</sup> Teniendo en cuenta que 2 de ellos son del grupo control, se descartó cualquier relación con la administración del polvo de taninos de *P. caribaea*.

Está establecido que para dietas ricas en taninos (por encima de 3 % de su composición) los animales pierden peso y presentan disminución del crecimiento.<sup>16</sup> En este estudio los animales recibieron una dosis máxima de 5 mg/kg de peso corporal y no se observó pérdida de peso o disminución del crecimiento (o ambos). Este comportamiento ascendente y uniforme de todos los grupos y sexos en la ganancia de peso, independientemente de las condiciones a que estuvieron sometidos los animales, que no tuvieron acceso al alimento la mayor parte del día (ayuno anterior a la administración), no refleja que existan o se puedan atribuir

efectos adversos sobre este indicador por la administración repetida del polvo de taninos.

El alimento fue retirado todos los días (excepto los sábados) en horas de la tarde, reanudándose el suministro 3 h después de la administración. Si bien esto puede haber resultado un factor de estrés al principio del estudio, después los animales se adaptaron perfectamente al régimen, presentaron valores de consumo algo superiores a los obtenidos en otros estudios realizados en condiciones similares (Toxicidad a dosis repetida del 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (vainillina) en ratas, 2003) y de los valores reportados por la literatura especializada para esta especie con alimento suministrado a voluntad.<sup>17,18</sup>

El consumo de agua del grupo Dosis alta fue significativamente mayor con respecto a los grupos restantes o a los grupos Dosis baja y Control, esto puede estar relacionado con las características astringentes del producto, que provocan un aumento de la sed y por ende del consumo de agua.

El hemograma en las hembras del grupo Dosis alta en el tercer muestreo presentó valores inferiores a los del grupo Control, esto responde al comportamiento de un animal que presentó valores por debajo de los límites normales (HB= 9,9, ERI= 6,13, HTC= 34,5) y afectó la media del grupo. Clínicamente, este animal presentó inflamación del pabellón auricular y los resultados de histopatología reportaron nefrocalcinosis.

En los machos las diferencias observadas no se cree que guarden relación con la administración del polvo de taninos dado que las medias obtenidas en los grupos tratados no son representativas de procesos tóxicos o patológicos y se corresponden con lo reportado para la especie.<sup>17,18</sup>

Al analizar el comportamiento de todas las variables hematológicas en los 4 grupos y en los 2 sexos se comprobó que las diferencias encontradas no evidencian una relación entre la administración de la sustancia de ensayo y las variaciones en los parámetros hematológicos.

La interpretación de los datos de bioquímica, así como de los resultados del análisis estadístico no refleja que exista afectación de los indicadores estudiados por la administración del polvo de taninos durante 6 meses por la vía oral. La no existencia de un comportamiento estable de las diferencias de un muestreo a otro, no evidencian una relación entre la administración de la sustancia de ensayo y las variaciones en los parámetros de bioquímica sanguínea.

El estudio de anatomía patológica no reportó hallazgos indicadores de afectación por la ingestión del polvo de taninos; el examen histopatológico de las adrenales y el hígado no reflejaron cambios que pudieran relacionarse con las diferencias encontradas en el peso relativo de ambos órganos.

Teniendo en cuenta los resultados discutidos, se concluye que la administración oral en dosis repetida durante 6 meses del polvo de taninos obtenido de la corteza de *P. caribaea* no produjo toxicidad en el modelo experimental.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS



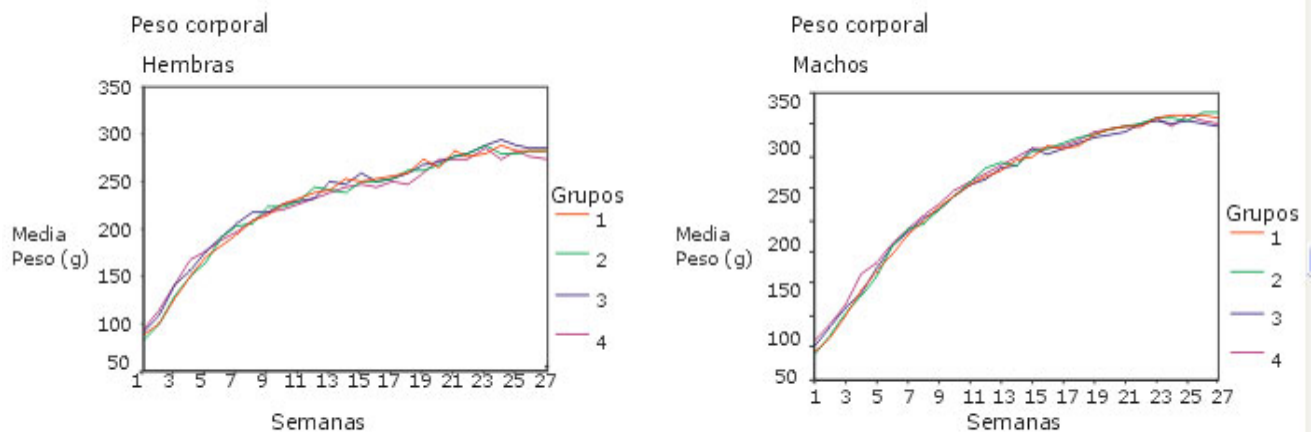
1. Santana JL. Determinación de propiedades de taninos condensados extraídos de la corteza de residual de especies forestales [Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Químicas]. La Habana: InsTEC; 2003.
2. Feeny P. Biochemical coevolution between plants and their insect herbivores. En: Gilbert L, Raven P, editors. Coevolution of plants and animals. Texas: Texas University Press; 1975. p. 3-24.
3. Rhoades DF. Evolution of plant chemical defense against herbivores. En: Rosenthal G, Cansen DH, editors. Herbivores: Their interaction with secondary plant metabolites. New York: Ed. Academy Press; 1979. p. 4-55.
4. Harborne J. Plant defenses against mammalian herbivory. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1991. p. 45-65.
5. Haslam E, Lilley TE. Interactions of natural phenols with macromolecules. In: Liss AR, editor. Plant flavonoids in Biology and Medicine: biochemical, pharmacological and structure-activity relationships. New York: 1986. p. 53-65.
6. Okuda T, Yoshida T, Hatano T. Oligomeric hydrolysable tannins, a new class of plant polyphenols. Heterocycles. 1990;30:202.
7. Martínez Luzardo F. Obtención, caracterización general y uso industrial de taninos vegetales contenidos en la corteza de 5 especies forestales que crecen en Cuba [Tesis en opción al grado de Doctor en Ciencias Técnicas]. La Habana: CNIC; 1989.
8. Saduka Y, Sugiyama T, Hirota S. Modulation of cancer chemotherapy by Green tea. Clin Cancer Res. 1998;4:153-6.
9. Whitehead T, Robinson D, Allaway S, Syms J, Hale A. Effect of red wine ingestion on antioxidant capacity of serum. Clin Chem. 1995;41(1):332-5.
10. OECD. Organization for Economic Cooperation and Development. Guidelines for the Testing of Chemicals. Section 4, "Health effects". 452 "Chronic Toxicity Studies"; 2001.
11. FDA. Food and Drug Administration. Federal Register. Vol. 64. International Conference on Harmonisation. Guidance on the duration of Chronic Toxicity Testing in Animals (Rodent and Nonrodent Toxicity Testing). Availability; 1999.
12. MINSAP. Principios de las Buenas Prácticas de Laboratorio no Clínico de Seguridad Sanitaria y Medioambiental. República de Cuba. Buró Regulatorio para la Protección de la Salud Pública, Regulación 39/2004.
13. Fuentes-Vernhe JL, Cuetara EB, Sanchez-Lamar A, Santana JL, Llagostera M. Tannins from barks of *Pinus caribaea* protect *Escherichia coli* cells against DNA damage induced by  $\alpha$ -rays. Fitoterapia. 2006;77(2):116-20.
14. Vega Montalvo R, Lagarto Parra A, García López A, Piloto Ferrer J, Santana Romero JL, Gabilondo Ramírez T. Toxicidad de un extracto tánico de *Pinus caribaea* Morelet. Rev Cubana Plant Med. 2005;10(2).

15. Weisbroth SH. Bacterial and Mycotic diseases. In: Baker HJ, Lindsey JR, Weisbroth SH, editors. The laboratory rat. Vol. I. New York: Academy Press; 1979. p. 193-241.
16. Ho CT, Lee C, Huang M. Phenolic compounds in food and their effects on health. Analysis, occurrence and chemistry. Series 506. New York: ACS Symposium; 1991. p. 300-3.
17. Olfert ED, Cross BM, McWilliam A. Consejo Canadiense de Protección de los Animales. Manual sobre el Cuidado y uso de los animales de experimentación. 2da. ed. Vol. 1 ; 1998. p. 280-6.
18. Pass D, Freeth G. The rat. ANZCCART News. 1993;6(4):1-4.

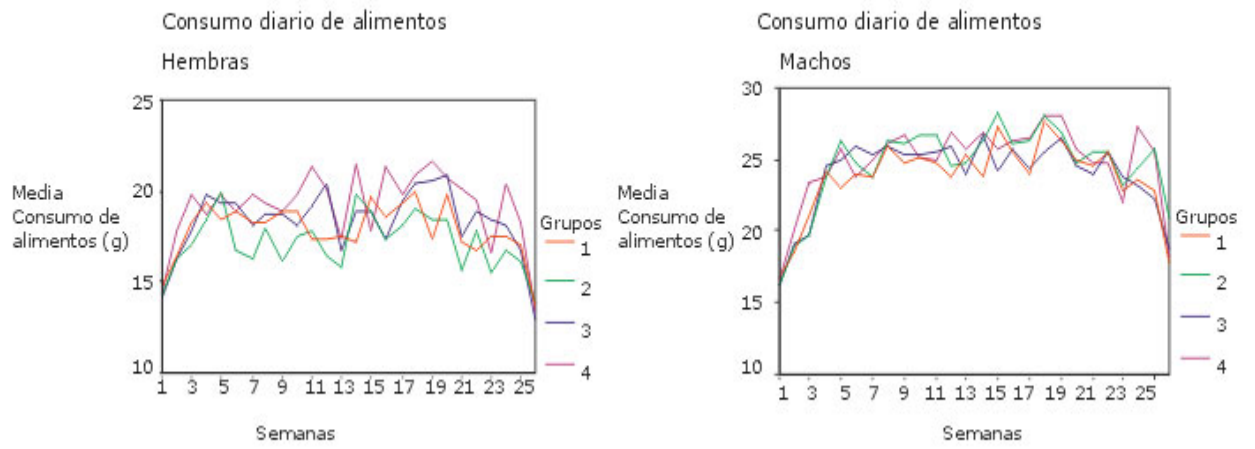
Recibido: 26 de diciembre de 2008.

Aprobado: 12 de enero de 2009.

M. C. *Ana Margarita Bada Barro*. Centro de Toxicología Experimental (CETEX), Centro Nacional para la Producción de Animales de Laboratorio (CENPALAB). Finca Tirabeque, Km 2½, Carretera El Cacahual. Bejucal, La Habana, Cuba. Teléf.: (53-7) 6837225, 6832179, 6832325 Ext. 233, 235 Fax 6839058. Correo electrónico: [ambada@cenpalab.inf.cu](mailto:ambada@cenpalab.inf.cu)



**Fig. 1.** Comportamiento del peso corporal.



**Fig. 2.** Comportamiento del consumo de alimento.

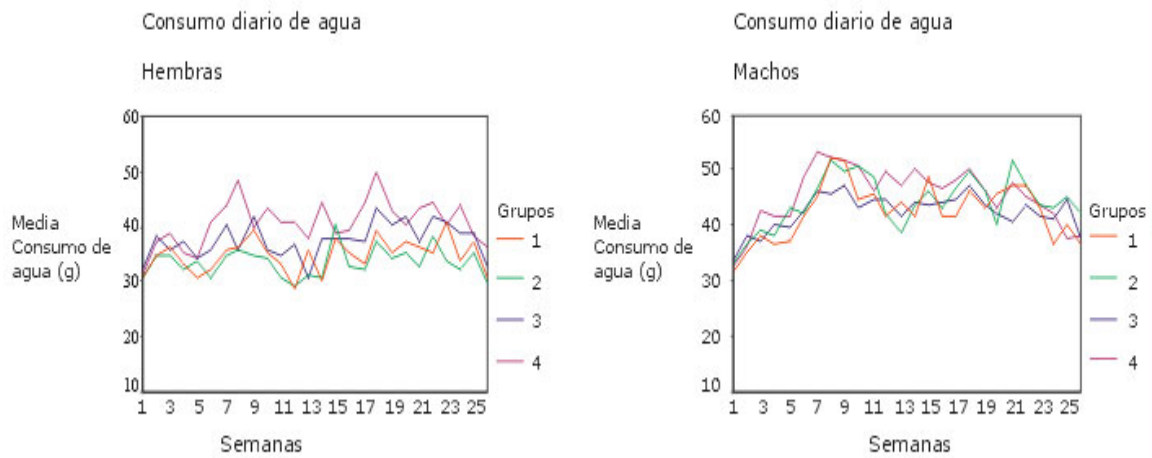


Fig. 3. Comportamiento del consumo de agua.

Tabla 5. Valores de media (X) y desviación estándar (DE) de los minerales

Muestreo	Grupo	Minerales/ X±DE			
		Hembras		Machos	
		K <sup>+</sup> mmol/L	Na <sup>+</sup> mmol/L	K <sup>+</sup> mmol/L	Na <sup>+</sup> mmol/L
1	Control	5,96 ± 0,42	139,23 ± 1,74	6,30 ± 0,36	139,11 ± 1,66
	Dosis baja	5,82 ± 0,52	139,46 ± 1,62	6,36 ± 0,40	139,17 ± 1,73
	Dosis media	6,14 ± 0,28	139,42 ± 1,69	6,27 ± 0,40	139,22 ± 1,33
	Dosis alta	5,94 ± 0,31	139,30 ± 1,45	6,45 ± 0,32	139,10 ± 2,03
2	Control	4,24 ± 0,10	140,29 ± 1,34	4,55 ± 0,19	141,36 ± 1,57
	Dosis baja	4,16 ± 0,22	141,43 ± 0,97	4,75 ± 0,18	141,12 ± 1,42
	Dosis media	4,24 ± 0,12	141,33 ± 1,09	4,62 ± 0,15	141,49 ± 1,24
	Dosis alta	4,29 ± 0,12	141,05 ± 0,52	4,63 ± 0,08	141,56 ± 0,87
3	Control	4,29 ± 0,18	141,43 ± 1,26 <sup>a</sup>	4,50 ± 0,23	142,29 ± 1,85
	Dosis baja	4,30 ± 0,16	141,45 ± 1,01 <sup>a</sup>	4,64 ± 0,17	142,06 ± 1,29
	Dosis media	4,38 ± 0,11	142,54 ± 0,97 <sup>b</sup>	4,67 ± 0,11	142,46 ± 1,07
	Dosis alta	4,30 ± 0,13	142,47 ± 0,94 <sup>b</sup>	4,63 ± 0,16	143,29 ± 0,34

Letras iguales: no hay diferencias. Letras diferentes: diferencias significativas p< 0,05.