

Actividad hipolipemiente de la flor de ayote (*Cucurbita moschata*)

Lipid-lowering activity of squash flower (*Cucurbita moschata*)

Córdova, Diana; Soto, Claudia; Valle, Floridalva; Mejía, José Guillermo

Diana Córdova

Universidad de El Salvador, El Salvador

Claudia Soto

Universidad de El Salvador, El Salvador

Floridalva Valle

Universidad de El Salvador, El Salvador

José Guillermo Mejía

guillermo.valencia@ues.edu.sv

Universidad de El Salvador, El Salvador

Alerta

Ministerio de Salud, El Salvador

ISSN-e: 2617-5274

Periodicidad: Semestral

vol. 2, núm. 1, 2019

ralerta@salud.gob.sv

Recepción: 19 Febrero 2019

Aprobación: 26 Febrero 2019

Publicación: 13 Abril 2019

URL: <http://portal.amelica.org/ameli/journal/419/4191907002/>

DOI: <https://doi.org/10.5377/alerta.v2i1.7516>

Citación recomendada: Córdova D, Soto C, Valle F, Mejía J. Actividad Hipolipemiente de la flor de ayote (*Cucurbita moschata*). Alerta. 2019;2(1):7-14. DOI: 10.5377/alerta.v2i1.7516

Resumen: Introducción. Las flores de *Cucurbita moschata* (*C. Moschata*) son utilizadas generalmente para el consumo en ciertos lugares de Latinoamérica. En su totalidad cuenta con amplios usos terapéuticos, por ello se han realizado algunos esfuerzos para validar estos resultados en condiciones controladas. **Objetivo.** Evaluar la toxicidad y la actividad hipolipemiente de la decocción de la flor de *C. moschata* en ratones experimentales. **Metodología.** La sustancia de estudio se administró diariamente por vía oral durante cuatro semanas en tres concentraciones (1 g/10 mL, 3 g/10 mL y 6 g /10 ML); además, se utilizó un grupo control. Dos semanas antes se indujeron a una dieta alta en grasa y carbohidratos que se mantuvo durante toda la investigación. Previamente se evaluó la toxicidad oral de 28 días de la concentración más alta. **Resultados.** La concentración evaluada no presentó toxicidad en los animales tratados. En la actividad hipolipemiente se mostró una disminución en los niveles de glucosa para todos los tratamientos, mientras que en triglicéridos y colesterol solamente disminuyeron los niveles las concentraciones baja y media. **Conclusiones.** La decocción evaluada tiene potencial para el tratamiento de las dislipidemias sin producir efectos adversos en ratones de laboratorio.

Palabras clave: dislipidemia, decocción, *Cucurbita moschata*, toxicidad, hipolipemiente.

Abstract: Introduction. *Cucurbita moschata* flowers are consumed in certain places of Latin America. It has extensive therapeutic uses; therefore, efforts have been made to validate these characteristics under controlled conditions. **Objective.** To evaluate the toxicity and lipid-lowering activity of *C. moschata* flower decoction in experimental mice. **Methodology.** The study substance was administered orally, daily, for four weeks in three concentrations: 1 g/10 mL, 3 g/10 mL and 6 g/10 mL; in addition, a control group was established. Two weeks before, both groups were induced to a high-fat and carbohydrate diet, which was maintained throughout the investigation. Toxicity with the highest oral concentration, for 28 days, was evaluated previously. **Results.** The evaluated concentration did not induce toxicity in treated animals. The lipid-lowering activity showed a decrease in glucose levels with all treatments, while triglycerides and cholesterol showed only a decrease in low and medium levels. **Conclusions.** The evaluated decoction has potential for the

treatment of dyslipidemias, without producing adverse effects in laboratory mice.

Keywords: dyslipidemia, decoction, *Cucurbita moschata*, toxicity, lipid-lowering.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas no transmisibles, dentro de las cuales se encuentra la dislipidemia, constituyen un obstáculo considerable para el crecimiento económico y desarrollo social de los países de la región de América Latina y el Caribe. Según estadísticas de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 61 % de todas las muertes y el 49 % de la carga mundial de morbilidad son atribuibles a enfermedades crónicas. Se calcula que para el año 2030 la proporción del total mundial de defunciones debidas a estas enfermedades llegará al 70 % y la carga mundial de morbilidad al 56 %¹. En El Salvador, las estadísticas referentes a la dislipidemia la señalan como la tercera entre las enfermedades crónicas no transmisibles más prevalentes².

La adopción de estilos de vida poco saludables, la poca actividad física o sedentarismo, una nutrición inadecuada (principalmente aquella generada por la ingesta excesiva de alimentos con alto contenido de grasas y azúcares), el abuso del alcohol y el tabaquismo son las conductas que predisponen a los individuos a desarrollar diversas enfermedades crónicas degenerativas como diabetes, enfermedades cardíacas, hipertensión arterial, sobrepeso u obesidad, además de elevación en los niveles de colesterol y triglicéridos en sangre¹. Actualmente, el manejo médico de las dislipidemias se realiza mediante el uso de los medicamentos derivados de las estatinas³. Sin embargo, varias investigaciones sugieren que muchos recursos naturales, entre estas las plantas (hojas, tallo, corteza, semillas y flores), contienen múltiples componentes bioactivos que pueden influir de manera favorable en el control de dicha enfermedad. La familia de las cucurbitáceas posee compuestos que pueden afectar el metabolismo de los lípidos, tales como saponinas⁴, flavonoides y taninos^{5,6}.

El objetivo de esta investigación es evaluar la toxicidad y la actividad hipolipemiante de la decocción de la flor de ayote (*Cucurbita moschata*) en ratones experimentales, con el fin de comprobar su eficacia como tratamiento de la dislipidemia.

METODOLOGÍA

Recolección del material vegetal. Previo a la toma de la muestra para este estudio, se sometió a evaluación la planta a estudiar por parte de un botánico. Posteriormente se tomó la muestra en el municipio de Sonzacate, departamento de Sonsonate, El Salvador.

Preparación de la sustancia de estudio. Se utilizaron tres cantidades de la flor macho de ayote (*C. moschata*), 1 g, 3 g y 6 g. Posteriormente se agregaron 10 mL de agua para preparar las concentraciones. Luego se llevó hasta el punto de ebullición, se filtró la decocción para retirar restos y se dejó reposar hasta alcanzar la temperatura ambiente.

Preparación de la dieta hipercalórica. Se utilizó concentrado de marca K NINO (dieta normal), compuesto por 24 % de proteína, grasa 5,8 %, fibra 3,7 %, ceniza 6,1 % y la humedad con un 13,5 % en cada 100 g de producto. La dieta se modificó para inducir dislipidemia, por lo que se añadió a cada 100 g un 25 % de grasa animal (cerdo); también se brindó agua potable y agua azucarada a un 10 % a libre demanda. La alimentación se registró cada 48 horas⁷.

Animales de laboratorio. Se utilizaron ratones hembra albinos suizos, todos procedentes del Laboratorio de Experimentación Animal del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud de la Universidad de El

Salvador, con edades de 5 a 6 semanas de nacidos y un peso corporal inicial aproximado de 22 g a 27 g. Se mantuvieron en condiciones de temperatura y humedad relativa controlada de 22 ± 2 °C y entre 50 % y 60 % respectivamente, en un ciclo luz y oscuridad de 12/12 horas. Los estudios se realizaron conforme a lo establecido en las guías del Consejo Canadiense de Protección de los Animales (CCAC, por sus siglas en inglés), para el cuidado y uso de los animales de experimentación⁸.

Identificación y administración de las sustancias. Se procedió a diferenciar a cada uno por medio del marcaje con ácido pícrico para su identificación. Las sustancias se administraron diariamente por vía oral mediante una cánula intragástrica; el volumen administrado a cada uno fue en una proporción de un 1 ml/100 g de peso corporal.

Diseño del experimento. Se utilizaron 34 ratones hembras seleccionados al azar, de los cuales 10 fueron para la prueba de toxicidad y 24 para la actividad hipolipemiente. En la prueba de toxicidad se trabajó con dos grupos de cinco animales cada uno; un grupo control al cual se le administró agua destilada y el grupo de tratamiento al cual se le proporcionó la concentración más alta (6 g/10 mL) a evaluar durante un periodo de 28 días. Se realizaron observaciones clínicas diarias y toma de peso corporal semanalmente. Al finalizar se practicó la eutanasia, para inmediatamente realizar la evaluación de los órganos internos a nivel macroscópico (aparición y peso)⁹.

Para la actividad hipolipemiente se trabajó con cuatro grupos de seis ratones cada uno, todos con una dieta hipercalórica y agua a voluntad durante 6 semanas; a partir de la tercera semana se administraron diariamente por vía oral las sustancias de prueba. Se establecieron los cuatro grupos: el grupo 1 fue el de control (agua destilada); al grupo 2 se le administró una concentración baja (1 g/10 mL); al grupo 3 una concentración media (3 g/10 mL); y al grupo 4 una concentración alta (6 g/10 mL) de la decocción de la flor de *C. moschata*^{7,8,9,10,11}.

Al finalizar este periodo se realizó la extracción sanguínea por la vía del seno retro-orbital, dejando previamente a los animales en ayuno para determinar los niveles de glucosa, triglicéridos y colesterol total en sangre, utilizando paquetes de reactivos de laboratorio en un equipo analizador de química sanguínea automatizado marca Siemens. Finalmente, se procedió a sacrificar a todos los animales por el método eutanásico de dislocación cervical para evaluar el hígado (órgano blanco del estudio) tanto a nivel macroscópico y microscópico.

Análisis de datos. Todos los resultados obtenidos en esta investigación se sometieron a pruebas de normalidad por medio del programa *Statgraphics Centurion XVI*. A los resultados de la toxicidad de 28 días se les aplicó un análisis de muestras independientes y los resultados de la actividad hipolipemiente se compararon mediante un análisis de varianza (ANDEVA); seguido de una prueba de Tukey utilizando el programa SPSS 21. Estos se expresan como la media aritmética de los valores \pm desviación estándar (D.E.). Se consideró significativa (*) la diferencia entre los grupos tratamientos y el grupo control cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Toxicidad oral de 28 días a dosis repetidas

No se encontraron alteraciones en los parámetros toxicológicos (piel, ojos, membranas mucosas) ni tampoco variaciones a nivel de sistemas (respiratorio, circulatorio, nervioso central y autónomo) ni en la actividad somatomotora y patrones de comportamiento en los grupos de ensayo (control y tratamiento) durante el periodo experimental.

En la Tabla 1 se presenta el peso corporal semanal de los grupos experimentales, desde el inicio hasta el final de los 28 días, tomando en cuenta las medias del aumento porcentual de cada uno de los grupos.

En la necropsia no se reportaron alteraciones macroscópicas en la superficie, color o consistencia de los órganos del grupo tratamiento con respecto al grupo control. El peso del riñón derecho del grupo de tratamiento fue menor a 0,05 con respecto al control (Tabla 2).

Actividad hipolipemiante

En la Tabla 3 se presenta el peso corporal inicial y final de los cuatro grupos (control y tratamientos) y su respectivo aumento porcentual. Los tres grupos tratados tuvieron menor ganancia porcentual de peso respecto al grupo control. También es de mencionar que los grupos de tratamiento presentaron un mayor consumo de alimento.

Finalmente, se realizaron cortes histológicos del hígado y se pesó, observándose que no existen diferencias estadísticas entre los pesos de hígado de grupos tratamiento y el grupo control. Luego de haber tenido una dieta hipercalórica, el análisis histopatológico de este órgano no muestra cambios relevantes que destacar (Figura 1).

Con respecto al análisis de la química sanguínea (glucosa, triglicéridos y colesterol total), en glucosa todos los grupos tratados muestran un $p < 0,05$ en comparación al grupo control, por lo que al parecer tendría un efecto hipoglucémico, tal como se muestra en la Figura 2 (A). Mientras que en el perfil lipídico de la Figura 2 (B y C) que corresponden a triglicéridos y colesterol solamente las concentraciones de un g/10 mL y tres g/10 mL mostraron un $p < 0,05$.

DISCUSIÓN

En lo que refiere a la toxicidad evaluada, se puede mencionar que los animales no presentaron signos que indiquen efectos tóxicos, ya que no modificaron su conducta y tampoco existieron defunciones en el transcurso del experimento, parámetros que actúan como biomarcadores toxicológicos^{12,13}. Al apreciar detalladamente los resultados de peso corporal, se puede afirmar que no existieron diferencias significativas entre los dos grupos.

En investigaciones previas de toxicidad se caracteriza que en los primeros días los animales disminuyen la ingesta debido al estrés; y se mantiene con las reservas energéticas almacenadas, posteriormente se aumenta el consumo de comida para reponer el peso perdido y para la regeneración de tejido¹⁴, lo cual justifica la disminución del peso corporal en las primeras semanas para ambos grupos.

En cuanto al peso de los órganos, los cambios en el tamaño, la forma, la superficie, el color, la consistencia, determinan la presencia de daños toxicológicos¹⁵. Igualmente se expone que la hinchazón celular es la primera manifestación de casi todas las formas de lesión en las células, considerando el órgano en su totalidad. Cuando afecta a muchas células, causa una cierta palidez, también presenta un aumento de la turgencia y en el peso corporal¹⁶, por lo que no se observan daños físicos de ninguna índole en los órganos, ni diferencias significativas en sus pesos, a excepción del riñón derecho, lo que significa que la sustancia de ensayo no representa riesgos considerados como tóxicos en los animales estudiados.

Pese a que todos los grupos experimentales consumieron lo mismo, no se encontraron diferencias en el almacenamiento de grasa en el hígado. Sin embargo, la grasa almacenada en dicho órgano no tiene como indicador el peso total sino el porcentaje proveniente de esta, considerando únicamente patológico cuando el peso de la grasa supera el 5 % del peso total¹⁷. En la Figura 1, ninguno de los grupos muestra la presencia de hígado graso, que no es más que una entidad patológica caracterizada por acumulación de glóbulos de grasa dentro de los hepatocitos¹⁸, por lo que al parecer se necesitaba más tiempo o una dieta más alta en grasa y azúcar para producir este tipo de daño en el órgano evaluado. En glucosa, el efecto puede estar relacionado a la

capacidad antioxidante de algún compuesto químico, como podrían ser los flavonoides. Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, entre otras enfermedades¹⁹.

En el caso de triglicéridos y colesterol, en ocasiones depende de la concentración de la sustancia en el área de absorción y si esta se encuentra en equilibrio con la concentración del plasma, ya que de esta forma facilita el paso de las sustancias a través de la membrana mediante la difusión pasiva, que puede ser realizada a mayor velocidad que el transporte activo. En cuanto a la velocidad de absorción, esto depende del número de moléculas que existan en la sustancia. La constante de absorción normalmente disminuye cuando la concentración de moléculas es muy alta²⁰, dificultando de esta forma la absorción de lo administrado, la biodisponibilidad se verá alterada y, por lo tanto, no estará disponible para acceder en su totalidad a los tejidos y producir en algunas ocasiones el efecto previsto.

El efecto producido en los triglicéridos y colesterol total por las concentraciones baja y media puede ser atribuido a las posibles propiedades fitoquímicas presentes en la familia de las cucurbitáceas^{21,22,23}. Entre ellos se encuentran los flavonoides⁶, metabolitos que normalmente se encuentran en esta familia de plantas y contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. Por este motivo, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño oxidativo y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías. Entre estas se implican el inicio de la cadena de peroxidación lipídica y a su vez proteger a las lipoproteínas de baja densidad de la oxidación¹⁹.

Las saponinas, por su parte, pertenecen a un grupo diverso de compuestos que se encuentran en una amplia variedad de plantas, entre estas las flores de *C. moschata*^{6,24}. Los estudios sugieren que estas forman complejos insolubles con el colesterol y que la porción hidrofóbica se asocia al núcleo hidrofóbico de los esteroides en una agregación micelar, propiciando que se enlacen al colesterol en la bilis, evitando su absorción en el intestino para reducir de esta manera el colesterol total y los triglicéridos en el torrente sanguíneo^{21,23}.

Por último, se encuentran los taninos, también reportados para esta especie⁶, que al igual que las saponinas conllevan a una inhibición de la absorción intestinal de colesterol y un incremento de la excreción de ácidos biliares²². Debido a la importancia alimenticia que poseen las cucurbitáceas²⁵ y los compuestos químicos asociados a la disminución del colesterol y triglicéridos en la sangre, estos deben considerarse de beneficio para la salud.

CONCLUSIONES

En la toxicidad de 28 días realizada de la decocción de la flor de ayote (*C. moschata*), la concentración de 6g/10 mL presentó un margen de seguridad aceptable en los ratones experimentales utilizados. Además, en los niveles de glucosa todas las concentraciones presentaron resultados positivos, dando a entender que posee un efecto hipoglucemiante. Mientras que en el perfil lipídico de este estudio se demostró que las concentraciones bajas (1 g/10 mL) y media (3 g/10 mL) presentaron una eficacia considerable en la disminución de los niveles de triglicéridos y colesterol total.

AGRADECIMIENTOS

Al Laboratorio Clínico y Banco de Sangre del Hospital Nacional General y de Psiquiatría “Dr. José Molina Martínez”, por permitir realizar las pruebas de química sanguínea para la actividad hipolipemiante. También se le agradece a Michelle Cornejo, Noel Ávalos y Miguel Moreno, por el apoyo brindado para la realización de la histopatología y la extracción de las muestras sanguíneas.

CONFLICTO DE INTERÉSES

Los autores expresan no tener conflicto de intereses.

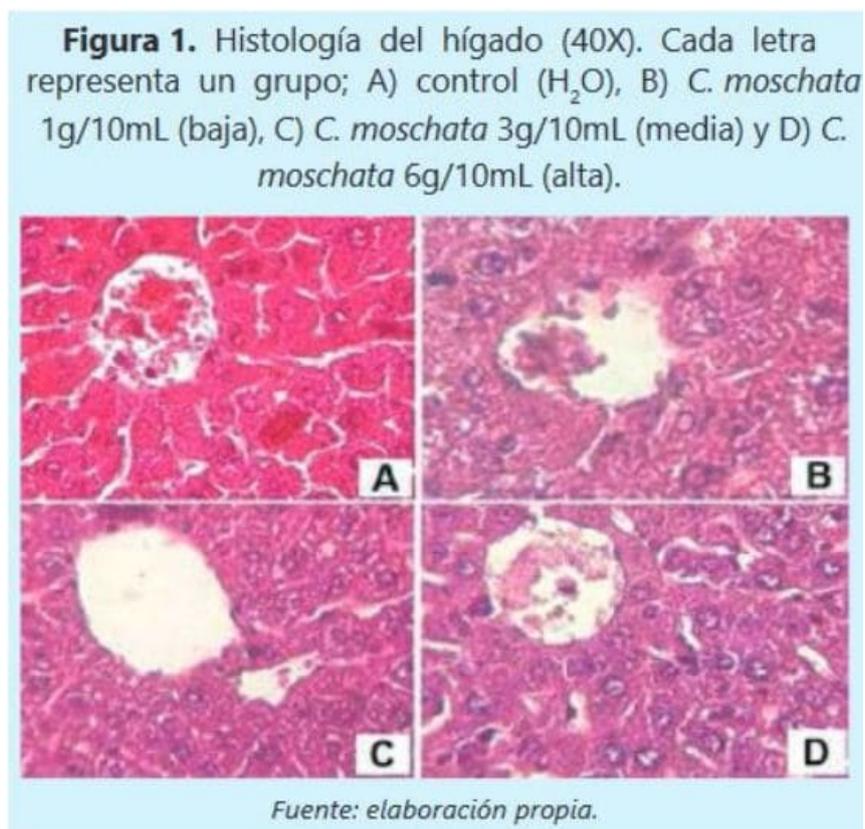


FIGURA 1

Histología del hígado (40X). Cada letra representa un grupo; A) control (H₂O), B) *C. moschata* 1g/10mL (baja), C) *C. moschata* 3g/10mL (media) y D) *C. moschata* 6g/10mL (alta).
elaboración propia

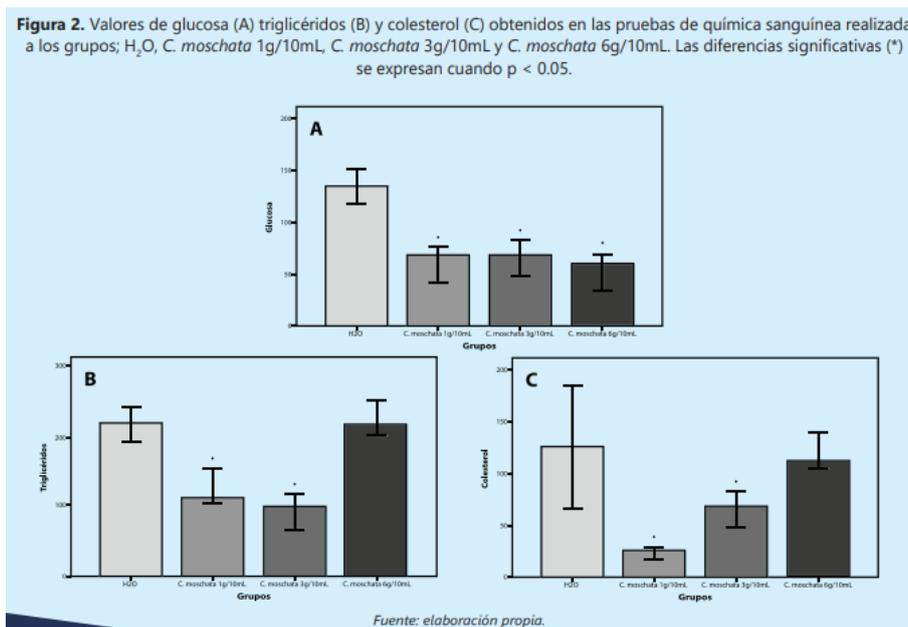


FIGURA 2

Valores de glucosa (A) triglicéridos (B) y colesterol (C) obtenidos en las pruebas de química sanguínea realizada a los grupos; H₂O, *C. moschata* 1g/10mL, *C. moschata* 3g/10mL y *C. moschata* 6g/10mL. Las diferencias significativas (*) se expresan cuando p < 0,05. elaboración propia

TABLA 1

Grupo	Peso Inicial	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Peso Final	Aumento %
Control	25.020 ± 0.920	21.780 ± 2.498	23.500 ± 4.582	24.400 ± 2.665	25.580 ± 1.052	2.260 ± 3.130
Tratamiento	25.150 ± 0.580	23.500 ± 1.557	25.125 ± 1.144	25.275 ± 1.223	25.475 ± 0.888	1.320 ± 3.826

Peso corporal de los ratones experimentales durante la prueba de toxicidad oral de 28 días a dosis repetidas de la decocción de la flor de ayote (*C. moschata*) a una concentración de 6 g/10 mL. elaboración propia

Los valores se expresan como la media ± desviación estándar y aumento porcentual (aumento %). Las diferencias significativas (*) se expresan cuando p < 0,05 entre grupo control y tratamiento.

TABLA 2

	Control (H ₂ O)	<i>C. moschata</i> 1g/10mL	<i>C. moschata</i> 3g/10mL	<i>C. moschata</i> 6g/10mL
Peso corporal inicial (g)	24.728 ± 0.899	26.071 ± 1.188	26.100 ± 2.313	26.257 ± 1.236
Peso corporal final (g)	29.075 ± 1.532	27.428 ± 1.594	26.95 ± 2.511	28.042 ± 1.386
Aumento porcentual (%)	15.054 ± 1.421	6.817 ± 2.768*	9.334 ± 5.300*	6.071 ± 2.127*
Consumo de alimento total (g)	87.166 ± 20.236	106.516 ± 23.078	119.916 ± 36.470	121.916 ± 19.144
Peso del hígado (g)	1.286 ± 0.205	1.361 ± 0.138	1.301 ± 0.270	1.320 ± 0.079

Peso de órganos de los ratones experimentales durante la prueba de toxicidad oral de 28 días a dosis repetidas de la decocción de la flor de ayote (*C. moschata*) a una concentración de 6 g/10 mL. elaboración propia

Los valores se expresan como la media ± desviación estándar (D.E.). Las diferencias significativas (*) se expresan cuando p < 0,05 entre grupo control y tratamiento.

TABLA 3

Órgano	Grupo	Media \pm D.E.		
Hígado	Control	1.316	\pm	0.108
	Tratamiento	1.510	\pm	0.205
Corazón	Control	0.118	\pm	0.008
	Tratamiento	0.120	\pm	0.014
Pulmones	Control	0.170	\pm	0.035
	Tratamiento	0.168	\pm	0.051
Riñón derecho	Control	0.184	\pm	0.004
	Tratamiento	0.220	\pm	0.018*
Riñón izquierdo	Control	0.184	\pm	0.010
	Tratamiento	0.210	\pm	0.036
Estómago	Control	0.380	\pm	0.120
	Tratamiento	0.398	\pm	0.043
Bazo	Control	0.148	\pm	0.056
	Tratamiento	0.213	\pm	0.086
Intestino delgado	Control	1.868	\pm	0.047
	Tratamiento	2.003	\pm	0.055
Intestino grueso	Control	1.022	\pm	0.042
	Tratamiento	0.890	\pm	0.052

Peso corporal inicial, final y aumento porcentual de los ratones experimentales durante la prueba del efecto hipolipemiente, el consumo de alimentos y peso del hígado.
elaboración propia

Los valores se expresan como la media \pm desviación estándar. Las diferencias significativas (*) se expresan cuando $p < 0,05$ entre los grupos control (grupo 1), baja (grupo 2), media (grupo 3) y alta (grupo 4).

REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). Enfermedades no transmisibles. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/noncommunicable-diseases>
2. Ministerio de Salud/Instituto Nacional de Salud. Encuesta nacional de enfermedades crónicas no transmisibles en población adulta de El Salvador (ENECAELS 2015). Resultados relevantes. San Salvador, El Salvador: Ministerio de Salud e Instituto Nacional de Salud. Disponible en: http://www.salud.gob.sv/archivos/comunicaciones/archivos_comunicados2017/pdf/presentaciones_evento20032017/01-ENECA-ELS-2015.pdf
3. Vindas CA. Fármacos hipolipemiantes. Revista Médica de Costa Rica y Centroamérica LXX (607) 529-537, 2013. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc133z.pdf>
4. Fontan-Candela, JL. Las saponinas y la botánica. Madrid. Instituto Español de Fisiología y Bioquímica. C. U. 1957. Disponible en: [http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/anales/1958/Anales_15\(1\)_501_521.pdf](http://www.rjb.csic.es/jardinbotanico/ficheros/documentos/pdf/anales/1958/Anales_15(1)_501_521.pdf)
5. Rajasree, RS, Sibi PI, Francis F, William H. Phytochemicals of Cucurbitaceae Family – A review. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research 2016; 8 (1); 113-123. Disponible en: <https://impactfactor.org/PDF/IJPPR/8/IJPPR,Vol8,Issue1,Article19.pdf>
6. Contreras NE, Santos OA. Determinación del Análisis Bromatológico Proximal y Fitoquímico Preliminar de Los Extractos Acuosa Y Etanólica De Inflorescencia de Calathea Allouia (Aubl.) Lindl. (Chufle), frutos de Bromelia Karatas (Piñuela) y Flor de Cucurbita Pepo L. (Flor de Ayote). San Salvador: Universidad de El Salvador. 2012. Disponible en: http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/1929/1/FLOR_de_Cucurbita_pepo_L._%28FLOR_DE_AYOTE%29.pdf
7. Betancourt E, González Y, Escobar R, Bermúdez D, EscobarR, Alonso B, et.al. Evaluación del potencial hipolipemiente de dos plantas medicinales en un modelo de hiperlipidemia crónica. Revista Cubana de Plantas Medicinales 2014; 19 (1): 133-143. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v19n3/pla02314.pdf>
8. Canadian Council on Animal Care (CCAC): Guide for the care and use of laboratory animals; 1993. Disponible en: https://www.ccac.ca/Documents/Standards/Guidelines/Experimental_Animals_Vol1.pdf

9. OECD. Guideline for the testing of chemicals N° 407 Repeated dose 28-day oral toxicity study in rodents. 2008. Disponible en: https://read.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-407-repeated-dose-28-day-oral-toxicity-study-in-rodents_9789264070684-en#page1
10. Suanarunsawat T, Ayutthaya WDN, Songsa T, Rattanamahaphoom J. Anti-lipidemic actions of essential oil extracted from *Ocimum sanctum* L. leaves in rats fed with high cholesterol diet. *Journal of Applied Biomedicine (De Gruyter Open)* 7: 45–53, 2009. Disponible en: <http://ezproxy.udem.mx/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=aph&AN=40521901&lang=es&site=eds-live>
11. Ebojele FO, Oraih IS. The effect of ethanolic seed extract of *Cucurbita maxima* on lipid profile in Wistar rats feed on normal and high fat diet. *AJOL*. 2016; Vol. 15: 68-75 págs. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/abs/article/view/143879>
12. Golan DE, Tashjian AH, Armstrong EJ, Armstrong AW Principios de Farmacología: Bases fisiopatológicas del tratamiento farmacológico. 3ª Edición. España: Wolters Kluwer. 2012.
13. Gámez R, Mas R. Aspectos generales de los estudios toxicológicos preclínicos más empleados. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, Vol. 38, No. 3, 2007. Disponible en: <https://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-2007-3-204-208.pdf>
14. Infante JF, Sifontes S, Muñoz E, Gonzales M, Pérez V, Baldor C, et.al. Prueba toxicológica en ratones de una sola dosis inicial y segura de la vacuna cubana antileptospirosis Vax-SPIRAL Biotecnología Aplicada 2001; Vol.18, No 1. Disponible en: <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2001/18/1/BA001801020-023.pdf>
15. Höfle U. Técnicas de Diagnóstico Post-Mortem: Necropsia y Toma de Muestras. Aquila foundation y Centro de Estudios de Rapaces Ibéricas, 45671 Sevilleja de la Jara. Disponible en: https://www.academia.edu/14178419/TÉCNICAS_DE_DIAGNÓSTICO_POST_MORTEM_NECROPSIA_Y_TOMA_DE_MUESTRAS
16. Kumar V, Cotran R, Robbins S. Robinson. Patología Humana. 6ª ed. McGrawHill-Interamericana; 1997. Disponible en: http://patologiasfesc.webcindario.com/archivos/Degeneracion_celular.pdf
17. Sahuquillo A. Esteatosis hepática no alcohólica en pacientes con síndrome metabólico. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid, 2017. Disponible en: https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/681344/sahuquillo_martinez_alicia.pdf?sequence=1&isAllowed=y
18. Csendes P, Paolinelli P, Busel D, Venturelli V, Rodríguez J. Hígado graso: Ultrasonido y correlación anatomopatológica. *Rev Chil Radiol* 2004; 10: 50-52. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchradiol/v10n2/art03.pdf>
19. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* (2002) XVII (6) 271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
20. Flores J, Armijo JA, Mediavilla Á. Farmacología humana. 4ª edición, Barcelona (España). MASSON S.A.; 2003. Disponible en: <https://bit.ly/2UDQOBT>
21. Milgate J, Roberts D. The nutritional & biological significance of saponins. *Nutrition Research* Volume 15, Issue 8, August 1995, Pages 1223-1249. DOI: 10.1016/0271-5317(95)00081-S
22. Arroyo J, Raez E, Rodríguez M, Chumpitaz V, Burga J, De la Cruz W, et.al. Reducción del colesterol y aumento de la capacidad antioxidante por el consumo crónico de maíz morado (*Zea Mays* L) en ratas hipercolesterolémicas. *Rev. perú. med. exp. salud pública*, Lima v. 24, n. 2, p. 157-162, abr. 2007. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v24n2/a10v24n2.pdf>
23. Espinosa V, García A, Herrera JG, Álvarez AG, Estrada SG, Meza M. Efecto del Extracto de *Yucca schidigera* en el Perfil Bioquímico Y Hemático de Cerdos En Crecimiento y Engorde. *Revista Científica, FCV-LUZ* / Vol. XVIII, N.º 1, 51-58, 2008. Disponible en: <https://www.redalyc.org/html/959/95918109/index.html>
24. Díaz LN. Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de Estudios Transdisciplinarios*. 2009; 1 (2): 32-55. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1792/179214945004.pdf>

25. Lira R, Rodríguez C, Alvarado JL, Rodríguez I, Castrejón J, Domínguez A. Diversidad e importancia de la familia Cucurbitaceae en México. *Acta Botánica Mexicana* (1998), 42:43-77. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/574/57404206.pdf>