



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

Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol.

**INFORME FINAL DE TESIS PARA OPTAR AL TITULO PROFESIONAL DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

**Bach. SAUCEDO ESTELA PAMELA YANINA  
Bach. TOCTO CÉSPEDES JHOMAIRA KAREN**

ASESOR:

Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña

**LIMA –PERU**

**2018**



## ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 027-2018-OGYT-FCS-UMA

### PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 28 días del mes de diciembre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Grados; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidenta : Mg. Celia Vargas de La Cruz.

Integrante : Mg. Cinthia Farath Leto Huayanca.

Integrante : Mg. Victor Humberto Chero Pacheco.

Para evaluar la Tesis:

“Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (“manayupa”) en ratas Holtzman con intoxicación hepática, inducida por paracetamol”; presentada por: Bach. PAMELA YANINA SAUCEDO ESTELA. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... Aprobado..... (Aprobado/Desaprobado) por..... Mayoría..... (Unanimidad/Mayoría) con el calificativo de..... Aprobado..... [Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a ..... 14....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las 11: 26..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.

Mg. Celia Vargas de La Cruz  
Presidenta

Mg. Cinthia Farath Leto Huayanca  
Integrante

Mg. Victor Humberto Chero Pacheco  
Integrante



## ACTA DE SUSTENTACIÓN

N° 028-2018-OGYT-FCS-UMA

### PARA OPTAR AL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

En San Juan de Lurigancho, a los 28 días del mes de diciembre del año 2018 en los ambientes de la Sala de Grados; se reunió el Jurado de Sustentación integrado por:

Presidenta : Mg. Celia Vargas de La Cruz.

Integrante : Mg. Cinthia Farath Leto Huayanca.

Integrante : Mg. Victor Humberto Chero Pacheco.

Para evaluar la Tesis:

“Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (“manayupa”) en ratas Holtzman con intoxicación hepática, inducida por paracetamol”; presentada por: Bach. JHOMAIRA KAREN TOCTO CÉSPEDES. Participando en calidad de asesor: Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña.

Los señores miembros del Jurado, después de haber atendido la sustentación, evaluar las respuestas a las preguntas formuladas y terminada la réplica; luego de debatir entre sí, reservada y libremente lo declaran..... *Aprobado* ..... (Aprobado/Desaprobado) por..... *Mayoría* .....(Unanimitad/Mayoría) con el calificativo de ..... *Aprobado* .....[Mención Sobresaliente(18-20)/ Mención Notable(16-17)/ Aprobado(11-15)/ Desaprobado], equivalente a ..... *14* ....., en fe de lo cual firmamos la presente Acta, siendo las *11:26* ..... horas del mismo día, con lo que se dio por terminado el Acto de Sustentación.

Mg. Celia Vargas de La Cruz  
Presidenta

Mg. Cinthia Farath Leto Huayanca  
Integrante

Mg. Victor Humberto Chero Pacheco  
Integrante

## **DEDICATORIA**

A Dios, por haber estado conmigo en todo momento y a él debo todos mis logros.

A mis padres, por apoyarme siempre y brindarme la mejor herencia de esta vida que es una carrera profesional basada en principios y valores.

A mis hermanas por apoyarme en los momentos más difíciles de mi vida con sus consejos y dándome ánimo en todo momento. A mi abuela que desde el cielo siempre guía mi camino.

Tocto Cespedes Jhomaira Karen

A Dios por darme las fuerzas para vencer todos los obstáculos desde el principio de mi vida. A mis padres por todo su esfuerzo y sacrificio, por brindarme todo el amor, la comprensión, el apoyo incondicional y la confianza en cada momento de mi vida. A mis dos hermanos que me brindaron su confianza su cariño y su ejemplo para seguir adelante.

Saucedo Estela Pamela Yanina

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios porque nos dio el don de la perseverancia para alcanzar nuestra meta.

A la Universidad María Auxiliadora que nos abrió sus puertas para ser mejores personas y buenos profesionales

Agradecer a nuestro asesor de Tesis el Mg. Fidel Ernesto Acaro Chuquicaña por habernos brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como también a su dedicación y paciencia durante el desarrollo de la tesis, por su incondicional apoyo en la revisión y orientación a lo largo del desarrollo de la tesis.

Agradecemos a todas las personas que contribuyeron con sus valiosas sugerencias, críticas constructivas para lograr la presente tesis.

A todos ellos, infinitas gracias.

Las autoras

## RESUMEN

**Introducción:** las enfermedades hepáticas se están convirtiendo en un importante problema de salud pública, ya que afecta al hígado en numerosos procesos inflamatorios como toxicidad por fármacos, infecciones víricas y distintos defectos genéticos. **Objetivos:** el presente estudio tuvo por objetivo determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (“manayupa”) en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol.

**Materiales y métodos:** tipo de estudio aplicativo, experimental, transversal y prospectivo; se empleó 30 ratas *Holtzman* adultas de 2 meses de edad, con peso entre de 200 g y 250 g. Se utilizó la planta entera de *Desmodium molliculum* (manayupa), el cual fue triturado en mortero y macerado en una extracción hidroalcohólica por 7 días. Las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria en seis grupos (n=5), los cuales recibieron los siguientes tratamientos por diez días, vía peroral: grupos I y II: suero fisiológico 10 mL/kg; grupo III: silimarina 100 mg/kg; grupo IV: 50 mg/kg; grupo V: 500 mg/kg y grupo VI: 800 mg/kg del extracto de *Desmodium molleculum* (manayupa). Al sexto día de tratamiento los grupos del II al VI recibieron paracetamol a 400 mg/kg vía peroral, con una hora de diferencia del tratamiento anterior, hasta completar los diez días. **Resultados:** De acuerdo a las dosis administradas se observó que el extracto de 500 mg y 800 mg presentan mayor efecto hepatoprotector.

**Conclusiones:** La planta *Desmodium molliculum* (manayupa) presenta un efecto hepatoprotector.

**Palabras claves:** hepatotoxicidad, manayupa, paracetamol, toxicidad.

## ABSTRACT

Introduction: Liver diseases are becoming an important public health problem, as it affects the liver in numerous inflammatory processes such as drug toxicity, viral infections and various genetic defects. Objectives: The present study aims to determine the hepatoprotective effect of the hydroalcoholic extract of *Desmodium molliculum* (manayupa) in *Holtzman* rats with hepatic intoxication, induced by paracetamol. Materials and methods: type of study applied, experimental, transversal and prospective; We used 30 adult *Holtzman* rats 2 months old, weighing 200 - 250 g. The whole plant of *Desmodium molliculum* (manayupa) was used, which was crushed in mortar and macerated for 7 days. The rats were randomized into six groups (n = 5). Which received the following treatments, for ten days, via peroral: groups I and II: physiological serum 10 mL / kg; group III: silymarin 100 mg / kg; Group IV: 50 mg / kg; group V: 500 mg / kg and group VI: 800 mg / kg suspension of *Desmodium molliculum* (manayupa). On the sixth day of treatment, groups II to VI received paracetamol at 400 mg / kg perorally, with an hour difference from the previous treatment, until completing the ten days. Results: according to the administered doses, it was observed that the extract of 500 mg and 800 mg have a greater hepatoprotective effect. Conclusions: The plant *Desmodium molliculum* (manayupa) exerts a hepatoprotective effect.

Key words: hepatotoxicity, manayupa, paracetamol, toxicity.

## ÍNDICE

PORTADA	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTO	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
INDICE	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABLAS	viii
INTRODUCCIÓN	1
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1 Planteamiento del problema	2
1.2 Formulación del problema	4
1.2.1 Problema general	4
1.2.2 Problemas específicos	4
1.3 Objetivos	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	5
1.4 Justificación	5
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1 Antecedentes	6
2.2 Bases teóricas	9
2.3 Definición de términos básicos	16
2.4 Hipótesis	17
2.4.1 Hipótesis general	17
2.4.2 Hipótesis específicas	17
3. METODOLOGÍA	18
3.1 Tipo de investigación	18

3.2 Nivel de investigación	18
3.3 Diseño de la investigación	18
3.4 Área de estudio	22
3.5 Población y muestra: criterios de inclusión y exclusión	22
3.6 Variables y operacionalización de variables	23
3.7 Instrumentos de recolección de datos	24
3.8 Validación de los instrumentos de recolección de datos	24
3.9 Procedimiento de recolección	24
3.10 componente ético de la investigación	24
3.11 procesamiento y análisis de datos	24
4. RESULTADOS	25
5. DISCUSIÓN	31
6. CONCLUSIONES	33
7. RECOMENDACIONES	34
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
9. ANEXOS	40
9.1 Matriz de consistencia	40
9.2 Instrumentos de recolección de datos	41

## **LISTA DE FIGURAS**

FIGURA N° 1: Planta de Planta <i>Desmodium milliculum</i> (manayupa)	pag.15
FIGURA N° 2. Proceso de obtención del extracto hidroalcohólico	pag.19

## **LISTA DE TABLAS**

TABLA N° 1: Clasificación patogénica de hepatotoxicidad por sustancias naturales.	pag.10
TABLA N° 2: Tratamiento administrado a los grupos experimentales	pag.21
TABLA N° 3: Operacionalización de variables	pag.23
TABLA N° 4: Resumen del procesamiento de los casos	pag.25
TABLA N° 5: Tabla de contingencia	pag.25
TABLA N° 6: Diferencia de medias	pag.27
TABLA N° 7: ANOVA de un factor	pag.28
TABLA N° 8: Análisis de Tukey	pag.29
TABLA N° 9: Metabolitos	pag.30

## INTRODUCCIÓN

En el Perú, las enfermedades hepáticas crónicas ocupan el noveno lugar entre las causas de mortalidad. El gasto que involucra el tratamiento de las patologías hepáticas para el sistema salud es elevado.<sup>1</sup>

La investigación se divide en cuatro partes:

En la primera fase, describe la propuesta de la pregunta, en la cual se expone lo que viene aconteciendo respecto al tema de investigación: Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa). Además se indica la formulación del problema, los objetivos de la investigación (general y específica) y la justificación.

La segunda fase presenta el modelo de la base teórica de la indagación, en donde se expone los antecedentes de la investigación, a nivel internacional como nacional, bases teóricas de las variables y la definición de términos básicos.

La tercera fase, se refiere al marco metodológico, en el que se describe la variable para puntualizarla operacionalmente; asimismo, se escribe y explica el tipo y diseño de estudio, además de los habitantes y del patrón de análisis. En el método de herramientas de recolección de datos, se señala el método a proseguir para la recopilación de los datos, en el procesamiento para la observación de los datos se manifiesta las técnicas estadísticas que pertenecen según el tipo y el rango de la medida de la variante. Finalmente se adjuntan algunas apreciaciones éticas.

La cuarta fase, nos muestra la conclusión de la indagación, presenta el descriptivo y el debate de las conclusiones obtenidas en la indagación. Para concluir se explican las sugerencias, conclusiones, citas bibliográficas y anexos.

Nuestro trabajo de investigación, el objetivo principal fue determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol.

# 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

## 1.1 Planteamiento del problema:

Las enfermedades hepáticas crónicas originan altos gastos al sistema sanitario, que van incrementando a medida que la hepatopatía va progresando, esto incorporado al hecho de que las afecciones del hígado crean un problema progresivo en todo el mundo.<sup>1</sup>

En disposición a la Organización Mundial de la Salud (OMS) se estima que un aproximado de 2 000 millones de habitantes en todo el mundo sufren de hepatitis vírica, una enfermedad del víscera provocado por gérmenes o por el consumo de bebidas alcohólicas en exceso.<sup>2</sup>

El 5,9% de todas las muertes son producidas por el excesivo consumo del alcohol y eso representa que cada año 3,3 millones de personas fallezcan.<sup>3</sup>

Europa es el continente de mayor consumo de alcohol en todo el mundo y la evidencia sobre el aumento de la enfermedad y costos atribuibles es muy alto.<sup>4</sup>

La muerte por cirrosis hepática y otras afecciones endémicas del hígado muestran un destacado porcentaje geográfico, diferenciado por una numerosa muerte en los países del este de la Unión Europea. Hungría, Eslovenia y Eslovaquia que muestran una mortalidad por estas afecciones dos veces más superior que la media de la Unión Europea. El exterminio en Hungría es casi doce veces más elevado que en Holanda. En el continente europeo, España se dice que presentan unos 25 % más bajos que otros países en cuanto a las muertes causadas por cirrosis hepática.<sup>5</sup>

Las afecciones hepáticas poseen una notable prevalencia en Latinoamérica, de una forma semejante a lo que sucede en el resto del mundo. En el Perú de acorde a un análisis realizado en todo los establecimientos de salud, la cirrosis hepática y diferentes afecciones graves del hígado, poseen una cantidad de muerte de 21,3 por 100 000 pobladores, ubicándose en el 9º puesto, en la jerarquía de extensión entre el descenso más recurrente, los habitantes más afectados por estas afecciones son las personas de 20 a 65 años de edad.<sup>6</sup>

Las afecciones hepáticas en el Perú conforman una considerable causa de morbilidad y mortalidad, la Hepatitis Viral presenta una elevada endemidad en diferentes regiones del país y la cirrosis hepática es el origen más común de manifestación crónica relacionado a la muerte, la cirrosis hepática se establece en el 5º lugar, en el sistema de importancia dentro de las muertes habituales.<sup>7</sup>

La permanencia de las afecciones hepática en nuestro país, ha conducido a los habitantes a investigar, ver modos de procedimientos y medicación, produciendo suposiciones y tradiciones, por razón la cultura popular ha establecido medicaciones variables (medicina típica) y/o la automedicación que son repartidas por los pobladores sin desigualdad de escala educativo ni socioeconómica, lo que ha limitado a los pobladores a un alto peligro de padecimientos.<sup>8</sup>

El hígado ejerce un papel importante para la totalidad de las funciones metabólicas del organismo y ejecutan más de 500 tareas, en las cuales está la de filtrar sangre, metabolizar los carbohidratos, proteínas, hormonas, bilis, vitaminas y almacenar hierro, producir factores de coagulación.<sup>9</sup> Sin embargo es un órgano que se ve dañado por varios procedimientos inflamatorios como infecciones víricas, procesos autoinmunes, diferentes defectos genéticos y toxicidad por fármaco.<sup>10</sup>

La publicidad del paracetamol como antipirético, analgésico fiable y eficiente se ha elevado estos tiempos, su empleo ha ascendido vertiginosamente y el crecimiento en la disponibilidad lo ha transformado en uno de los agentes más recurrentes en las sobredosis ocasionales como intencionados, las consecuencias de la toxicidad por paracetamol predominan en la lesión del hígado.<sup>11</sup>

Se dice que en las últimas épocas se ha elevado la tendencia por la indagación de plantas y/o alimentos con características medicinales, con el propósito ideal de evidenciar que algunos componentes (fitonutrientes) tienen un efecto productivo hacia el organismo, cuyas propiedades son “detoxificantes del hígado”, en verdad, el contenido de fitonutrientes de estas plantas favorecen a cuidar el cuerpo de las toxinas de nuestro entorno, así como la contaminación, alcohol, estrés habitual, radiación, químicos tóxicos en nuestra agua, aire y productos, por lo tanto, proporcionan mecanismos, entre ellos los antioxidantes, para luchar la procreación de radicales libres, que apoyan a disminuir la inflamación del hígado, favoreciendo la eliminación de toxinas del hígado y a la reducción de las eventualidades del daño.<sup>12</sup>

## **1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

### **1.2.1. Problema General**

¿El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) tendrá efecto hepatoprotector en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol?

### **1.2.2. Problemas Específicos**

1. ¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 50 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol?
2. ¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 500 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol?
3. ¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 800 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol?
4. ¿Cuáles son los fitoconstituyentes secundarios presentes en extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa)?

## **1.3. Objetivos:**

### **1.3.1. Objetivo General**

Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol.

### **1.3.2. Objetivo Específicos**

1. Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 50 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.

2. Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 500 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.
3. Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 800 mg /kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.
4. Identificar los fitoconstituyentes secundarios presentes en extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa).

#### 1.4. Justificación

Con la de investigación se ampliará el conocimiento sobre *Desmodium molliculum* (manayupa), que nos permitirá conocer de manera experimental el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), ante los problemas de salud referente al hígado.

El argumento de esta investigación es conveniente a la gran multitud de individuos que padecen problemas del hígado (hepatotoxicidad, hígado graso, etc.), debido a varios factores ya mencionados. Entre las soluciones podría estar los tratamientos naturales, ya que el uso continuo de productos a base de químicos tienen efectos secundarios.

Dentro de los beneficios de la *Desmodium molliculum* (“manayupa”), utilizados continuamente por los pobladores de Cajamarca, Huánuco, Ayacucho, son para los problemas de salud del hígado.

Ofrecer un producto natural con una dosis efectiva de *Desmodium molliculum* (manayupa), que permitirá la protección hepática, legar un producto protector hepático de bajo costo y sin la presencia de efectos adversos y que será corroborado mediante esta investigación experimental. A futuro tendríamos la capacidad de elaborar un producto a base de los resultados *Desmodium molliculum* (manayupa), con la posibilidad de ser utilizado como un tratamiento alternativo y natural.

## 2 MARCO TEORICO

### 2.2 Antecedentes

En el año 2018, Liz O., realizó un estudio sobre “Efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia Lutea* en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas holtzman macho”. Esta investigación tuvo como objetivo identificar los componentes químicos en el extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea*, y determinar el efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo *Cordia lutea* en la reducción de las alteraciones de los parámetros físicos y bioquímicos producidas en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas *Holtzman* macho. La metodología del estudio responde a un diseño experimental. En conclusión, el extracto hidroalcohólico de las flores de overo (*Cordia lutea*) redujo los niveles de transaminasas, enzimas y proteínas alteradas del hígado de la rata.<sup>13</sup>

En el año 2018, Sifuentes R. y Franz L., realizaron un estudio sobre el “Efecto hepatoprotector de *Cucurbita maxima* en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida” Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto hepatoprotector de la *Cucurbita maxima* (zapallo macre) en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida. Se trabajaron con 30 ratas, divididas en 3 grupos de 10 especímenes cada uno. Los resultados mostraron reducción altamente significativa de transaminasas a excepción de proteínas totales. En conclusión la administración de *Cucurbita maxima* (variedad macre) presento efecto hepatoprotector significativo en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida.<sup>14</sup>

En el año 2017, Safriani ., etal, realizaron un estudio sobre “efecto hepatoprotector del extracto de etanol de la hoja johar (*Cassia siamea lamk.*) en ratas (*Rattus norvegicus*)”. Esta investigación tiene como objetivo determinar el efecto hepatoprotector del extracto de etanol de hojas de johar (*Cassia siamea Lamk*) de ratas hepáticas. El método fue experimental, donde se utilizó 15 ratas evaluadas divididas en 5 grupos. Los resultados mostraron que el extracto etanólico de johar a de dosis de 50; 250; 500 mg / kg tienen un efecto hepatoprotector.<sup>15</sup>

En el año 2017, Carbonel y Kelly, realizaron un estudio sobre el “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* en un modelo experimental inducido por paracetamol”. Esta investigación tuvo como objetivo, evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* (hercampuri) en un modelo experimental inducido por paracetamol, el método fue experimental. En conclusión, el extracto de *Gentianella nitida* exhibe capacidad antioxidante en correlación con el contenido de fenoles totales, protegiendo la actividad de las enzimas antioxidantes hepáticas frente al daño de las ROS (radicales libres derivados del oxígeno) producidas por el paracetamol.<sup>16</sup>

En el año 2017, Canelo y Mendoza, realizaron un estudio sobre el “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa L.* en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albina”. Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa L.* frente al daño hepático agudo producido por tetracloruro de carbono en ratas albinas, el método utilizado fue experimental. Los resultados mostraron una disminución significativa en los niveles séricos de AST (aspartato aminotransferasa), ALT (alanina transaminasa) y ALP (fosfatasa alcalina).<sup>17</sup>

En el año 2015, Sánchez, et al, realizaron un estudio sobre el “Efecto hepatoprotector del zumo de fruta de *Opuntia ficus-indica* (tuna), variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Siendo el objetivo: determinar el efecto hepatoprotector del zumo de fruta del *Opuntia ficus-indica* (tuna variedad morada, en ratas con intoxicación hepática inducidas por paracetamol. El método fue experimental, donde se utilizaron 36 ratas machos con un peso de 26 g  $\pm$  22 g. el resultado demostró que la administración del zumo de *Opuntia ficus-indica*, “tuna” variedad morada, redujo de forma significativa actividad del ALT (alanina transaminasa) en los tres grupos tratados. Donde concluyeron que el zumo de *Opuntia de ficus-indica* “tuna” variedad morada, presentó efecto hepatoprotector, expresados en varios de los indicadores de daño hepático.<sup>18</sup>

En el año 2014, Caballero, realizó un estudio sobre el “Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de *Cucurbita maxima* (zapallo macre) en ratas”. Siendo el objetivo de

estudio, determinar el efecto hepatoprotector de la almendra de semilla de *Cucurbita máxima*, sobre los marcadores del daño hepático en ratas con intoxicación por paracetamol. El método utilizado fue experimental, donde las ratas fueron distribuidas de forma aleatoria en seis grupos (n=8). Los resultados demuestran que la suspensión de la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* (zapallo macre) ejerció un efecto hepatoprotector, esto se evidencia en los indicadores enzimáticos (alanina transaminasa y aspartato aminotransferasa), albúmina, proteínas totales y TBARS (ácido tiobarbitúrico) en hígado. Se concluye que la almendra de semilla de *Cucurbita maxima* (zapallo macre) ejerció un efecto hepatoprotector.<sup>19</sup>

En el año 2014, Whu, realizó un estudio sobre la “Actividad energética y hepatoprotectora de las hojas de *Baccharis lanceolata* (chilca)”, siendo el objetivo: comprobar el efecto energético y hepatoprotector que produce el extracto acuoso de *Baccharis lanceolata* en la cadena respiratoria. El método utilizado fue experimental. Los resultados demuestran que la actividad respiratoria de los controles con los tratados fueron para el 1º mes 13.31 y 19.08, 2º mes 14.55 y 21.18 y 3º mes 15.15 y 23.63 micromoles de O<sub>2</sub>/mg de proteína (p < 0.001). Conclusión: se demostró que el extracto acuoso aumenta la actividad del control respiratorio, enzima ATP asa, enzima Citocromo c oxidasa; siendo la hepatoprotección dependiente del tiempo.<sup>20</sup>

En el año 2013, Quispe, realizó un estudio sobre el “Efecto protector del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado (*Zea mays l.*) Sobre lesiones hepáticas inducidas en ratas”. Siendo el objetivo de estudio, evaluar el efecto protector del extracto hidroalcohólico atomizado de *Zea mays* variedad morado sobre lesiones hepáticas inducidas en ratas. El método utilizado fue experimental, donde se usaron sesenta ratas Holtzman divididos aleatoriamente en 6 grupos de 10 animales. Los resultados demuestran que se ha observado la reducción del 60% de la lesión hepática, evidenciado con menor daño del hepatocito al estudio histológico y con una reducción del 83% de MDA (tenamfetamina) como indicador del marcador de stress oxidativo. Conclusión, en condiciones experimentales, el consumo crónico del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado disminuye las lesiones hepáticas en ratas.<sup>21</sup>

En el año 2013, Oscar, et al, realizaron un estudio sobre el “Efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol, en ratas”, siendo el objetivo, determinar el efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de las hojas de *Bixa orellana* sobre los indicadores no enzimáticos de hepatotoxicidad, en ratas sometidas a paracetamol. El método utilizado fue experimental, donde se distribuyó aleatoriamente 35 ratas machos de 3 meses de edad en 5 grupos. Los resultados demuestran que el tratamiento con extracto acuoso solo disminuyó los indicadores BT (bilirrubina indirecta) y BI (bilirrubina directa) ( $p < 0,01$ ), TBARS (ácido tiobarbitúrico) en suero ( $p < 0,05$ ) y hubo disminución de la masa hepática de -13,2% ( $p < 0,01$ ). Se concluyó que los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) presento efecto hepatoprotector frente a la toxicidad hepáticas en ratas.<sup>22</sup>

## **2.2 Base teórica**

### **2.2.1 Hepatotoxicidad**

La hepatotoxicidad (HTX) es una lesión del hígado que se asocia con el deterioro de la función hepática causada por la exposición de fármacos, otras sustancias químicas o cualquier agente no infeccioso. Ciertos agentes medicinales, cuando tienen efecto de sobre dosis y algunas veces incluso cuando se introducen dentro de rangos terapéuticos, pueden dañar el órgano. Otros agentes químicos, tales como los utilizados en los laboratorios e industrias, productos químicos naturales (por ejemplo, microcistinas) y remedios herbales también pueden inducir hepatotoxicidad.<sup>23, 24, 25.</sup>

En una lesión hepática se observa un aumento superior al doble del valor del límite superior normal de alanina sérica, tiene un aumento combinado fosfatasa alcalina (ALP), bilirrubina conjugada, aspartato aminotransferasa, aminotransferasa (ALT) y bilirrubina total. Existen evidencias que indican que las enfermedades hepáticas cuya gravedad puede oscilar desde elevaciones asintomáticas de las enzimas hepáticas, hasta insuficiencia hepática fulminante.<sup>2</sup>

### 2.2.1.1. Clasificación de hepatotoxicidad

Se puede apreciar en la literatura distintos tipos de clasificación acerca de la hepatotoxicidad, estos se basan en varios criterios sobre todo de acuerdo al tipo de investigación del que realizan.<sup>27</sup>

Álvarez, *et al.* (2016), clasifican a la hepatotoxicidad de acuerdo a los diseños de lesión hepática por productos de origen botánico:

- a) El perfil peculiar es la guía más común habitual en la lesión hepática ocasionada por componentes naturales, por lo tanto se determina por ser impredecible e autosuficiente de la dosificación, la etapa de duración es variante y tiene dos subtipos, la metabólica y la inmunológica.
- b) El aspecto propio es una contusión predecible, la dosificación dependiente, tiene un periodo corto de latencia y es reproducible.<sup>28</sup>

**TABLA 1. Clasificación patogénica de hepatotoxicidad por sustancias naturales.**

<b>Término</b>	<b>Criterios</b>
<b>1. Idiosincrática</b>	Impredecible Dosis independiente Periodo de latencia variable Baja incidencia Falta de reproducibilidad experimental
<b>1.1 Tipo metabólica</b>	Duración de exposición: 1 semana a 12 meses Respuesta tardía con reexposición
<b>1.2 Tipo inmunológica</b>	Duración de exposición: 1 a 5 semanas Respuesta inmediata con la primera dosis de reexposición
<b>2. intrínseca</b>	Predecible, dosis dependiente Periodo de latencia corto y consistente Alta incidencia, reproducible

**Fuente:** Álvarez, 2016.<sup>28</sup>

### **2.2.2. Histología hepática**

El hígado presenta en su estructura al parénquima hepático, estroma, lobulillo hepático (lobulillo clásico, lobulillo portal y acino hepático). Los lobulillos son los que participan en el intercambio de la sangre arterial y venosa traídos por la vena porta (desde el estómago, intestino delgado y bazo) y la arteria hepática. De los cuales los lobulillos cumplen funciones tanto endocrinas como exocrinas como la eliminación de bilis, metabolismo de los carbohidratos, la transformación de la vitamina D, transformando a la glucosa en glucógeno, eliminando sustancias exógenas del organismo como alcohol, almacenamiento del retinol (vitamina A) y los medicamentos entre otros.<sup>29</sup>

### **2.2.3. Funciones del hígado**

El hígado desempeña diversas actividades tales como:

- La filtración y el almacenamiento de sangre.
- El transformación de proteínas, grasas e hidratos de carbono, hormonas y compuestos químicos extraños.
- La elaboración de hiel.
- El almacenamiento de vitaminas y de hierro.
- La avance de los factores de la coagulación.
- El lobulillo está formado por un conducto céntrico que termina en los vasos hepáticos y posteriormente en la arteria cava. Particularmente el lobulillo se integra, de varias placas celulares hepáticas. Las placas hepáticas están compuestas por dos células; las células adyacentes que se sitúan en cortos canículas biliares que desembocan en el conducto biliar, en los tabiques fibrosos que dividen los lobulillos hepáticos adyacentes, los tabiques así mismo transportan vénulas portales que acogen el flujo sanguíneo portal del tracto digestivo. A partir de las vénulas, el flujo sanguíneo se conducen en dirección a las sinusoides hepáticos pianos, ramificados, situados en medio de las placas hepáticas, y después en dirección a arteria central. Las células hepáticas están permanentemente exhibidas al flujo venoso portal.<sup>28</sup>

#### **2.2.4. Enfermedades hepáticas**

La cirrosis consiste en una distorsión irreparable de la estructura del hígado no dañado, presentada por lesiones hepáticas, reconstrucción nodular y fibrosis. Las presentaciones clínicas de la cirrosis son una consecuencia de la no función del tejido hepático progresivamente y de la alteración portal. En casi 40% de los casos de cirrosis, se diagnostica en la necropsia de individuos que no presentan indicios indudables de afecciones hepática en el periodo terminante.

En la cirrosis están implicado el aumento o la alteración en la reducción del colágeno y de diferentes constituyentes del tejido conjuntivo o de la membrana basal. El VHB (virus de la hepatitis B) son agentes productores de fibrosis sobre bases inmunitarias. Los agentes como el tetracloruro de carbono o la hepatitis. El causante evidente de todos estos mecanismos de aumento en la fibrogenesis son las células acumuladoras de grasa en el sistema reticuloendotelial hepático.

La fibrosis hepática presenta espacio en dos etapas. La inicial se determina por una transformación en la formación de la matriz extracelular de un colágeno sin vínculos cruzados y no que forma la fibrilla a un colágeno más compacto y continuo a la creación de vínculos cruzados. En esta etapa la lesión hepática puede revertirse. La segunda involucra la creación de vínculos atravesadas en el colágeno subendotelial, la reproducción de las células mioepiteliales y la alteración de la estructura hepática con la percepción de nódulos de renovación, esta segunda fase es inmutable.

Las transformaciones en la constitución de la matriz extracelular logran mediar variables en las funciones celulares de los hepatocitos y de otras células como los lipocitos.

Por tanto, la transformación en la proporción del colágeno presenta una intervención importante en el ascenso de la variación transformable a la irreversible en el daño hepática grave, al perjudicar inclusive la función del hepatocito.<sup>30</sup>

La cirrosis establece el límite de un extenso procedimiento que une finalmente a la constitución de septos fibrosos y nódulos de restablecimiento, que simboliza el sustrato morfológico de estas afecciones. La fibrosis hepática reta un papel preciso

en el avance de la cirrosis a partir de diferentes afecciones hepáticas, y radica en un incremento extenso de la matriz extracelular en la solución a un daño permanente en el hígado. El alcohol y el germen ocasionado por la hepatitis C ocasionan los dos factores etiológicos más asiduamente implicados en nuestro entorno, sucesivo de las afecciones por el almacén de grasa no alcohólica.

En el momento en que no se logra reconocer ninguna de estas causas, tienen la obligación de proceder a una meticulosa investigación para eliminar afecciones autoinmunes, genéticas o metabólicas, toxicidad por fármacos, por ejemplo cirrosis de origen biliar o congestivo. La cirrosis de acuerdo a los antecedentes se presenta por una etapa de síntomas, nombradas cirrosis hepática compensada, continuada de una fase sintomática y velozmente progresiva, en la que se presentan empeoramientos originados de una alta alteración portal y disfunción del tejido hepático. La fase final se denomina como cirrosis hepática descompensada. El cambio que marca el paso de una fase a otra, es la alteración de la presión portal.<sup>31</sup>

### **2.2.5. Paracetamol**

El paracetamol es un analgésico no esteroide (AINES), son medicamentos que en mínima o máxima dosis pueden presentar propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antirreumáticas y antiplaquetarias. Es el más usado en los niños y no necesita de prescripción médica, debido a la inhibición de la enzima ciclooxigenasa.

En estados usuales es glucoronizado y sulfatado en un 90% y posteriormente es desechado por el conducto urinario. A dosificación normal, no ocasiona resultado tóxico, pero en caso de dosificación alta logra ocasionar daño hepático.<sup>32</sup>

#### **a) Biotransformación del paracetamol**

En fase bioquímica y celular, existen tres pasos primordiales en los cuales se logra producir la hepatotoxicidad por acción del citocromo P450. Al inicio compromete el acopio de exceso de medicamento no metabolizado, originado por una reducción de la acción del citocromo P450.

La inhibición del citocromo P450 inducida por medicamentos es el origen más común de este aspecto de hepatotoxicidad. Es imprescindible lo siguiente, para que se manifieste esta toxicidad: el fármaco ejemplar tiene un margen terapéutico mínimo, el fármaco tiene que ser tóxico esencial (la droga misma es tóxica), la acción del citocromo P450 tiene que ser significativamente mínima de lo frecuente, por último, el fármaco original no es metabolizado a productos inactivos por otros miembros de la familia P450. El segundo mecanismo es la producción de radicales electrofílicos por medio del citocromo P450. El tercer mecanismo consiste en la producción de autoanticuerpos para metabolitos del citocromo P450 en conjugación con diferentes proteínas y ADN.<sup>33</sup>

En el tiempo que el paracetamol es suministrado, el 95% es metabolizado en el hígado y el sobrante se elimina intacto por la orina, de la parte metabolizada por el hígado, el 90% sufre conjugación con ácido glucurónico o sulfatos y el resto es metabolizado por el citocromo P-450, originando un metabolito tóxico: N-acetil-p benzoquinoneimida (NAPQI). Esta sustancia es vertiginosamente detoxificada debido a la unificación con glutatión (GSH).<sup>34</sup>

Las reacciones adversas hepáticas más frecuentes Hepáticas: aumento de transaminasas, aumento de fosfatasa alcalina, hiperbilirrubinemia, hepatotoxicidad, con ictericia.<sup>35</sup>

#### **2.2.6. Características del *Desmodium molliculum* (manayupa)**

La manayupa es un vegetal que se encuentra en los andes peruanos (Huánuco, Cajamarca, Ayacucho), es una planta silvestre de tipo rastrojero que crece mayormente en los suelos y entre las piedras del campo.

Alcanza una altura máxima es de 50 cm y presenta unos tallos delgados y débiles, unas hojas redondas de color verde oscuro algo rugoso, la manayupa tiene flores moradas y lilas. Véase la Figura 1



**Figura 1.** Planta *Desmodium molliculum* (manayupa)

**a. Taxonomía de la planta**

*Clase* : Magnoliopsida

*Subclase* : Rosidae

*Orden* : Fabales

*Familia* : Fabaceae

*Género* : *Desmodium*

*Especie* : *Desmodium molliculum*

**b. Nombres comunes**

Runayupa, pata de perro, pega pega, allco pachaque.

**c. Constituyentes químicos**

En un estudio químico identificaron flavonoides, cumarinas, taninos, rivo flavina, esteroides, ácido gálico, carotenos.<sup>36</sup>

**d. Toxicidad aguda**

Un estudio realizado demostró que la dosis Letal Media DL50, muestra una buena actividad biológica con valores LC50: 100,427 ug/mL. <sup>37</sup>

#### e. Usos

Es usada como: depurador sanguíneo, diurético, desintoxicante, combate la gastritis, desinflama las vías urinarias, desintoxica el hígado, antialérgico, antiespasmódico, antiviral.<sup>38</sup>

### 2.3. Definición de términos básicos

- a) **Hepatotoxicidad:** es una herida de la víscera que se vincula con el daño de funciones hepáticas provocadas por la administración de medicamentos .<sup>26,27</sup>
- b) **Manayupa:** es un vegetal que proviene de los andes peruanos (Huánuco, Cajamarca, Ayacucho), es una planta silvestre de tipo rastrojero. Su altura máxima es de 50 cm y posee unos tallos delgados y débiles.<sup>36</sup>
- c) **Paracetamol:** es uno los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) son fármacos diversos que, en mayor o menor grado, presentan acciones analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas, antirreumáticas y antiplaquetarias.<sup>32</sup>
- d) **Toxicidad:** es un ensayo en el cual un organismo o grupo de organismos son expuestos a un agente (químico, físico o biológico) para establecer y medir una respuesta previamente seleccionada.<sup>37</sup>

## **2.4. Hipótesis**

### **2.4.1. Hipótesis general**

El extracto hidroralcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), presenta efecto hepatoprotector en ratas *Holtzman* inducida por paracetamol.

### **2.4.2. Hipótesis específico**

1. El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) tiene efecto hepatoprotector a dosis de 50 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.
2. El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) tiene efecto hepatoprotector a dosis de 500 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.
3. El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) tiene efecto hepatoprotector a dosis de 800 mg/kg en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática inducida por paracetamol.
4. Los fitoconstituyentes secundarios de *Desmodium molliculum* presentan efecto hepatoprotector.

### **3. METODOLÓGIA**

#### **3.1. Tipo de investigación**

Según Hernández, Fernández y Bautista (2010), según su finalidad, la investigación es de tipo aplicada ya que se modificara la variable dependiente por medio de la aplicación de la variable independiente, buscando con ello aportar a la solución de la realidad problemática. <sup>39</sup>

#### **3.2. Nivel de investigación**

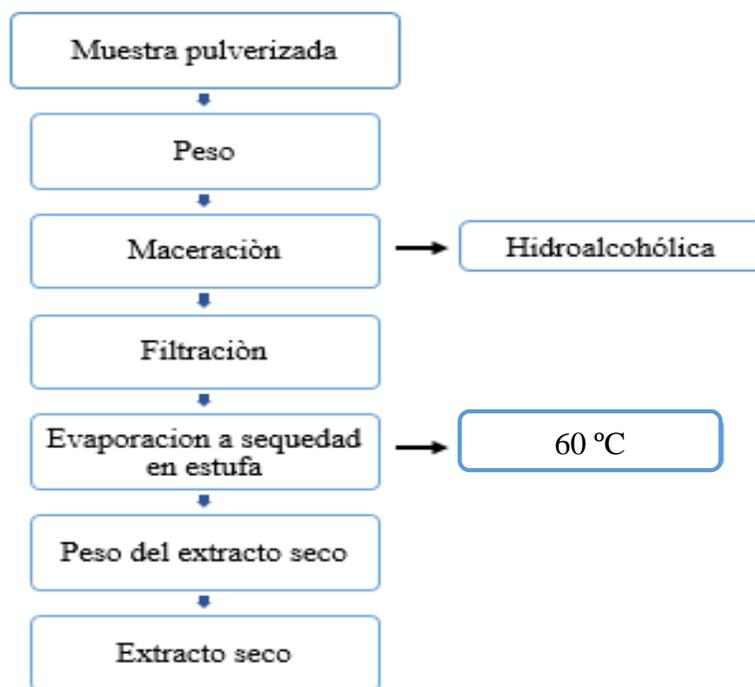
Según Hernández, Fernández y Bautista (2010), la investigación presente investigación es de alcance explicativo, puesto que tiene por propósito hallar una relación de explicación o causalidad entre las variables de estudio.<sup>39</sup>

#### **3.3. Diseño de la investigación**

**3.3.1 Recolección:** la muestra fue obtenida del departamento de Cajamarca, Provincia Cutervo, Distrito Pimpingos, Caserio el Progreso, durante el mes de marzo del año 2018.

#### **3.3.2 Obtención del extracto hidroalcohólico de la planta**

La planta fue pesada y secada a una temperatura menor de 40 °C por 6 días, luego fueron trituradas a un tamaño de 3 cm, para ser macerado en un frasco ámbar con la solución hidroalcohólica al 70%. La muestra fue filtrado y nuevamente secado en la estufa a una temperatura de 60 °C. Para después ser suspendidas con agua destilada para el tratamiento. El método de extracción es simple. La identificación fotoquímica es por el método de Miranda, modificada por los autores. Este análisis será tipo cualitativo, con la observación de la coloración. Se utilizaron tubos de ensayo, baño maria para aplicar el método de la temperatura caliente.



**Figura 2.** Proceso de obtención del extracto hidroalcohólico

**Fuente:** Elaboración propia

### 3.3.3 Caracterización del perfil fotoquímico

#### a. Identificación de Alcaloides

##### *Ensayo de Dragendorff*

La fracción disuelta en 1 ml de solución de ácido clorhídrico al 1%, con ausencia de solvente orgánico se mezcla con una gota del reactivo; si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++) de color rojo ladrillo. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado y se procede de la misma forma.<sup>40</sup>

#### b. Identificación de Fenoles y Taninos

##### *Ensayo de Cloruro Férrico*

A la fracción disuelta en 1 ml de etanol, se añade 0.5 ml de una solución de cloruro férrico al 5% en solución salina. La aparición de un color o precipitado

verde oscuro indica la presencia de fenoles y/o taninos. En el extracto acuoso se adiciona acetato de sodio previo al ensayo.<sup>40</sup>

### c. Identificación de Flavonoides

#### *Ensayo de Shinoda*

A 2 ml de fracción acuosa o el residuo disuelto en 2 ml de agua, se le adiciona 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de magnesio metálico o zinc metálico. Cuando la reacción termina, se añade 1 ml de alcohol amílico y se agita. El ensayo se considera positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, anaranjado o rojo, intenso en todos los casos.<sup>40</sup>

### 3.3.4 Condicionamiento de la unidad de análisis

Las ratas fueron distribuidos de manera aleatoria en seis grupos (n=6) en jaulas, en un ambiente de temperatura constante de 20 °C, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad.

### 3.3.5 Tratamiento e inducción a la hepatotoxicidad

Se empleó la técnica de inducción a hepatotoxicidad por paracetamol propuesta por Gibson y col.1996.<sup>41</sup>

#### **Grupo control.**

**Grupo I.-** Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, vía peroral, durante los 10 días, en el 6° día se le administró una segunda dosis de suero fisiológico con un tiempo de diferencia de una hora, hasta el día 10.

**Grupo II.-** Se le administró 10 mL/kg de suero fisiológico, vía peroral, durante los 5 días, en el 6° día se le administró paracetamol 400 mg/kg, vía peroral, con un tiempo de diferencia de una hora, hasta el día 10.

**Grupo III.-** Se administró silimarina a dosis 100 mg/kg, vía peroral, durante 5 días, en el 6° día se administró paracetamol 400 mg/kg, vía peroral, se continuará el procedimiento hasta el día 10.

**Grupo IV, V y VI.-** Se administró el extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (Manayupa), por vía peroral por 5 días, a partir del 6° día, se administró paracetamol 400 mg/kg, vía per oral, hasta el día 10. (Ver tabla 2)

Concluido el período experimental, los animales de experimentación, fueron sometidos a un ayuno previo de 14 horas, posteriormente fueron anestesiados, para luego ser observados macroscópicamente por los autores de la investigación y el asesor.

**Tabla 2.** Tratamiento administrado a los grupos experimentales

<b>Grupos</b>	<b>Pre- tratamiento vía peroral 5 días</b>	<b>Tratamiento via peroral 5 días</b>
Grupo I (Control negativo)	Suero fisiológico 10 mL/kg	Suero fisiológico + suero fisiológico
Grupo II (Control positivo )	Suero fisiológico 10 mL/ kg	Suero fisiológico + Paracetamol 400 mg/kg
Grupo III	Silimarina 100 mg /kg	Silimarina + Paracetamol 400 mg/kg
Grupo IV	Extracto hidroalcoholico 50 mg/ kg	Extracto hidroalcoholico + Paracetamol 400 mg/kg
Grupo V	Extracto hidroalcoholico 500 mg/ kg	Extracto hidroalcoholico + Paracetamol 400 mg/kg
Grupo VI	Extracto hidroalcoholico 800 mg/ kg	Extracto hidroalcoholico + Paracetamol 400 mg/kg

### **3.4. Área de estudio**

La investigación se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de las Ciencias de las Salud en la Universidad María Auxiliadora.

### **3.5. Población y muestra**

#### **3.5.1 Población**

El universo total estuvo comprendido por 30 ratas *Holtzman*, machos y hembras adultos de 2-3 meses de edad, con un peso de 200 - 250 g., procedentes del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

#### **3.5.2 Muestra**

La muestra se obtuvo mediante el muestreo probabilístico del tipo aleatorio simple por proporciones; el cual comprende como muestra a las ratas en las cuales fueron distribuidos de manera aleatoria en seis grupos (n=5) en jaulas de metal.

#### **3.5.1. Criterios de inclusión**

- Edad: 2 meses Raza: *Holtzman*
- Peso: 200 - 250 g.
- Sexo: Macho y hembras saludables

#### **3.5.3 Criterios de exclusión**

- Se excluyen del trabajo a todas las ratas enfermas
- Se excluyen a ratas menores de un mes.

### 3.6. Variables y operacionalización de variables

<b>Variables</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Escala de medición</b>
<b>Variable independiente:</b>  Extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa)	Medición del efecto hepatoprotector  Medición del estado hepático	Dosis del extracto hidroalcohólico de manayupa (mL/ kg)	Cuantitativa de razón
<b>Variable dependiente:</b>  Efecto hepatoprotector	Medición en concentraciones del extracto hidroalcohólico	Dosificación del efecto hepatoprotector	Razón cualitativa

### 3.7. Instrumentos de recolección de datos

Dentro de los instrumentos se utilizaron los siguientes:

Tabla de control de pesos y alimentos. (Anexo n° 2)

Formato de control de condiciones ambientales: Temperatura y humedad.  
(Anexo n° 3)

### 3.8. Validación de los instrumentos

Fueron validados por los juicios de expertos.

### **3.9. Procedimientos para la recolección de datos**

El procedimiento de recolección de datos se llevó a cabo de la siguiente manera:

Se preparó el extracto de la planta y se realizó después el tratamiento con los ratones por un plazo de 10 días.

Concluido el período experimental, los animales de experimentación, fueron sometidos a un ayuno previo de 14 horas, posteriormente fueron anestesiados, para luego ser observados macroscópicamente por los autores de la investigación y el asesor.

### **3.10. Componente ético de la investigación**

Los animales utilizados en el estudio fueron manipulados según las normas de ética de experimentación animal citadas en la Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratones - INS, Lima 2008. También, mediante las normas y principios éticos establecidos por el Consejo Internacional de Organizaciones Médicas (CIOM-OMS 1985) para la Investigación Biomédica con Animales. Asimismo, los animales fueron mantenidos en ambientes de temperatura y humedad aptos para ellos y fueron manipulados con ayuda y supervisión por nuestro asesor.<sup>42</sup>

### **3.11. Procesamiento y análisis de datos**

Los datos fueron ordenados y analizados aplicándose la prueba de normalidad de para luego realizar la prueba de análisis de varianza. Los datos se analizaron por grupo, comparándose el grupo control positivo (grupo II) con los grupos tratados referente a todas las variables, utilizando medidas de tendencia central (media) y de dispersión (desviación estándar).

Se aplicó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de promedios entre grupos de tratamiento. Si el valor-p en la prueba de ANOVA resultó significativo.

### 3. RESULTADO

**Tabla 3: Análisis descriptivo**

Resumen del procesamiento de los casos						
	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
tratamiento * grado de lesión	30	100,0%	0	0,0%	30	100,0%

**Tabla 4: Tabla de contingencia**

	Grado de lesión			Total
	leve	moderado	intenso	
control negativo	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	5 16,7%
control positivo	0 0,0%	0 0,0%	5 100,0%	5 16,7%
tratamiento silimarina con paracetamol	2 25,0%	3 50,0%	0 0,0%	5 16,7%
extracto de 50 mg con paracetamol	2 25,0%	3 50,0%	0 0,0%	5 16,7%
extracto de 500 mg con paracetamol	4 50,0%	0 0,0%	0 0,0%	5 16,7%
extracto de 800 mg con paracetamol	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	5 16,7%
Total	8 100,0%	6 100,0%	5 100,0%	30 100,0%

De acuerdo al grado de lesión con respuesta negativa se evidencia que el valor en el control negativo (45,5%) es similar al valor correspondiente al extracto de 800 mg con paracetamol (45,5%)

De acuerdo al grado de lesión con respuesta leve se evidencia que el valor de silimarina con paracetamol (25,0%) es similar al valor correspondiente al extracto de 50 mg con paracetamol (25,5%). Sin embargo se evidencia un valor mayor con el extracto de 500 mg con paracetamol (50,0%)

De acuerdo al grado de lesión con respuesta moderada se evidencia que el valor de silimarina con paracetamol (50,0%) es similar al valor correspondiente al extracto de 50 mg con paracetamol (50,0%)

De acuerdo al grado de lesión con respuesta intensa se evidencia que el valor en el control positivo corresponde al 100%, evidenciando que en los otros casos no hay presencia de respuesta intensa (0%).

### **Prueba de hipótesis**

Según los resultados se presenta la interpretación de acuerdo a cada una de las hipótesis formuladas.

#### **Hipótesis general**

El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), presenta efecto hepatoprotector en ratas *Holtzman* inducida por paracetamol.

Considerando las hipótesis específicas, se interpretan los siguientes resultados:

#### **Hipótesis específica 1:**

H0: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 50 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector.

H1: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 50 mg/kg tiene efecto hepatoprotector.

#### **Hipótesis específica 2:**

H0: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 500 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector

H1: 1. El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 500 mg/kg tiene efecto hepatoprotector

**Hipótesis específica 3:**

H0: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 800 mg/kg no tiene efecto hepatoprotector

H1: 1. El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) a dosis de 800 mg/kg tiene efecto hepatoprotector.

**Hipótesis específica 4:**

H0: Los fito constituyentes identificados no poseen efecto hepatoprotector

H1: Los Fito constituyentes identificados poseen efecto hepatoprotector

**Tabla 5:** comparación entre los tratamientos y los controles negativo y positivo.

HSD de Tukey	Pruebas post hoc de Comparaciones múltiples	
Tratamiento	Grupos de comparación	P.valor
Control negativo	Silimarina con Paracetamol	<b>0,947</b>
	Extracto en dosis 50 mg/Kg con paracetamol	<b>0,083</b>
	Extracto en dosis 500 mg/Kg con paracetamol	<b>0,944</b>
	Extracto en dosis 800 mg/Kg con paracetamol	<b>0,960</b>
Control positivo	Extracto en dosis 50 mg/Kg con paracetamol	<b>0,319</b>

Se muestran las medias para los grupos homogéneos.

De acuerdo al valor de la significancia puede asumirse que los valores promedio son similares o no difieren de forma importante entre el grupo de control negativo, el grupo tratado con Silimarina con Paracetamol, el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de

*Desmodium molliculum* en dosis de 50 mg/Kg con paracetamol, el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 500 mg/Kg con paracetamol y el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 800 mg/Kg con paracetamol. Los valores promedio son similares o no difieren de forma importante entre el grupo de control positivo y el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 50 mg/Kg con paracetamol. Puede asumirse la actividad similar entre los grupos comparados.

Considerando la hipótesis general, se interpreta el siguiente resultado:

H<sub>0</sub>: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), no tiene efecto hepatoprotector

H<sub>1</sub>: El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), tiene efecto hepatoprotector

**Tabla 6:** Análisis ANOVA de un factor

Peso de hígado en gramos

	Suma de cuadrados	grado de libertad	Media cuadrática	F	P. valor
Tratamiento	<b>66,251</b>	<b>5</b>	<b>13,250</b>	<b>6,743</b>	<b>0,000</b>
error	<b>47,161</b>	<b>24</b>	<b>1,965</b>		
Total	<b>113,412</b>	<b>29</b>			

De acuerdo al valor de la significancia puede asumirse que al menos uno de los grupos difiere de los demás. Se tiene en cuenta que al existir grupos que difieren con los grupos de control puede asumirse cierto nivel de efecto o actividad hepatoprotectora.

## Determinación de la efectividad

**Tabla 7:** Análisis de Tukey

HSD de Tukey

Tratamiento	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Control negativo	5	<b>10,5000</b>	
Extracto en dosis 800 mg/Kg con paracetamol silimarina con paracetamol	5	<b>11,2320</b>	
Extracto en dosis 500 mg/Kg con paracetamol	5	<b>11,2820</b>	
Extracto en dosis 50 mg/Kg con paracetamol	5	<b>13,0260</b>	<b>13,0260</b>
Control positivo	5		<b>14,8900</b>
Sig.		<b>0,083</b>	<b>0,319</b>

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

De acuerdo al valor de la significancia y a los conjuntos con grupos homogéneos se asume la actividad o efecto similar en el subconjunto 1 entre el grupo de control negativo, el grupo tratado con Silimarina con Paracetamol, el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 50 mg/Kg con paracetamol, el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 500 mg/Kg con paracetamol y el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 800 mg/Kg con paracetamol. Se asume la actividad o efecto similar en el subconjunto 2 entre el grupo de control positivo y el grupo tratado con Extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* en dosis de 50 mg/Kg con paracetamol.

**Tabla 8:** Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa).

Metabolito secundario	Reactivo	Resultado
Flavonoides	Shinoda	+++
	AlCl <sub>3</sub>	+++
	Dragendorf	+++
Alcaloides	Mayer	++
	Popoff	+++
	Wagner	+++
	FeCl <sub>3</sub>	+++
Taninos	Gelatina	+++

Se evidenció por el método cualitativo la identificación de flavonoides, alcaloides, taninos y fenoles, posiblemente sean los responsables de la actividad hepatoprotectora.

## 5. DISCUSIÓN:

La utilización de plantas medicinales para la prevención y/o tratamiento de enfermedades se ha incrementado en los últimos años, ya que su uso es muy recurrente entre los pobladores de bajos recursos, debido a que es la primera alternativa para curar cualquier tipo de enfermedades o dolencias, ya que no tienen acceso a los medicamentos, es por ello que el presente estudio tiene como finalidad comprobar, con el rigor científico el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) con la finalidad de garantizar y estandarizar su uso adecuado.

En la Tabla 8, se evidenció por el método cualitativo la identificación de flavonoides, alcaloides, taninos y fenoles, posiblemente sean los responsables de la actividad hepatoprotectora. Nuestros resultados son similares a los obtenidos por Chiu YJ, et al (2018), en los estudios fitoquímicos demostraron que los frutos del extracto etanólico de *Polygonum orientale* son ricos en flavonoides, son los principales componentes activos. Los flavonoides son una clase grande de compuestos fenólicos y constituyen uno de los grupos más grandes de metabolitos secundarios en las plantas. Además, estos compuestos protegen significativamente a las células frente a los efectos dañinos de las especies reactivas del oxígeno (ERO) tales como el oxígeno singlete, el superóxido, los radicales de peroxilo, los radicales hidroxilo y el peroxinitrito. El estrés oxidativo contribuye al desarrollo de enfermedades entre ellas el cáncer y la cirrosis hepática.<sup>43</sup>

En la Tabla 7, el grupo control negativo (suero fisiológico), el hígado de los roedores se encontró en condiciones estables, pero fue inducido al daño hepático con el control positivo (paracetamol), la misma que se observa en la diferencias de medias (-4,39000), mientras que la combinación de silimarina más paracetamol y el extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* a 500 mg/kg y 800 mg/kg, revertió el daño hepático inducido. Fue menor la actividad hepatoprotectora a concentración de 50mg/kg, quizás esta dosificación no es la recomendable debido al grado de toxicidad provocados a dosis superiores.

En la concentración de 500 mg/kg se manifiesta en la observación macroscópica una reversión del daño en el hígado lesionado, Nuestras muestras son similares, aunque a dosis cercanas si comparados con el estudio de Kokhdan P, et al (2017) del extracto etanólico de *Stachys pilifera* en tetracloruro de carbono inducido en ratas experimento a 400 mg / kg / y observó una mejoría en las lesiones hepáticas provocadas. Esta investigación determina que a esas dosis puede estar relacionada con sus propiedades antioxidantes.<sup>44</sup>

En el grado de 800 mg /kg se observó una regeneración superior del hígado, demostrando así que nuestro estudio es similar a los resultados obtenidos, a concentraciones similares si comparamos con el estudio de Sifuentes R, et al (2018) del efecto hepatoprotector de la *Cucurbita maxima* (zapallo macre) en *Rattus norvegicus* tratadas con Isoniacida, experimento a 800 mg/kg, donde se observó la reducción altamente significativa de la lesión del hígado. Demostrando así que este estudio puede estar relacionado con sus propiedades hepatoprotectoras.<sup>45</sup>

La administración de la dosis más alta del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (800 mg/kg) llevó a una disminución de la lesión del hígado, alcanzando los valores del grupo III (silimarina). Estos resultados nos muestran que el extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* de 800 mg/kg tiene un efecto hepatoprotector y que podría ser más eficiente frente al daño producido por el paracetamol que la silimarina.

En el presente estudio la administración del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* a 50 mg/kg solo redujo el porcentaje de lesión de forma significativa, la cual demuestra que a esa dosis no presenta un efecto hepatoprotector, ya que las lesiones que presenta el hígado son similares a los del grupo control positivo (paracetamol).

## 6. CONCLUSIÓN:

- A condiciones experimentales, el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas *Holtzman* con intoxicación hepática, inducida por paracetamol, se evidenció efecto hepatoprotecto a dosis de 500 mg/kg y 800 mg/kg, resultado similar al grupo silimarina mas paracetamol.
- A dosis de 50 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), se observó macroscopicamente una limitada mejoría en la intoxicación hepática inducida por paracetamol en ratas *Holtzman*, en comparación al grupo negativo (suero fisiológico) y fue superior la dosis de 500 mg/kg y 800 mg/kg.
- A la concentración de 500 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), se evidencia una recuperación a nivel del hígado en cuanto a la morfología y tamaño. Sin embargo es más evidente la recuperación con la combinación de paracetamol más silimarina
- A concentración de 800 mg/ kg del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), evidencio una mayor recuperación del hígado, en comparación de los extractos de 50 mg/ kg y 500 mg/kg.
- El extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), presenta fitoconstituyentes: flavonoides, taninos, alcaloides y compuestos fenólicos que son los responsables de la actividad hepatoprotector.

## 7. RECOMENDACIÓN

- Realizar estudios más exhaustivos en la investigación del efecto hepatoprotector del extracto hidroralcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa), para detectar y corregir en forma temprana los posibles daños que se puedan presentar en la investigación.
- Se recomienda realizar estudios histopatológico del tejido hepático.
- Realizar análisis de los niveles séricos de enzimas transaminasas hepáticas, perfil hepático y perfil lipídico.
- Debe utilizarse este trabajo de investigación como base para realizar otras investigaciones futuras con otras especies de plantas de nuestro país ya que existe una amplia variedad de ellas, que también tienen algún efecto benéfico para la salud alternativa, no solo para las enfermedades hepáticas, sino también para aquellas enfermedades de mayor prevalencia a nivel mundial.
- Determinar la actividad de las enzimas SOD, CAT y GPx para evaluar otros mecanismos de protección hepática.
- Realizar una forma farmacéutica a base de *Desmodium molliculum* (manayupa), ya que tiene acción hepatoprotectora

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bustíos C, Dávalos M, Román R. Características epidemiológicas y clínicas de la cirrosis hepática en la unidad de hígado del HNERM Es-Salud. (Perú) 2007: 27(3); 238-245.
2. Coordinación y Cooperación - Investigación científica - Medicina y Sanidad. European Unión, 2015.
3. Alcohol. Organización Mundial de la Salud. 2015. Nota descriptiva N°349
4. Assesing the alcoholic patient in the clinic. En: EASL. The International Liver Congress 2012. EASL Post Graduate Course. Alcoholic Liver Disease. Barcelona; 2012. p. 76-80.
5. La Salud de la Población Española en el contexto europeo y del Sistema Nacional de Salud. Indicadores de salud. 2017.
6. Perú, Ministerio de Salud. Análisis de la situación de salud del Perú. Ministerio de Salud Dirección general de epidemiología; 2010.
7. Farfán G, Cabezas C. Mortalidad por enfermedades digestivas y hepatobiliares en el Perú, 1995-2000. Rev. Gastroenterol. Perú, oct./dic. 2002, vol.22, no.4, p.310- 323. ISSN 1022-5129.
8. Osorio L, Patiño T, Tagle M, Huayanay L. Percepciones, conocimientos y actitudes sobre enfermedades hepáticas en adultos sanos que acuden a instituciones de salud de estrato A, B y C. Rev gastroenterol 2010; 30(21):126- 132.
9. Linda S. Costanzo, Fisiología, 4ta edición, España 2011.
10. Guion & Hall; Tratado de fisiología medica; 11ra edición; 2006.

11. Ignacio A. Sisamón, Acerca de la hepatotoxicidad del paracetamol, Revista del Hospital Privado de Comunidad 2003;vol 6, n°2.
12. Delgado Olivares L, Betanzos Cabrera G, Sumaya Martínez M, Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo, Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguas Calientes 2010, 50:10-15
13. Liz Beydi O. Tesis: “Efecto del extracto hidroalcohólico de las flores de overo cordia lutea en la toxicidad hepática inducida por paracetamol en ratas Holtzman macho”. 2018 – Perú.
14. Sifuentes R., Franz L. Tesis: “Efecto hepatoprotector de *cucurbita maxima* en *Rattus norvegicus* tratadas con isoniacida”. 2018 – Trujillo.
15. Safriani R., et al, Tesis: “efectos del extracto de hepatoprotektor etanol hoja johar (*Cassia siamea lamk.*) en ratas (*Rattus norvegicus*)”.2017- Indonesia.
16. Carbonel V., Kelly N. Tesis: “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Gentianella nitida* en un modelo experimental inducido por paracetamol”.2017- Lima.
17. Canelo P., Mendoza Y. Tesis “Efecto hepatoprotector del extracto acuoso liofilizado de *Curcuma longa L.* en daño hepático agudo inducido por tetracloruro de carbono en ratas albina”. 2017- Iquitos, Perú.
18. Sánchez T. A., Sotomayor R. G. Tesis: “Efecto Hepatoprotector del zumo de fruta de la *Opuntia ficus-indica* (Tuna), variedad morada, en ratas con intoxicación Hepática Inducida por Paracetamol”. 2015 – Lima.
19. Caballero J. Tesis: “Efecto hepatoprotector de la almendra de semillas de *Cucurbita maxima* (zapallo macre) en ratas”.2014- Lima.
20. Delia Yolanda Whu Whu. Tesis: “Actividad energética y hepatoprotectora de las hojas de *Baccharis lanceolata* (chilca)” 2014 – Lima.

21. Quispe R. Tesis: “Efecto protector del extracto hidroalcohólico atomizado de maíz morado (*Zea mays* L.) sobre lesiones hepáticas inducidas en ratas”. 2013- Lima.
22. Oscar H. Et al. Tesis: “Efecto de los extractos acuoso e hidroetanólico de hojas de *Bixa orellana* (achiote) sobre los indicadores no enzimáticos de la hepatotoxicidad por paracetamol, en ratas”. 2013 – Lima.
23. Bosia J D. Afectación hepática en trabajadores de una industria petroquímica [tesis doctoral]. Ensenada: Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Médicas.
24. Swaroop T. VSS., Gowda S. KP. Hepatotoxicity Mechanisms and its Biomarkers. *Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences*. Apr – Jun 2012; 1 (2): 675- 682.
25. Pandit A, Sachdeva T, Bafna P. Drug-Induced Hepatotoxicity: A Review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2012; 02 (05): 233-243.
26. Bosia J D. Afectación hepática en trabajadores de una industria petroquímica [tesis doctoral]. Ensenada: Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Médicas.
27. Lozano-Lanagrán M, Robles M, Lucena MI, Andrade R. Hepatotoxicity in 2011 - advancing resolutely. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*. Sep. 2011.
28. Ross M y Pawlina W. *Histopatología.: Texto y atlas color con biología celular y molecular*. 6ª ed. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 2012. p. 628- 646.
29. Guyton A. *Tratado de fisiología médica*. Novena edición. Mc Graw-Hill Interamericana. México. 2006. Pag.;992-994.
30. Ganong W, Macphee S. *fisiopatología Medica.Introducción a la medicina clinica*. Editorial Manual Moderno. 2006. quinta edición: 413-423.

31. Bosch J, D'Amico G, García-Pagán JC. Portal hypertension. En: Schiff ER, Sorrell MF, Maddrey WC, eds. Schiff's Diseases of The Liver. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, 2002: 429-86.
32. Formulario Nacional de Medicamentos Esenciales.2011-Lima/Perú.
33. Elejalde J. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. An Med Interna 2001; 18(1):326-335.
34. Ehrenpreis ED, Ehrenpreis S. Cytochrome P450. Role in Drug- Induced Hepatotoxicity. Clinics in Liver Disease.1998; 2: 457-470.
35. William M. Drug-induced hepatotoxicity. N Engl J Med 2003; 349:474-485.
36. Varios artículos. "Productos naturales, emergencias y químicas de las plantas", Biblioteca del SICAR.
37. Lozano R , et al. Evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* (HBK) DC (manayupa) [Internet]. Revistasinvestigation.unmsm.edu.pe. 2018.
38. Soldevilla Ramírez, Viviana. Extracción de compuestos polifenólicos de *Desmodium molliculum* "Manayupa". Lima ,2014.
39. Roberto H., Carlos F., Pila. Metodología de la investigación. 5ta edición, México 2010.
40. Corral A, De la Paz J, Concepción E, Hernández R, López D. Tamizaje, Tecnología, control de calidad y farmacología del extracto fluido de *Bougainvillea spectabilis* Willd. Rev Cubana Plant Med. 1997; 2 (2): 19-25.
41. Gibson JD, Pumford NR, Samokyszyn VM, Hinson JA. Mechanism of acetaminophen-induced hepatotoxicity: covalent binding versus oxidative stress. Department of

Pharmacology and Toxicology, University of Arkansas for Medical Sciences, Little Rock 72205, USA. *Chem Res Toxicol.* 1996 Apr-May;9(3):580-5

42. Mcphee S., Lingappa B, Ganong W. *Fisiología Clínica: Una introducción a la fisiología clínica.* 4ª ed. Mexico: Ediciones El Manual Moderno; 2003
43. Chiu YJ, Chou SC, Chiu, CS. Hepatoprotective effect of the ethanol extract of *Polygonum orientale* on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in mice. *Journal of Food and Drug Analysis.* 2018; 26 (1): 369-379
44. Kokhdan E, Ahmadi K, Sadeghi H, Sadeghi H, Dadgary F, Danaei N, Aghamaali MR. Hepatoprotective effect of *Stachys pilifera* ethanol extract in carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in rats. *Pharm Biol.* 2017 Dec;55(1):1389-1393.

Disponible en:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28317417>

45. Sifuentes Ramos, Franz Lomedik. Efecto hepatoprotector de cucurbita maxima en *rattus norvegicus* tratadas con isoniacida. Repositorio Institucional UNITRU.2018.

Disponible en:

<http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9746>

## 9. Anexos

### 9.1 Matriz de consistencia

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	OPERACIONALIZACIÓN		METODOLOGÍA
<p><b>Problemas generales.</b></p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) tendrá efecto hepatoprotector en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática, inducida por paracetamol?</p> <p><b>Problemas específicos</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 50 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol?</li> <li>¿cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 500mg /kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol?</li> <li>¿cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 800 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol?</li> <li>¿Cuáles son los metabolitos secundarios que presenta el efecto hepatoprotector?</li> </ol>	<p><b>Objetivos Generales</b></p> <p>Determinar el efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática, inducida por paracetamol.</p> <p><b>Objetivo Específicos</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 50 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</li> <li>Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 500 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</li> <li>Evaluar el efecto del extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 800 mg /kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</li> <li>Evaluar los metabolitos secundarios que presenta el efecto hepatoprotector.</li> </ol>	<p><b>Hipótesis general</b></p> <p>El extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa), presenta efecto hepatoprotector en ratas <i>Holtzman</i> inducida por paracetamol.</p> <p><b>Hipótesis específico</b></p> <p>Tiene efectividad el extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 50 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</p> <p>Tiene efectividad el extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 500 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</p> <p>Tiene efectividad el extracto hidroalcohólico de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) a dosis de 800 mg/kg en ratas <i>Holtzman</i> con intoxicación hepática inducida por paracetamol.</p> <p>Tiene metabolitos activos que presenta el efecto hepatoprotector.</p>	<p><b>VARIABLES</b></p> <p><b>Variable independiente</b></p> <p>extracto hidroalcohólico <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa)</p> <p><b>Variable dependiente:</b></p> <p>Efecto hepatoprotector</p>	<p><b>DIMENSIONES</b></p> <p>✓ Morfología Del tejido hepático</p>	<p><b>Tipo de investigación</b></p> <p>Experimental</p> <p><b>Nivel de investigación</b></p> <p>Según la participación del investigador en el fenómeno que se estudio es experimental es aplicativo.</p> <p><b>Población</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>El universo total está comprendida por 30 ratas albinas <i>Holtzman</i>, machos adultos de 2 meses de edad, con un peso de 200 ± 250 g.</li> </ul> <p><b>Análisis de datos:</b></p> <p>Técnica de inducción a hepatotoxicidad por paracetamol.</p>

## 9.2 Instrumentos de recolección de datos

### 9.2.1 Tabla del peso de los hígados pos-mortem

<b>Grupos</b>	<b>Peso (g)</b>
Grupo I (suero fisiológico)	<b>10,27</b>
	<b>12,27</b>
	<b>8,69</b>
	<b>8,72</b>
	<b>12,55</b>
Grupo II (Paracetamol)	<b>14,19</b>
	<b>13,59</b>
	<b>15,62</b>
	<b>16,15</b>
	<b>14,90</b>
Grupo III (Silimarina)	<b>8,68</b>
	<b>10,41</b>
	<b>12,54</b>
	<b>12,26</b>
	<b>12,52</b>
Grupo VI (extracto : 50 mg/kg)	<b>14,56</b>
	<b>13,02</b>
	<b>12,78</b>
	<b>11,34</b>
	<b>13,43</b>
Grupo V (extracto : 500 mg/kg)	<b>11,78</b>
	<b>9,05</b>
	<b>12,24</b>
	<b>11,34</b>
	<b>12,06</b>
Grupo VI (extracto : 800 mg/kg)	<b>11,64</b>
	<b>12,03</b>
	<b>9,29</b>
	<b>11,15</b>
	<b>12,05</b>

### 9.2.2 Cuadro del tratamiento de experimentación

Grupos	Código	TRATAMIENTO- INDUCCIÓN										
		Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9	Día 10	
Grupo I (suero fisiológico)	1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Grupo II (Paracetamol)	6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Grupo III (Silimarina)	11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	14	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Grupo VI (extracto : 50 mg/kg)	16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	19	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	20	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Grupo V (extracto : 500 mg/kg)	21	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	22	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	23	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	24	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	25	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Grupo VI (extracto : 800 mg/kg)	26	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	27	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	28	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	29	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	30	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓

### 9.2.3 Cuadro del grado de lesión del hígado

<b>Grupos</b>	<b>Código</b>	<b>Observación de la lesión</b>
Grupo I (suero fisiológico)	1	N
	2	N
	3	N
	4	N
	5	N
Grupo II (Paracetamol)	6	I
	7	I
	8	I
	9	I
	10	I
Grupo III (Silimarina)	11	L
	12	L
	13	M
	14	M
	15	M
Grupo VI (extracto : 50 mg/kg)	16	M
	17	M
	18	M
	19	L
	20	L
Grupo V (extracto : 500 mg/kg)	21	L
	22	L
	23	N
	24	L
	25	N
Grupo VI (extracto : 800 mg/kg)	26	N
	27	N
	28	N
	29	N
	30	N

**N: NEGATIVO**

**L: EVE**

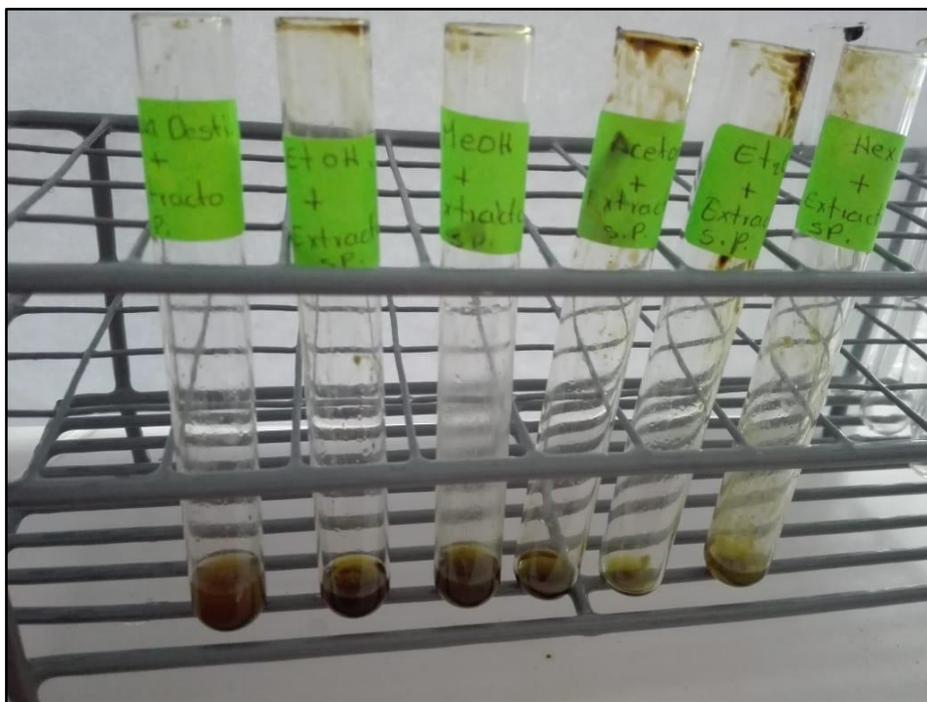
**M: MODERADA**

**S: SEVERA**

#### 9.2.4: Estudio de solubilidad

Tabla N.12: Resultados del estudio de solubilidad del *Desmodium molliculum* (“manayupa”)

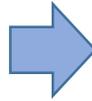
Solubles	Resultado
Agua	+++
Metanol	+++
Etanol	+++
Hexano	-
Éter	+++
Acetona	++



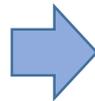
### 9.2.5: Preparación del extracto



**Planta entera**



**Separacion del tallo y hojas de la planta para el secado.**





**Planta seca**



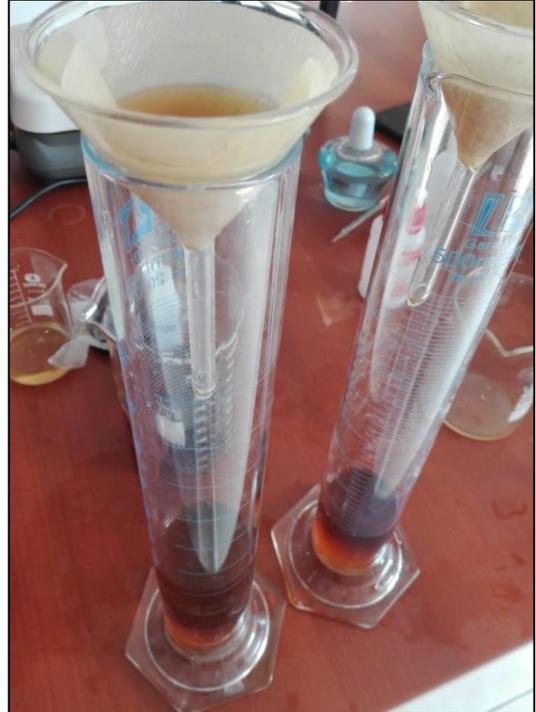
**Triturado de las hojas y el tallo de la planta**



**Macerado de la planta**



**Filtrado del extracto de la planta**



**Secado del extracto de la planta en la estufa**



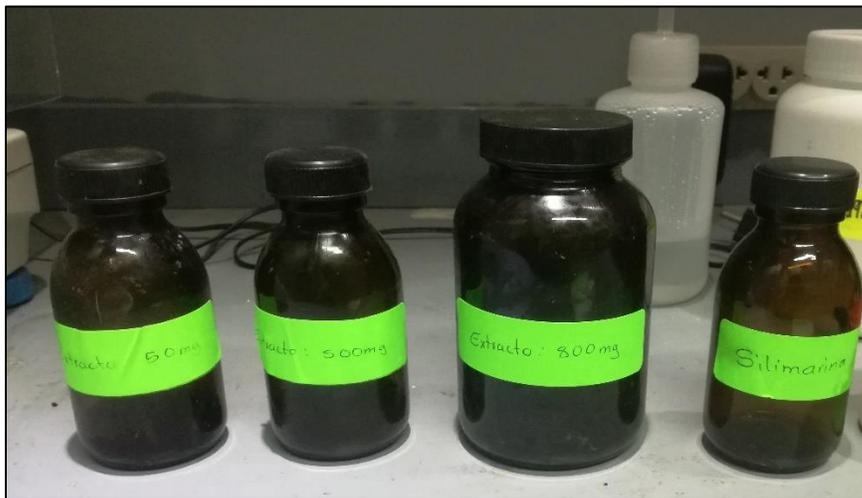
**extracto de la planta seca**



**Pesado del extracto seco**



**Preparacion para la administracion de los extractos**



**Proceso de induccion de los extractos**



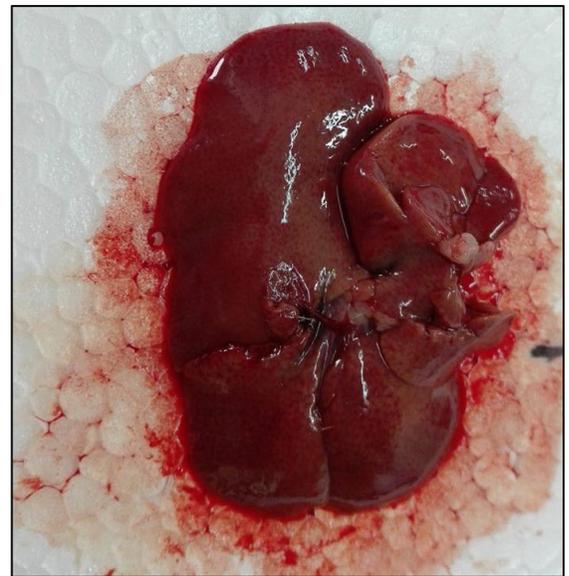
### 9.2.6: Proceso de extracción del hígado.



**Sacrificio**

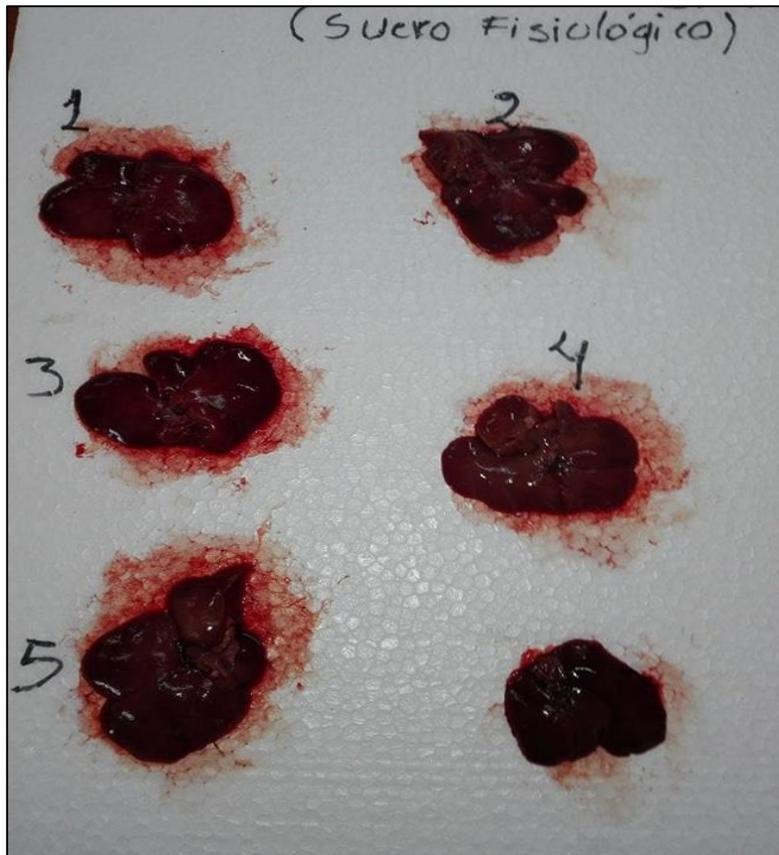


**Extracción del hígado**



9.2.6. Observación de la lesión del hígado por grupos.

Grupo 1: control negativo



**Grupo 2: control positivo**



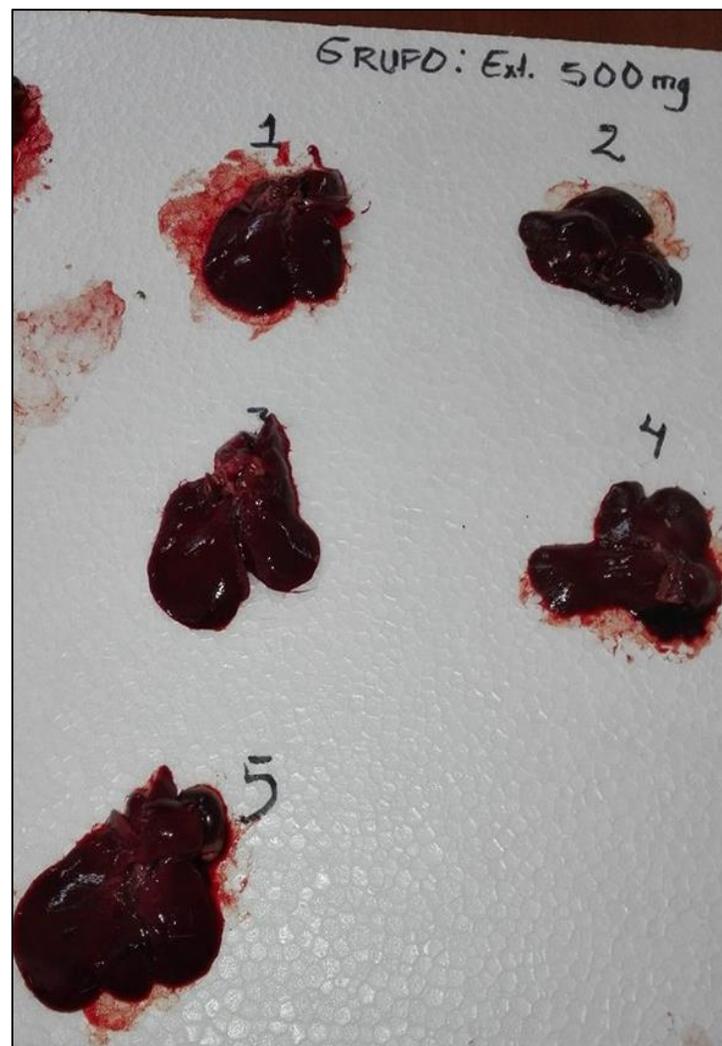
**Grupo 3: silimarina**



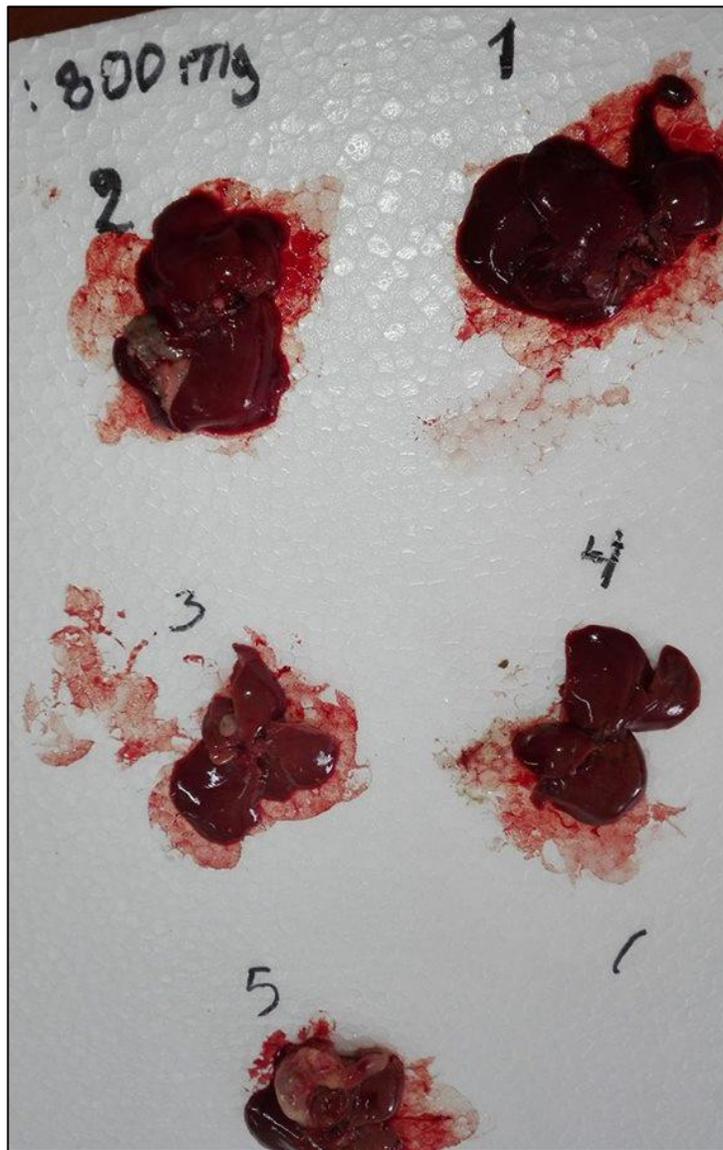
**Grupo 4: extracto de 50 mg**



**Grupo 5: extracto de 500 mg**



Grupo 6: extracto de 800 mg



## 9.2.7. Certificación de la especie vegetal.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
**MUSEO DE HISTORIA NATURAL**



---

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

**CONSTANCIA N°110-USM-2018**

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (planta fértil) recibida de Tocto Céspedes Jhomaira Karen y Saucedo Estela Pamela Yanina, estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica, de la Universidad María Auxiliadora- San Juan de Lurigancho, ha sido estudiada y clasificada como: ***Desmodium molliculum*** (Kunth) DC., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).  
**DIVISION: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: MAGNOLIOPSIDA**

**SUBCLASE: ROSIDAE**

**ORDEN: FBALES**

**FAMILIA: FABACEAE**

**GENERO: *Desmodium***

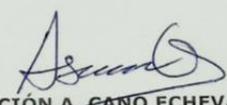
**ESPECIE: *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.**

Nombre vulgar: " Manayupa"  
Determinado por: Mag. Asunción A. Cano Echevarría

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que considere conveniente.

Lima, 04 de abril de 2018





**Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA**  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

---

Av. Arenales 1256, Jesús María  
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono:  
619-7000 anexo 5701, 5703, 5704

E-mail: [museohn@unmsm.edu.pe](mailto:museohn@unmsm.edu.pe)  
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

ANEXO N° 1

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50 – 60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....  
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....  
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....  
.....

Fecha: 05/03/2018

Validado por: Dr. RUBEN E CUENA MESTANZA

Firma: 

**ANEXO N° 1**  
**VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO**

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50 – 60 – 70 – 80 – 90 – 100				
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	( )	( )	( )	( )	( )	( ✓ )
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	( )	( )	( )	( )	( )	( ✓ )
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	( )	( )	( )	( )	( )	( ✓ )
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	( )	( )	( )	( )	( )	( ✓ )
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	( )	( )	( )	( )	( )	( ✓ )
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	( )	( )	( )	( )	( ✓ )	( )

**SUGERENCIAS**

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....  
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....  
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....  
.....

Fecha: 28-02-2018  
Validado por: Mg. Victor R. Chero Pacheco  
Firma: 

ANEXO N° 1

VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO

Después de revisado el instrumento, es valiosa su opinión acerca de lo siguiente:

	Menos de 50	50	60	70	80	90	100
1. ¿En qué porcentaje estima Usted que con esta prueba se logrará el objetivo propuesto?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
2. ¿En qué porcentaje considera que los ítems están referidos a los conceptos del tema?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
3. ¿Qué porcentaje de los ítems planteados son suficientes para lograr los objetivos?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
4. ¿En qué porcentaje, los ítems de la prueba son de fácil comprensión?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
5. ¿En qué porcentaje los ítems siguen una secuencia lógica?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)
6. ¿En qué porcentaje valora Usted que con esta prueba se obtendrán datos similares en otras muestras?	( )	( )	( )	( )	( )	( )	(✓)

SUGERENCIAS

1. ¿Qué ítems considera Usted que deberían agregarse?

.....  
.....

2. ¿Qué ítems considera Usted que podrían eliminarse?

.....  
.....

3. ¿Qué ítems considera Usted que deberán reformularse o precisarse mejor?

.....  
.....

Fecha: 09/03/2018  
Validado por: Dr. Randall Jesús Sumariá Urzúa  
Firma: 