



UMA
Universidad
María Auxiliadora

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**“EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Desmodium
molliculum* (MANAYUPA) EN *Rattus rattus*.”**

**TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

AUTORES:

MORENO HONORES, JEMINA VICTORIA

<https://orcid.org/0009-0003-0318-1310>

OSORIO BAYONA, ESPERANZA DIANA

<https://orcid.org/0009-0001-5097-2612>

ASESOR:

Mg. ALGUIAR BERNAOLA, MAGNEY SUSY

<https://orcid.org/0009-0005-1566-1607>

LIMA – PERÚ

2024

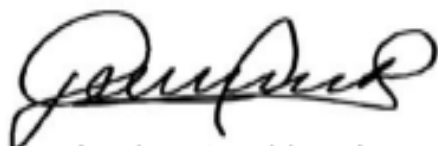
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Jemina Victoria, Moreno Honores con DNI **40964622** en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico) presentada para optar el presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico (grado o título profesional que corresponda) de título "Efecto Hepatoprotector del Extracto Etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (MANAYUPA) En *Rattus rattus*", **Autorizo** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 14% y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 01 de noviembre de 2024.



(Nombre y Firma del autor)

Autor: Jemina Victoria Moreno Honores



Mg. Alguiar Bernaola Magney Susy
Asesor de Tesis

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8º, numeral 8.2, tercer párrafo, Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

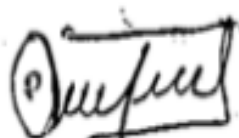
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Esperanza Diana Osorio Bayona, con DNI **73573373** en mi condición de autora de la tesis titulada "**Efecto Hepatoprotector del Extracto Etanólico de las hojas de Desmodium molliculum (MANAYUPA) En Rattus rattus**", presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de QUIMICO FARMACEUTICO", **Autorizo** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud de **14%** y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 01 de Noviembre_2024.



(Nombre y Firma del autor)

Autor: Esperanza Diana, OSORIO BAYONA



Mg. Alguar Bernaola Magney Susy
Asesor de Tesis

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8º, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

Informe De Originalidad - Turnitin

APlagio 240628 INFORME FINAL MANAYUPA

INFORME DE ORIGINALIDAD

14%	14%	8%	%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet	6%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	5%
3	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	3%
4	issuu.com Fuente de Internet	1%

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 1%

Dedicatoria

A mi esposo César Miranda Rosales por su apoyo incondicional durante todo el proceso de mi carrera, a mis hijos Sessar y Diego mis amores infinitos mi motivo para levantarme cada día y ser mejor, a mis padres Anita Victoria Honores Hidalgo y Melchor Moreno Noel, les dedico esta tesis para ustedes con todo mi amor.

Moreno Honores, Jemina Victoria

Dedico esta tesis a Dios por darme la fuerza necesaria para cumplir una de mis metas; a mis padres, Juan Osorio Vega y María Bayona Ortega por motivarme y acompañarme en cada paso que doy en la búsqueda de ser mejor persona y profesional; a mis hermanos(as) por brindarme su apoyo incondicional, espero les sirva de ejemplo que todo se puede lograr cuando uno se propone.

Osorio Bayona, Esperanza Diana

Agradecimiento

A Dios por permitirme estar fuerte con salud, a mi asesor Dr. Braulio Cisneros por guiarme en todo momento para alcanzar mis metas, a mi compañera de tesis Diana por compartir el mismo sueño gracias por tu paciencia, a mis docentes que formaron parte de mi desarrollo profesional en especial al Dr. Alfredo Hidalgo. Gracias a la vida que me regalo buenos momentos que disfruté cada etapa de mi carrera profesional y los malos momentos me dejaron grandes lecciones.

Jemina Victoria Moreno Honores

A Dios por permitir se mi guía y fortaleza durante el desarrollo académico, a mi asesor Dr. Braulio Cisneros por su inestimable orientación y apoyo continuo en el proyecto de investigación, a mi compañera de tesis Jemina por ser una persona luchadora, solidaria y por permitirme trabajar juntas para lograr nuestro objetivo, a mis profesores por las enseñanzas y su valiosa orientación durante mi formación académica.

Osorio Bayona, Esperanza Diana

Índice general

Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Índice general	viii
Índice de Figuras	ix
Índice de Tablas	x
Índice de Anexos	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
I. INTRODUCCIÓN	14
II. MATERIALES Y MÉTODOS	21
III. RESULTADOS	30
IV. DISCUSIÓN	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
ANEXOS	51

Índice de figuras

- Figura 1.** Pesos de los hígados al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus* 33
- Figura 2.** Valores promedios de colesterol total al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 34
- Figura 3.** Valores promedios de lipoproteína de alta densidad (HDL) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 35
- Figura 4.** Valores promedios de triglicéridos al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 36
- Figura 5.** Valores promedios de urea al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 37
- Figura 6.** Valores promedios de Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 38
- Figura 7.** Valores promedios de fosfatasa alcalina (FA) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*. 39

Índice de tablas

Tabla 1.	Determinación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	30
Tabla 2.	Cálculo del rendimiento porcentual al obtener el extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	31
Tabla 3.	Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	32
Tabla 4.	Análisis macroscópico de los hígados de rata	34

Índice de Anexos

Anexo A. Operacionalización de la variable	52
Anexo B. Instrumentos de recolección de datos	54
Anexo C. Evidencia del trabajo de campo (Fotos)	55

Resumen

Objetivo: Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

Material y método: La investigación fue de tipo explicativo y diseño experimental, se emplearon 30 ratas albinas distribuidas en cinco grupos (n=6), el daño hepático se indujo con 400 mg/kg de paracetamol, los grupos(G) recibieron: G1 suero fisiológico 4 mL/Kg, G2 silimarina 15 mg/kg, G3, G4 y G5 extracto en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, se evaluaron la macroscópica hepática y el perfil hepático.

Resultados: El rendimiento porcentual del extracto de manayupa fue de 8,3%, y presentó alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y esteroides triterpénicos, el mayor efecto hepatoprotector lo mostro el extracto a 200 mg/kg del extracto, manteniendo el perfil hepático dentro de los niveles normales en sangre, la evaluación macroscópica de los hígados mostró normalidad en peso, y color. La silimarina mostró ser ligeramente más eficaz que el extracto a dosis de 200 mg/kg.

Conclusiones: se concluyó que el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) tiene efecto hepatoprotector en *Rattus rattus*, con inducción de daño hepático por paracetamol.

Palabras clave: hepatoprotector, extracto etanólico, *Desmodium molliculum*, manayupa, *silimarina* (Fuente: DeCS/MeSH).

Abstract

Objective: To determine the hepatoprotective effect of the ethanolic extract of the leaves of *Desmodium molliculum* (manayupa) in *Rattus rattus*.

Material and method: The research was explanatory and experimental in design, 30 albino rats were used distributed in five groups (n=6), the liver damage was induced with 400 mg/kg of paracetamol, the groups (G) received: G1 physiological serum 4 mL/Kg, G2 silymarin 15 mg/kg, G3, G4 and G5 extract in doses of 50, 100 and 200 mg/kg respectively, the hepatic macroscopic and the hepatic profile were evaluated.

Results: The percentage yield of the manayupa extract was 8.3%, and it presented alkaloids, flavonoids, phenolic compounds, tannins and triterpene steroids. The greatest hepatoprotective effect was shown by the extract at 200 mg/kg of the extract, maintaining the hepatic profile within normal blood levels. Macroscopic evaluation of the livers showed normal weight and color. Silymarin was shown to be slightly more effective than the extract at a dose of 200 mg/kg.

Conclusions: It was concluded that the ethanolic extract of the leaves of *Desmodium molliculum* (manayupa) has a hepatoprotective effect on *Rattus rattus*, with induction of liver damage by paracetamol.

Keywords: hepatoprotector, ethanolic extract, *Desmodium molliculum*, manayupa, silymarin (Source: DeCS/MeSH).

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades hepáticas son problemas que tienen un gran impacto en el mundo y son responsables de la muerte de muchas personas al año. Se ha reportado que más del 10% de la población a nivel mundial sufre de enfermedades del hígado (1).

La exposición continua a toxinas, xenobióticos dietéticos y las complejas reacciones bioquímicas del cuerpo dan como resultado la producción de especies reactivas de nitrógeno (RON) y de las especies reactivas del oxígeno (RON). La producción descontrolada de estos compuestos, junto a la deficiencia de la producción de antioxidantes, conducen al estrés oxidativo, el cual está implicado en el desarrollo de diferentes enfermedades. Aunque hay un evidente desarrollo continuo en la medicina moderna, los problemas hepáticos, siguen siendo un tema de interés en el mundo por lo que la búsqueda de fármacos es continua (2).

Los problemas hepáticos son afecciones que vienen causando un elevado gasto al sistema de salud a nivel mundial y se incrementando con el tiempo (3). En el Perú, la cirrosis hepática, esteatosis entre otros problemas a nivel del hígado viene causando una morbilidad del 21,3 por cada 100000 habitantes, constituyéndose en el noveno puesto sobre todo en adultos de 20-60 años (4).

Hasta el momento no existe un tratamiento efectivo que brinde protección al hígado contra el daño. Se han documentado algunos antioxidantes sintéticos como tratamiento, pero estos producen toxinas o actúan como carcinógenos. Debido a esto, se ha planteado optar por otro enfoque direccionado en el uso de agentes curativos provenientes de las especies vegetales para tratar problemas hepáticos (5).

El hígado, es el órgano glandular, cuya unidad funcional son los lobulillos hepáticos, tiene la función de mantener el equilibrio metabólico del organismo, procesa aminoácidos, carbohidratos, los lípidos y también las vitaminas, sintetiza las proteínas séricas y también se encarga de la detoxificación del organismo y de la excreción de bilis para eliminar sustancias endógenas y de

los xenobióticos. Siendo vulnerable a diversas enfermedades relacionadas con el metabolismo, las sustancias tóxicas y microorganismos. El hígado tiene una doble circulación; del 70-75% de la sangre que recibe es a de la circulación portal e intestinal, mientras que un 25% de proviene de la arteria hepática que es la que aporta el oxígeno (6).

El daño hepático es un efecto adverso frecuente debido al consumo de sustancias como alimentos, medicamentos y medicina tradicional (7), siendo el paracetamol o acetaminofeno uno de los causantes del daño hepático, asociado a su venta sin receta médica, la automedicación y la falta de conocimiento del uso adecuado del fármaco conllevando a su consumo excesivo. Siendo las dosis terapéuticas de 80 mg/Kg al día en niños y de hasta 4000 mg/Kg al día en adultos (8), su sobredosificación puede producir hepatotoxicidad (9)

El paracetamol se llega a absorber rápida y completamente a nivel del duodeno y con una biodisponibilidad está entre el 60-98%. Su vida de eliminación media oscila entre dos a cuatro horas, su metabolismo es hepático, tiene una distribución en todos los tejidos y su eliminación es renal (10).

La toxicidad producida por el paracetamol es dosis dependiente. El metabolismo de paracetamol ocurre dentro a nivel microsomal hepático. Cuando se consume a dosis terapéuticas, entre el 85-90% llega a ser metabolizado de manera conjugada a sulfatos y ácido glucurónido, siendo excretados por la orina, además el 2% del paracetamol se elimina tal cual, el resto del medicamento es metabolizado por el citocromo P450 de tipo P2E1, produciendo una sustancia tóxica y reactiva llamado N-acetil-p-benzoquinoneimina (NAPQI) (11).

Dosis adecuadas paracetamol generan NAPQI en cantidad mínima y conjugada con glutatión hepático y forman sustancias tipo mercaptano y cisteína que no son dañinas y se eliminan a nivel renal. Dosis tóxicas saturan las vías de glucoronidación y sulfatación logrando desviar una mayor cantidad de paracetamol por el citocromo, llegando a metabolizar hasta NAPQI. Al

acabarse el glutatión como reserva hepática entre 70-80%, el NAPQI se forman los enlaces covalentes de tipo sulfhidrilo a nivel de los aminoácidos cisteína y lisina, lo que conlleva a la formación de aductos proteicos que disminuyen la función de las mitocondrias, provocando daño oxidativo, conllevando a la necrosis hepatocelular (12)

Para diagnosticar daño hepático se emplean marcadores como la alanina aminotransferasas (ALT), aspartato aminotransferasas (AST), fosfatasa alcalina (FA), gamma-glutamiltanspeptidasa (γ -GTP), albúmina, bilirrubina, y la actividad de la protrombina. Las últimas tres describen la función hepática, el resto son indicadores de daño hepático (13). En el daño hepático se elevan ALT en relación a la AST, causando un cambio a nivel de la permeabilidad de las membranas celulares, y si domina la AST indicará la destrucción de las mitocondrias, que es un indicador irrefutable de una lesión a nivel celular (14).

La silimarina es un compuesto de tipo flavonoide, la misma que se extrae de los frutos y semillas de la especie vegetal *Silybum marianum* (cardo mariano), contiene silicristina, silidianina y silibinina y es empleado de manera tradicional para tratar intoxicaciones producidas hongos venenosos como *Amanita phalloides*, también se emplea como un regenerador celular hepático, inhibe los leucotrienos y tiene un efecto antioxidante. Dentro de sus propiedades terapéuticas tenemos que es un inhibidor de la formación de radicales libres, es un inductor del citocromo P450 a nivel de los microsomas, provocando la desmetilación del para-nitrosanisol, además de presentar un efecto estabilizador de la membrana del hepatocito. (15)

La especie vegetal *Desmodium molliculum* se encuentra clasificada según la taxonomía de Cronquist (1988) (16) como:

REINO: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Sub Clase: ROSIDAE

Orden: FABALES

Familia: FABACEAE

Género: Desmodium

Especie: *Desmodium molliculum*

La especie vegetal *Desmodium molliculum* es conocida como manayupa, habita en los Andes del Perú, es una hierba perenne con 45 cm de altura. Tiene su tallo ramificado, crece postrado sobre el suelo, sus hojas son compuestas, presentan estipulas, curvadas y puntiagudas, su base es asimétrica y acorazonada, sus flores son agrupadas sobre su eje, en forma de racimo. Su fruto es linear divide en 4-5 piezas y presenta semillas color café (17)

Tradicionalmente se emplea la planta completa de *Desmodium molliculum* en estado seco o fresco en forma de infusión y decocto para tratar enfermedades inflamatorias, toxicidad hepática, diarrea, dolor estomacal, gastritis, inflamación de ovarios y de manera tópica como emplastos para la limpieza y cicatrización de heridas superficiales (18).

Las propiedades terapéuticas de *Desmodium molliculum* está asociado a la presencia componentes activos como el ácido gálico y cinámico, almidón, taninos, sales de aluminio, gomas, vitamina K, calcio, carotenoides, rivo flavina, tiamina, ceras, aminoácidos libres, fenoles, flavonas, esteroides, terpenoides, saponinas y antocianidinas (19).

Mestanza E. (2022), realizaron un estudio, donde evaluaron una mezcla de plantas medicinales y de vitaminas (PROTHEPA®) para evaluar la hepatoprotección en ratas con daño hepático por paracetamol”, realizado en Rioja-España, así mismo los parámetros evaluados fueron el perfil hepático. Encontramos que las ratas del grupo paracetamol incrementaron las transaminasas como la glutámico pirúvico (80,20 mg/dl), bilirrubina total (0,39 mg/dl), y reducción de proteínas totales (4,82 mg/dl). Además, PROTHEPA® a dosis de 100 y 500 mg/kg de peso, los mismos que mostraron valores

normales del perfil hepático, Se pudo concluir que la mezcla PROTHEPA® presentó efecto hepatoprotector en ratas (20).

Peralta-Adauto et al (2021). Realizó un estudio de revisión relacionado a la actividad hepatoprotectora y antiinflamatoria de diversos extractos vegetales empleados en la ciudad de Hidalgo-México, destacando entre ellos las especies como *Ocimum basilicum* (albahaca), *Allium sativum* (ajos), *Musa paradisiaca* (plátano), *Daucus carota* (Zanahoria), *Caesalpinia spinosa* (tara), *Curcuma longa* (cúrcuma), *Petroselinum sativum* (perejil), etc., los factores asociados a padecer de enfermedades hepáticas e inflamatorias fueron el estilo de vida, uso irresponsable de fármacos, consumo elevado de grasas, donde los tratamientos al contener compuestos bioactivos como los flavonoides y compuestos fenólicos por su capacidad antioxidante y quelante de metales, por ende ser antiinflamatorias y hepatoprotectoras (21).

Gato M, et al (2021), realizaron una investigación donde evaluaron el efecto hepatorestaurador de *Cúrcuma longa* ante la intoxicación por paracetamol en Pinar del Río – Cuba. La investigación fue de revisión bibliográfica encontrándose que el daño hepático por paracetamol depende de la dosis administrada modulando las funciones hepáticas asociadas a la presencia de curcumina, debido a su propiedad antioxidante, Según el resultado se concluyó que la Cúrcuma tiene es hepatoprotectora frente diversas sustancias nocivas de tipo químicas y medicamentos empleados de manera frecuente como el paracetamol asociado a la presencia de la curcumina (22).

Estela Y. (2019), realizó un estudio donde evaluó la actividad hepatoprotectora del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas con inducción de daño hepática por paracetamol en Lima-Perú. Se formaron seis grupos los que estuvieron conformados por cinco ratas, el G1 recibió solución salina 10 mL/kg; el G2 silimarina 100 mg/kg; los G3, G4 y G5 recibieron el extracto hidroetanólico de manayupa en dosis de 50.00, 500.00 y 800.00 mg/kg, los tratamientos se administraron por 10 días empleando una sonda orogástrica: El día seis se provocó la hepatotoxicidad por paracetamol 400 mg/kg vía oral, y una hora posterior se realizó la administración de los tratamientos durante diez días. Los resultados

mostraron que el extracto de manayupa a dosis de 500 y 800 mg/kg presentaron mayor efecto hepatoprotector. Según lo encontrado se concluye que el extracto de manayupa presenta eficacia hepatoprotectora (23).

Frisancho M. (2022), realizó un estudio que consistió en evaluar el efecto del extracto acuoso y etanólico de las flores y hojas de malva silvestre (*Lavatera arbórea*) sobre la hepatoprotección en *Mus musculus*, en la ciudad de Cusco-Perú. Se trabajó con 35 ratones albinos. Según el resultado encontramos que el extracto acuoso empleado logró una buena protección ya que se observó un daño hepático leve (14,3%), así mismo el extracto etanólico logró un daño hepático menor (8,6%), se concluyó que los extractos de malva silvestre ensayados tienen efecto protector hepático (24).

Gordillo G. (2019), realizó un estudio, donde evaluó el efecto protector del *Desmodium molliculum* (manayupa) en, Lima-Perú. Se utilizaron 36 ratas divididas en seis grupos iguales, donde el control recibió suero fisiológico, un grupo que recibió como inductor del daño hepático el naproxeno 27,38 mg/rata; un grupo estándar farmacológico que recibió silimarina 100mg/kg y tres grupos que recibieron el extracto de manayupa en dosis de 80, 160 y 240 mg/kg, el naproxeno se administró por vía oral durante 14 días. El grupo naproxeno perdió peso (180,7 g), el grupo extracto 240 mg/kg mantuvo los niveles de perfil hepático dentro de los parámetros aceptables (Bilirrubina, transaminasas). Se concluyó que el extracto de manayupa presentó eficacia protectora hepática frente al daño hepático ocasionado por naproxeno en ratas (25).

El presente trabajo, teóricamente brindó un aporte científico, contribuyendo al conocimiento relacionado al uso del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) como una posible alternativa medicinal para proteger el hígado de sustancias tóxicas.

Asimismo, tuvo impacto social ya que brindara un producto medicinal eficaz, de bajo precio y disponible ya que el *Desmodium molliculum* (manayupa) es una especie vegetal muy conocida y empleada por la población.

Por lo expuesto el objetivo general del estudio fue:

- Determinar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en ratas *Rattus rattus*.

La hipótesis planteada para el desarrollo de la investigación es la siguiente:

Hipótesis general:

- El extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) presenta efecto hepatoprotector en *Rattus rattus* variedad albina.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

Tipo

Explicativo: Ya que se buscó determinar el porqué de los hechos en base a la relación causa – efecto (26), en nuestra investigación se buscó relacionar las diferentes dosis del extracto manayupa y el efecto hepatoprotector frente a ratas albinas con daño hepático inducido por paracetamol.

Diseño

Experimental: El investigador manipuló la variable independiente (extracto etanólico de las *Desmodium molliculum* (manayupa), para determinar el efecto de la variable dependiente (efecto hepatoprotector) buscando encontrar una alternativa terapéutica a un problema de salud (daño hepático) (27).

2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

Población

Población biológica

Especie vegetal: estuvo conformada por plantas de la especie *Desmodium molliculum* (manayupa), procedentes del distrito de Masin, provincia de Huari, región Áncash, Perú.

Población experimental

Especie animal: La población animal estuvo conformada por *Rattus rattus* variedad albina cepa Holtzman, hembras con un peso promedio entre 180 ± 20 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud – INS, Lima-Chorrillos.

Muestra

Muestra vegetal

Especie biológica: La muestra vegetal estuvo conformada por 2 kg de hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa), procedentes del distrito de Masin, provincia de Huari, región Áncash, Perú.

Muestra experimental

Especie animal: La muestra estuvo conformada por 30 *Rattus rattus* variedad albina cepa Holtzman, hembras con un peso promedio entre 180 ± 20 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud – INS, Lima-Chorrillos.

Muestreo

El muestreo fue probabilístico, ya porque cada miembro que conforma la población tuvo la misma probabilidad de ser seleccionado y participar en la experimentación (29).

Muestreo vegetal

Especie biológica: La muestra vegetal recopilada consistente en hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) fueron seleccionadas en una caja de plástico, luego fueron seleccionadas teniendo en cuenta las de mejor aspecto, las hojas enteras y frescas, fueron lavadas para ser extendidas en sobres de papel craft con perforaciones y se colocaron en un horno de bandejas a 40°C hasta peso constante.

Muestreo experimental

Especie animal: La muestra animal estuvo conformada por 30 ratas albinas, también conocidas como *Rattus rattus*; siendo seleccionadas de manera aleatoria, se conformaron cinco grupos de seis ratas. Por otra parte, las ratas se sometieron a las condiciones de acondicionamiento y aclimatación por un periodo de siete días, con la finalidad de una mejor adaptación al entorno ambiental; a su vez este periodo se mantuvo bajo observación constante.

Criterios de inclusión

Muestra de carácter animal:

- *Rattus rattus* variedad albina de la cepa Holtzman.
- *Rattus rattus* variedad albina que estuvieron dentro del rango de peso promedio de 180 ± 20 g.
- *Rattus rattus* variedad albina hembras.
- *Rattus rattus* variedad albina sanas.

Muestra de carácter vegetal:

- Hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) bien conservadas.

Criterios de exclusión

- La muestra de carácter animal excluyó a *Rattus rattus* enfermas o en estado de preñez. Así como ratas que presentaron malformaciones congénitas o con lesiones evidentes.
- La muestra vegetal excluirá Hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) con hongos o de color marrón a pardo.

2.3 VARIABLES DE ESTUDIO

Variable Independiente

Extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa):

Definición conceptual: El extracto etanólico se define como una sustancia conseguida por maceración de las hojas trituradas de manayupa con una solución de etanol de 96° de concentración a temperatura ambiente por siete días, luego se filtrará y eliminará el solvente en un secador de bandejas a 40°C hasta lograr el peso constante y su residuo logrado será conservado en un recipiente de vidrio y refrigerado a una temperatura de 5°C, el mismo que será denominado como extracto etanólico (30).

Definición operacional: El extracto de manayupa fue administrado a las ratas albinas en dosis de 50, 100 y 200 mg/kg de peso del animal, lo que permitió evaluar la actividad protectora frente al daño hepático.

Variable dependiente:

Efecto hepatoprotector.

Definición conceptual: Las sustancias hepatoprotectoras, protegen al hígado de agentes externos como el alcohol o de alimentos ricos en grasas, radicales libres, sobre buscan mejorar el buen funcionamiento hepático (31).

Definición operacional: El efecto hepatoprotector se verificó con la medición de las masas de hígados, características hepáticas y los valores del perfil hepático.

2.4 TÉCNICA E INSTRUMENTO DE MEDICIÓN

Las técnicas e instrumentos a emplear fueron:

- Tabla para la determinación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).
- Tabla de identificar los metabolitos secundarios que contiene el extracto hidroalcohólico de hojas *Desmodium molliculum* (manayupa).
- Tabla de tratamientos con extracto hidroalcohólico de hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) por grupos experimentales.
- Tabla para la descripción de la observación de la microscopía hepática en *Rattus rattus*.

2.5 PROCESAMIENTO PARA RECOLECCIÓN DE DATOS

Los procedimientos que se emplearán para recopilar la información serán los siguientes:

2.5.1 Recolección de la muestra:

La muestra fue recolectada en el departamento de Ancash, Masin, provincia de Huari, región Áncash, durante el mes de febrero del 2024.

2.5.2 Obtención del extracto hidroalcoholico de hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa):

Las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) fueron lavadas, secadas y seleccionadas, luego se pesó dos kilogramos de las hojas frescas, y se llevó a secar en un horno de bandejas a una temperatura de 40 °C, durante siete días, luego se pulverizó la muestra empleando un molino eléctrico de cuchillas, posteriormente se colocó en un balón de vidrio de fondo redondo y se maceró la muestra con etanol de 96°C (Figura N°2).

Para macerar las hojas pulverizadas se realizó con una solución de etanol al 96%, la cantidad de alcohol agregado se agregó en cantidad suficiente con un sobrenadante de unos 3 cm sobre la muestra pulverizada y se colocó en un balón transparente y se mantuvo en la oscuridad (recibiendo movimientos diarios para asegurar una extracción homogénea de los metabolitos secundarios) y cada 7 días se filtró para quedarnos con el líquido, esta actividad de agregar alcohol se realizó hasta en tres veces sucesivas para evitar que el solvente extraiga componentes no deseados, una vez colectado el solvente se colocó en una fuente de vidrio y se llevó a un horno de bandejas para eliminar el solvente hasta que se mantuvo el peso de la muestra. Finalmente, el residuo obtenido se denominó como extracto etanólico, lo cual se guardó en un recipiente de vidrio con tapa y se colocó en refrigeración hasta su disolución y uso (32). El rendimiento porcentual se halló relacionando la cantidad de extracto obtenido cada 100 g de hojas empleadas.

2.5.3 Porcentaje de rendimiento

Se empleó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento:

$$\%R = (CEO / CME) * 100$$

Donde:

% R: Rendimiento porcentual.

CEO: Extracto obtenido (gramos).

CME: Muestra empleada (gramos).

2.5.4. Prueba de solubilidad y marcha fitoquímica.

Análisis de solubilidad

La solubilidad estuvo expresada como la cantidad en gramos del soluto por cada 100 gr de disolvente a una determinada temperatura.

Prueba de solubilidad

Se colocó 5 mg del extracto puro por cada tubo de ensayo, luego se añadió 1 mL de diferentes solventes como etanol, metanol, agua, cloroformo, acetona, acetato de etilo y éter de petróleo y se procedió a anotar los resultados como soluble, medianamente soluble e insoluble (33).

Tamizaje Fitoquímico

Para identificar los componentes bioactivos, se siguió el método sugerido por Lock de Ugaz, donde colocamos 30 mg del extracto seco en 20 mL de etanol, dicha solución fue distribuida en tubos de ensayo en cantidad de 1 mL y se les practicó las reacciones de determinación fitoquímica (34):

- a. **Identificación de alcaloides (*Ensayo de Dragendorff*):** Se agregaron III gotas del reactivo de Dragendorff, el que fue positivo al aparecer un precipitado rojo ladrillo.

- b. Identificación de flavonoides (*Ensayo de Shinoda*):** Se agregó una pequeña cantidad de limaduras de Mg, además de III gotas HCl, fue positivo, cuando la solución toma coloración amarilla, carmelita, rojo intenso o anaranjado.
- c. Identificación de fenoles (*Ensayo de Cloruro Férrico FeCl₃ al 10%*):** Se agregaron III gotas de FeCl₃ 10%, se consideró positivo al aparecer un precipitado de color rojo, azul-violeta o verde.
- d. Identificación de taninos: *Ensayo de Gelatina*:** Se agregaron III gotas de FeCl₃ 10%, se consideró positivo cuando aparece un color verde oscuro (taninos catéquicos) o un color azul oscuro (taninos gálicos).
- e. Identificación de Esteroides y/o triterpenoides (*Ensayo Liebermann–Burchard*):** Se agregaron V gotas de ácido acético CH₃COOH además de V gotas de anhídrido acético, luego I gota de ácido sulfúrico H₂SO₄ (CC), se consideró positivo al aparecer un de color rojo-marrón o anillo color verde.

2.5.5. Condicionamiento de la unidad de análisis:

Las ratas fueron distribuidas de manera aleatoria en cinco grupos de seis ratas por grupo, con un peso promedio de 180±20 gramos, se sometieron a un proceso de aclimatación de siete días, y se mantuvieron en caja plásticas con tapa de metal, en un ambiente de temperatura constante de 20°C, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, recibieron alimento balanceado ratonina más agua de grifo, 24 horas antes de la experimentación se les sometió a ayunas disponiendo sólo de agua a libertad.

2.5.6. Tratamiento e inducción a la hepatotoxicidad

El modelo farmacológico para evaluar la actividad hepatoprotectora en ratas con daño hepático causado por paracetamol fue el sugerido por Ochoa et al., 2018 (35).

Las ratas fueron divididas de manera aleatoria y distribuidas en cinco grupos de seis ratas cada grupo, donde:

- Grupo 1: recibirá paracetamol 400 mg/kg más solución salina fisiológica 4 mL/Kg por vía oral.
- Grupo 2: recibirá paracetamol 400 mg/kg más el fármaco silimarina 15 mg/kg por vía oral.
- Grupo 3: recibirá paracetamol 400 mg/kg más extracto de *Desmodium molliculum* (manayupa) 50 mg/kg por vía oral.
- Grupo 4: recibirá paracetamol 400 mg/kg más extracto de *Desmodium molliculum* (manayupa) 100 mg/kg por vía oral.
- Grupo 5: recibirá paracetamol 400 mg/kg más extracto de *Desmodium molliculum* (manayupa) 200 mg/kg por vía oral.

El daño hepático fue inducido con paracetamol en una cantidad de 400 mg/kg por vía oral y por un tiempo de cinco días y después de una hora se administraron los tratamientos. Pasado los cinco días los especímenes fueron anestesiados con 30 mg/Kg de pentobarbital sódico (PS) por vía intraperitoneal (IP) y se les extrajo una muestra sanguínea por punción cardiaca, la que sirvió para realizar el análisis de bioquímica sanguínea (urea, colesterol total, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad, transaminasa glutámico pirúvica, fosfatasa alcalina). Finalmente, las ratas fueron eutanizadas en condiciones éticas con menores niveles de sufrimiento, empleando para tal fin el anestésico PS 100 mg/kg vía I.P para la evaluación macroscópica de los hígados.

2.6 MÉTODOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos recopilados fueron analizados y descritos, aplicando el análisis descriptivo (36). Para tal fin se empleó el programa estadístico SPSS versión libre para estudiantes, considerando una confiabilidad del 95%, Los datos fueron expresados en figuras y tablas.

2.7 ASPECTOS ÉTICOS

- Las investigaciones, logran aportes importantes a la humanidad las que se fundamentan en preceptos éticos bajo los principios, normativas y disciplinas a nivel mundial. Así mismo el presente trabajo fue sometido a una rigurosa revisión, evaluación y aprobación por parte de un Comité de Ética en Investigación de la Universidad María Auxiliadora (CIEI-UMA), cuya finalidad fue asegurar el cumplimiento de los aspectos éticos.
- Nuestra investigación fue experimental y empleó *Rattus rattus* las mismas que necesitaron ser manipuladas, alojamiento, administración de fármacos y toma de muestras, actos que podrían generar estrés y dolor, debido a ellos se tomarán las medidas adecuadas para un adecuado alojamiento, alimentación y manipulación del espécimen, considerando en todo momento el afecto y respeto por el espécimen empleado.
- Además, debido a la necesidad de realizar tomas de muestras (hígados) las ratas fueron eutanizadas, administrándose una sobre dosis del anestésico pentobarbital sódico, lo cual evitó el dolor y alguna experiencia desagradable.
- Es importante recalcar que los trabajos experimentales con animales implican responsabilidad, trato adecuado del espécimen y gratitud, ya que es un factor decisivo para el cumplimiento de nuestros objetivos (37).

III. RESULTADOS

3.1 Resultados sobre la identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) relacionados con el efecto hepatoprotector en *Rattus rattus*.

Tabla 1. Determinación de la solubilidad del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

Solvente	Resultado
Etanol (polar)	(++)
Metanol (polar)	(++)
Agua (polar)	(++)
Acetato de etilo (moderadamente polar)	(++)
Acetona (apolar)	(+++)
Cloroformo (apolar)	(+++)
Éter (apolar)	(+++)

Dónde: soluble = (+++), moderadamente soluble = (++) , poco soluble = (+), insoluble = (-).

En la tabla 1 Se observa que el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* es abundantemente soluble, en los solventes orgánicos de acetona, cloroformo y éter, sin embargo, es moderadamente soluble en acetato de etilo, agua, metanol y etanol

Tabla 2. Cálculo del rendimiento porcentual al obtener el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

Cantidades de extracto obtenido y muestra empleada	Cálculo del rendimiento porcentual (%R)
- CEO = 8,3 g	$\%R = (CEO / CME) * 100$
- CME = 100 g	$\%R = (8,3 \text{ g} / 100 \text{ g}) * 100$
	$\%R = 8,3 \%$

Dónde: % R: Rendimiento porcentual, CEO: Cantidad de extracto obtenido (gramos), CME: Cantidad de muestra empleada (gramos).

En la tabla 2. Se muestra la cantidad de extracto etanólico obtenido a partir de la muestra inicial hojas pulverizadas de *Desmodium molliculum* (manayupa), donde por cada 100 gramos de hojas pulverizadas de manayupa se obtuvo 8,3 gramos de extracto etanólico, siendo el rendimiento porcentual del 8,3%.

Tabla 3. Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

Reactivo	Grupo funcional	Coloración	Resultado
Dragendorff	Alcaloides	Precipitado rojo ladrillo	(++)
Shinoda	Flavonoides	color amarillo, carmelita, naranja, o rojo intenso.	(+++)
Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	precipitado rojo, azul-violeta o verde.	(+++)
Gelatina	Taninos	-Verde oscuro (taninos catéquicos) - Azul oscuro (taninos gálicos).	(++)
Liebermann–Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	rojo-marrón o anillo color verde.	(+)

Dónde: Abundante: (+++), moderado (++) , poco (+), ausencia (-)

Tabla 3. En la marcha fitoquímica realizada se observó de forma cualitativa los siguientes metabolitos secundarios; alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y esteroides triterpénicos. En presencia abundante resaltan los flavonoides y compuestos fenólicos, en presencia moderada; alcaloides y taninos; mientras que los esteroides triterpénicos se observan en poca cantidad. Los cuales serían los responsables del efecto hepatoprotector.

3.2 Resultados sobre la determinación de la dosis del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) que presenta mayor efecto hepatoprotector en *Rattus rattus*.

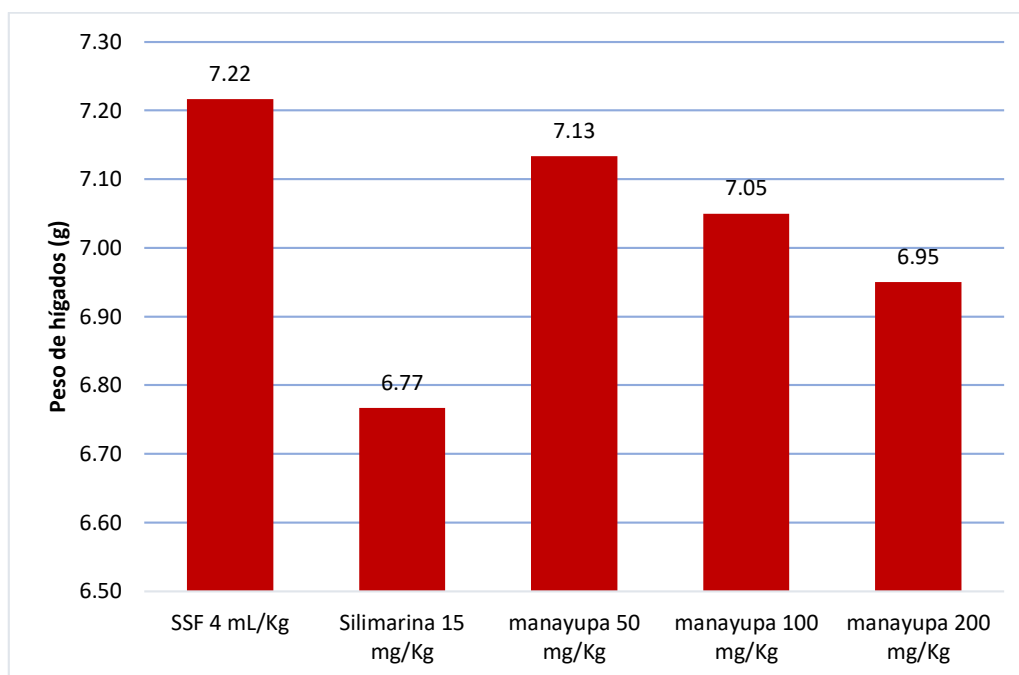


Figura 1: Pesos de los hígados al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

Figura 1. Se observa el peso promedio de los hígados al culminar la etapa experimental, encontrándose que el grupo que recibió el paracetamol más el suero fisiológico presentaron un peso de 7,22 gramos; así mismo el grupo que recibió el paracetamol más la silimarina redujo el peso promedio hasta 6,77 gramos; mientras que los grupos que recibieron el paracetamol más el extracto redujeron gradualmente el peso en relación al grupo suero fisiológico, siendo de 7,13 gramos (manayupa 50 mg/kg), 7,05 gramos (manayupa 100 mg/kg) y de 6,95 gramos (manayupa 200 mg/kg).

Tabla 4. Análisis macroscópico de los hígados de rata.

Grupos experimentales	Características
G1: SSF 4 ml/kg + Paracetamol 400 mg/kg	<ul style="list-style-type: none">• Color rojo pálido• Puntos blanquecinos
G2: Silimarina 15 mg/kg + Paracetamol 400 mg/kg	<ul style="list-style-type: none">• Color rojo-marrón pálido.• Sin puntos blanquecinos• Sin lesiones aparentes.
G3: manayupa 50 mg/kg + Paracetamol 400 mg/kg	<ul style="list-style-type: none">• Color rojo.• Aspecto liso.• Sin lesiones aparentes
G4: manayupa 100 mg/kg + Paracetamol 400 mg/kg	<ul style="list-style-type: none">• Color rojo.• Aspecto liso.• Sin lesiones aparentes
G5: manayupa 200 mg/kg + Paracetamol 400 mg/kg	<ul style="list-style-type: none">• Color rojo-marrón oscuro.• Sin puntos blanquecinos• Sin lesiones aparentes.

Tabla 4. Se describen la característica de los hígados al culminar la experimentación, encontrándose que en el grupo que recibió el suero fisiológico, el paracetamol logró causar daño caracterizado por la aparición de un color rojo pálido y puntos blanquecinos diseminados sobre el hígado, así también en el grupo que recibió la silimarina, se observó un nivel de protección conservando ligeramente la coloración inicial y sin puntos blanquecino ni lesiones aparentes, finalmente en los tratamientos con manayupa los grupos que recibieron 50 mg/kg y 100 mg/kg y se observó una protección relativa con una coloración roja aspecto liso y sin lesiones aparentes, mientras que el grupo manayupa 200 mg/kg presentó mayor eficacia al recuperar la coloración a un rojo-marrón, sin puntos blanquecinos y sin lesiones aparentes.

3.3 Resultado sobre el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

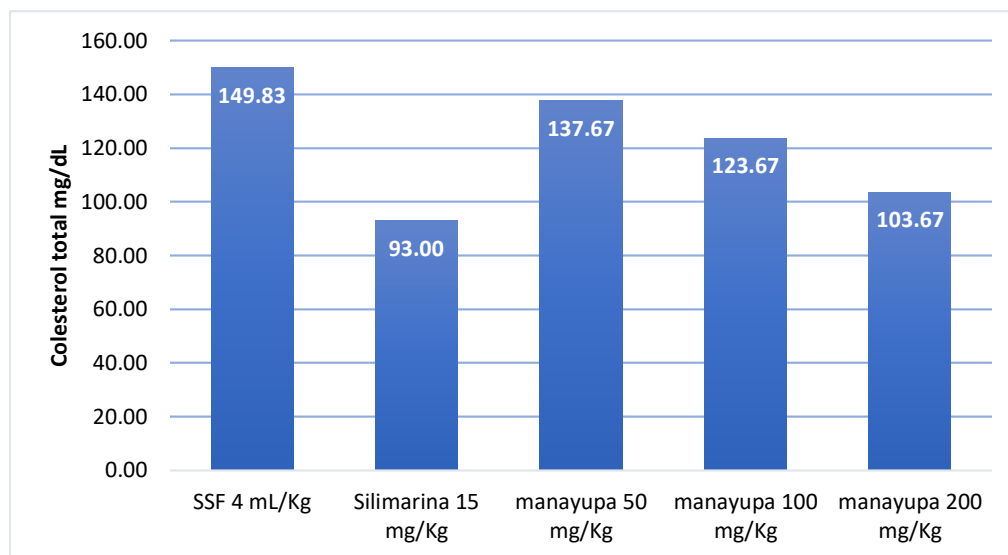


Figura 2. Valores promedio de colesterol total al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 2. Muestra los niveles de colesterol total en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico muestra valores de 149,83 mg/dl, mientras que la silimarina redujo el colesterol total hasta 93 mg/dl y los tratamientos con el extracto de manayupa lograron reducir dichos valores de manera dosis dependiente menores a 137,67 mg/dl, aunque los valores de todos los grupos estuvieron por debajo de los 200 mg/dl, manteniéndose dentro de los parámetros normales.

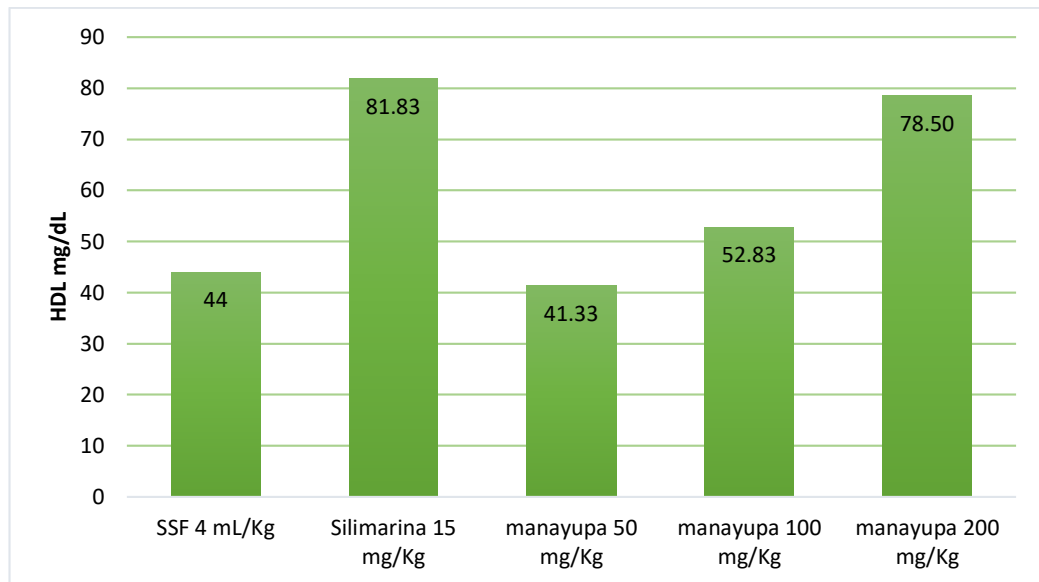


Figura 3. Valores promedios de lipoproteína de alta densidad (HDL) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 3. Muestra los niveles de lipoproteína de alta densidad en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico muestra valores de 44,83 mg/dl, mientras que la silimarina redujo el HDL hasta 81,83 mg/dl y los tratamientos con el extracto de manayupa lograron reducir dichos valores de manera dosis dependiente siendo sus valores de 41,33 mg/dl, 52,83 mg/dl y 78,50 mg/dl para el extracto de manayupa a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, aunque los valores de todos los grupos estuvieron sobre los 40 mg/dl, manteniéndose dentro de los parámetros normales.

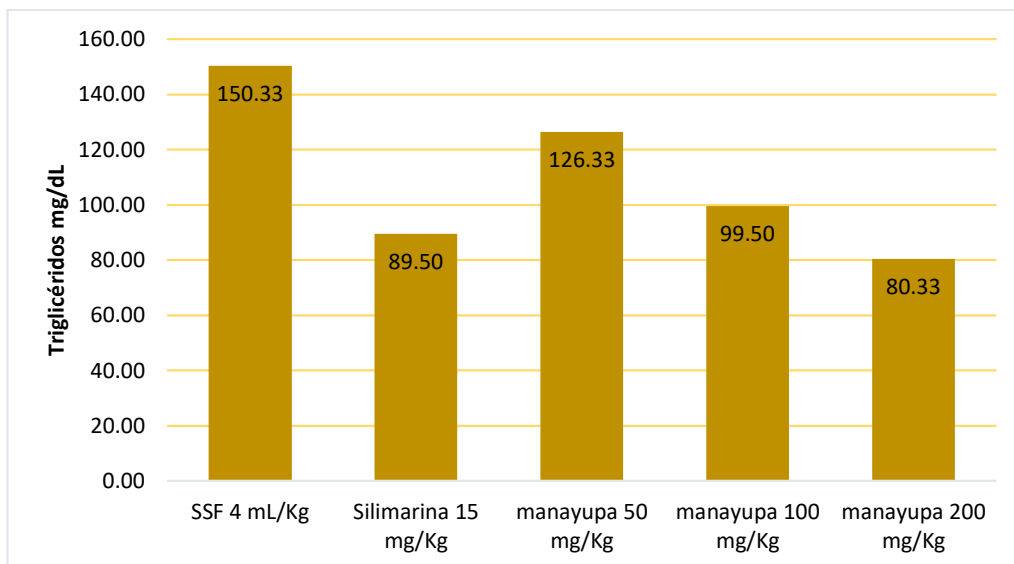


Figura 4. Valores promedios de triglicéridos al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 4. Muestra los niveles de triglicéridos en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico mostró valores de 150,33 mg/dl, el mismo que se encuentra dentro de los límites superiores mientras que el grupo que recibió la silimarina los niveles de triglicéridos hasta 89,50 mg/dl y los tratamientos con el extracto de manayupa lograron reducir dichos valores de manera dosis dependiente siendo sus valores de 126,33 mg/dl, 99,50 mg/dl y 80,33 mg/dl para el extracto de manayupa a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, aunque los valores de todos los grupos estuvieron bajo los 150 mg/dl, manteniéndose dentro de los parámetros normales.

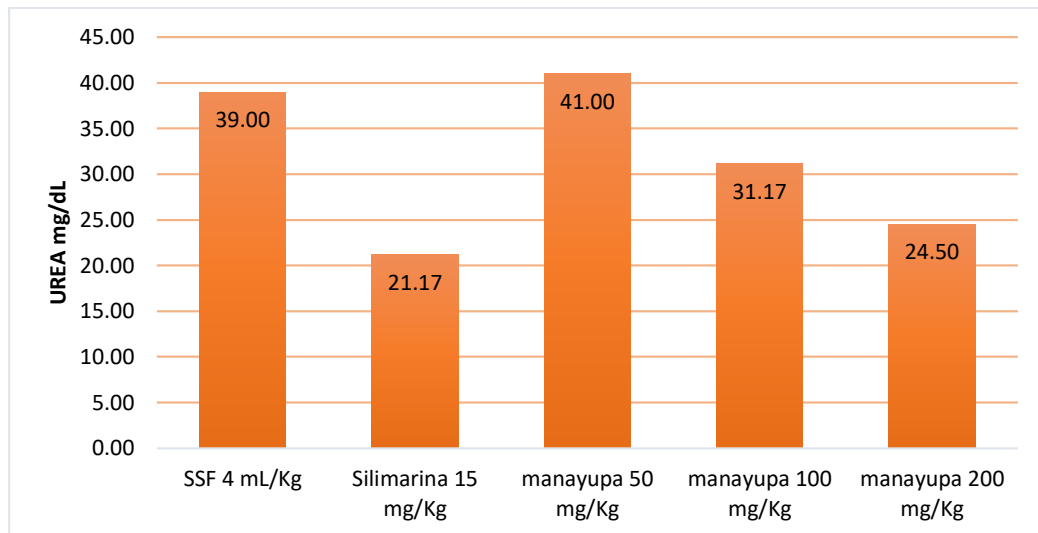


Figura 5. Valores promedios de urea al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 5. Muestra los niveles urea en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico mostró valores elevados de urea, siendo de 39 mg/dl, así mismo el grupo que recibió la silimarina mostró niveles de 21,17 mg/dl y los tratamientos con el extracto de manayupa lograron reducir dichos valores de manera dosis dependiente, siendo sus valores de 41 mg/dl, 31,17 mg/dl y 24,50 mg/dl para el extracto de manayupa a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, siendo los valores normales de 6-24 mg/dL, los grupos experimentales presentaron valores fuera de los parámetros aceptables, sin embargo la tendencia favorable a la reducción de estos niveles.

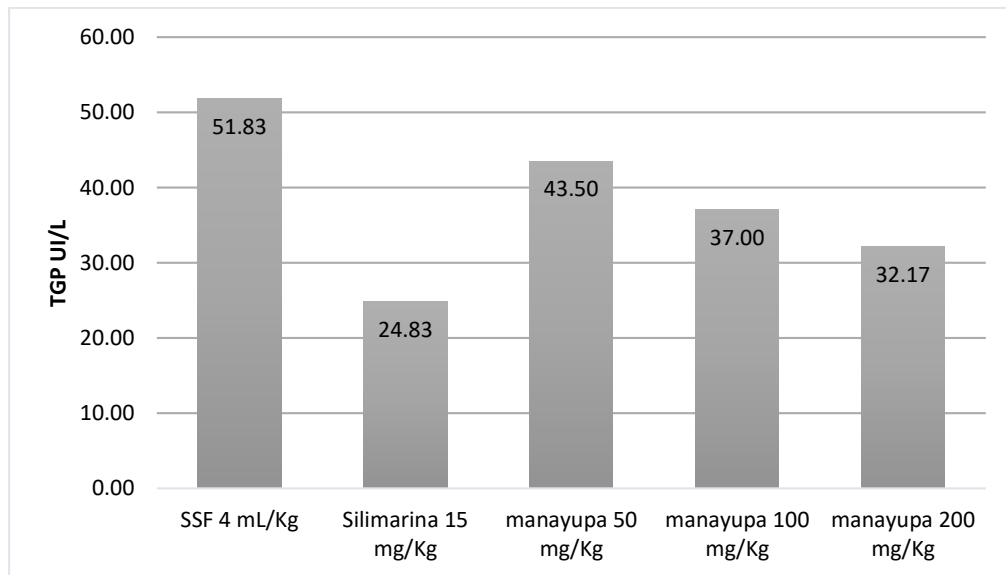


Figura 6. Valores promedios de Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 6. Muestra los niveles de transaminasa glutámico pirúvica (TGP) en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico mostró valores elevados de TGP, con 51,83 UI/L, mientras que el grupo que recibió la silimarina los niveles de TGP fueron de 24,83 UI/L, mientras que los grupos que recibieron el extracto de manayupa redujeron los valores de TGP de 43,50 UI/L, 37,00 UI/L y 32,17 UI/L para el extracto de manayupa a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, todos los grupos estuvieron dentro de los parámetros de 4 -36 UI/L, manteniéndose dentro de los parámetros normales.

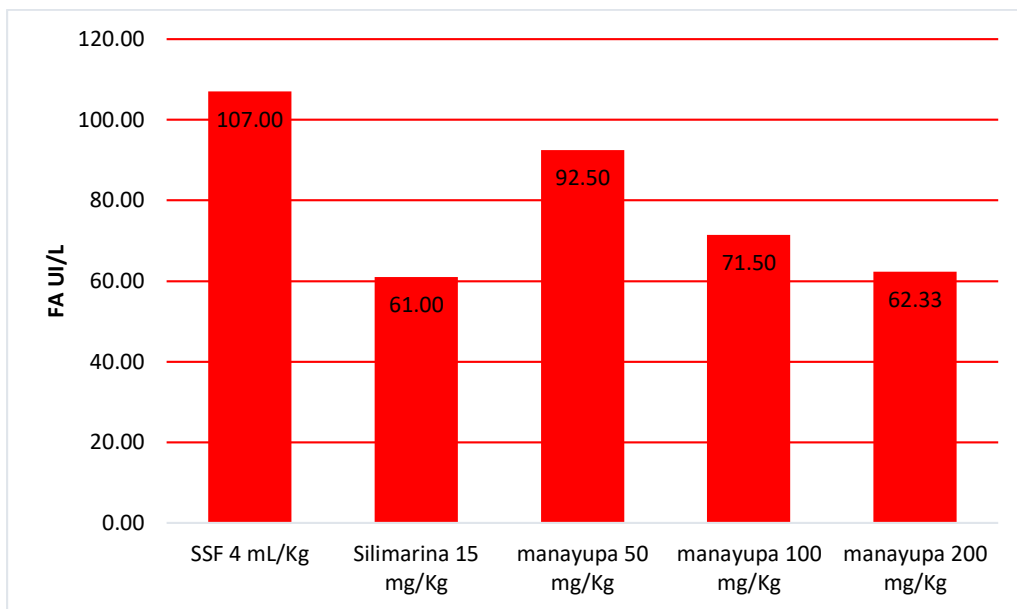


Figura 7. Valores promedios de fosfatasa alcalina (FA) al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) en *Rattus rattus*.

La figura 7. Muestra los niveles fosfatasa alcalina (FA) en ratas, encontrándose que el grupo que recibió suero fisiológico mostró valores elevados de FA con 107,00 UI/L, mientras que el grupo que recibió la silimarina los niveles de FA fueron de 61,00 UI/L, mientras que los grupos que recibieron el extracto de manayupa redujeron los valores de FA con valores de 92,50 UI/L, 71,50 UI/L y 62,33 UI/L para el extracto de manayupa a dosis de 50, 100 y 200 mg/kg respectivamente, todos los grupos estuvieron dentro de los parámetros de 44 - 147 UI/L, manteniéndose dentro de los parámetros normales.

IV. DISCUSIÓN

4.1 DISCUSIÓN

La medicina alternativa, coadyuvante o complementaria ha sido de gran ayuda a la medicina convencional, aunque todavía se están determinando los mecanismos de acción de estas sustancias, así como la dosis, todo esto relacionado a la biodiversidad con 25 mil especies de plantas conocidas aproximadamente a la actualidad de las cuales 4400 especies son empleadas por sus efectos terapéuticos (38).

Por tales motivos nuestro trabajo de investigación busca evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de la especie vegetal *Desmodium molliculum* (manayupa), donde al elaborar el extracto se obtuvo un rendimiento porcentual 8,3% (Tabla 2), este valor es de suma importancia ya que nos permitió plantearnos un diseño oportuno y establecer posibles cantidades de extracto a administrar, así como el periodo de tiempo de evaluación de la actividad hepatoprotectora, por otro se evaluó la solubilidad con diferentes solventes orgánicos e inorgánicos (tabla 1), encontrándose que el extracto es soluble en solventes orgánicos siendo indispensable utilizar un tensioactivo como el polisorbato de sodio 80 o Tween 80 al 3% del volumen de la solución a preparar.

La inducción del daño hepático se realizó con una dosis de 400 mg/kg de paracetamol por vía oral durante cinco días (35) donde actúa formando de manera excesiva de N-acetil-p-benzoquinonas imina (NAPQI) generada por el metabolismo del citocromo CYP450, el mismo que es detoxificado en el hígado por la reacción de conjugación con Glutatión reducido (GSH), mediante la GSH transferasa. Sin embargo, este mecanismo al saturarse ocasiona que el exceso del NAPQI reaccione con proteínas de la membrana mitocondrial, desencadenando la lipoperoxidación, que daña el ADN y la permeabilidad de la membrana (38), este daño se aprecia mediante la evaluación macroscópica que incrementa el peso del hígado en 7,22 gramos (Figura 1) y cambia el color del hígado a un color rojo pálido y puntos blanquecinos (tabla 4).

La marcha fitoquímica realizada al extracto de *Desmodium molliculum* (manayupa) evidenció la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos en abundante cantidad, alcaloides y taninos en regular cantidad, mientras que los esteroides triterpénicos. Se encontraron en poca cantidad (tabla 3)

Al evaluar el efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) se encontró que mantiene los parámetros del perfil hepático en niveles normales, siendo el grupo que recibe extracto de manayupa a dosis de 200 mg/kg el que mayor eficacia presentó con niveles de colesterol total de 103,67 mg/dl, proteínas de alta densidad de 78,50 mg/dl, triglicéridos 80,33 mg/dl, urea 24,50 mg/dL, Glutámico pirúvico transaminasa 32,17 UI/L y fosfatasa alcalina 62,33 UI/L (Figura 2-7). Así mismo el grupo que recibió la silimarina presentó una buena eficacia farmacológica ya que el incremento de la protección hepática (39), se atribuye que es un producto natural que contiene flavonoides o flavonolignanos (40). Los flavonoides disminuyen los triglicéridos atribuidos a la inhibición de la síntesis lipídica y la estimulación del metabolismo de los ácidos grasos (41). Así mismo, los glicocalcoides, glicoproteínas, polisacáridos y polifenoles serían responsables de la hepatoprotección (42), los mismos compuestos que se encuentran presentes en el extracto de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

4.2 CONCLUSIONES

- Se identificaron que los principales metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) fueron alcaloides, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos y esteroides triterpénicos.
- SE evidenció que la dosis de 200 mg/kg del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa) mostró efecto hepatoprotector ya que mantiene los perfiles hepáticos como el colesterol total, lipoproteínas de alta densidad, triglicéridos, urea, glutámico pirúvico transaminasa y fosfatasa alcalina dentro de los niveles normales en sangre, así como la evaluación microscópica mostró efecto hepatoprotector del extracto al mantener el color y estructura de la fisiología del hígado *Rattus rattus*.
- Al comparar la eficacia hepatoprotectora entre el extracto y la silimarina, se encontró que la silimarina tiene efecto protector hepático manteniendo los niveles normales de perfil hepático debido a la presencia de flavonoides tipo lignanos, cuya eficacia es ligeramente superior al grupo experimental que recibió el extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

4.3 RECOMENDACIONES

- Evaluar la toxicidad oral aguda y subcrónica del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).
- Realizar estudios clínicos referente al efecto hepatoprotector del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tang D, Zhang Q, Duan H, Ye X, Liu J, Peng W, et al. Polydatin: A critical promising natural agent for liver protection via antioxidative stress. *Oxid Med Cell Longev* [Internet]. 2022 [citado 10 de mayo de 2023]; Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/omcl/2022/9218738/>
2. Nithianantham K, Shyamala M, Chen Y, Latha LY, Jothy SL, Sasidharan S. Hepatoprotective potential of *Clitoria ternatea* leaf extract against paracetamol induced damage in mice. *Molecules* [Internet]. 2011 [citado 10 de mayo de 2024];16(12): 10134–45. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules161210134>
3. 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.
4. Perú, Ministerio de Salud. Análisis de la situación de salud del Perú. Ministerio de Salud Dirección general de epidemiología; 2010
5. Riaz G, Chopra R. A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L. *Biomed Pharmacother* [Internet]. 2018 [citado 11 de mayo de 2024]; 102: 575–86. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29597091/>
6. Guyton A. Tratado de fisiología médica, Madrid: Ediciones McGraw Hill Int5eramericana de España; 1992.
7. Bellentani, S., Saccoccio, G., Costa, G., et al. Drinking habits as cofactors of risk for alcohol induced liver damage, 1997. 41:845-850.
8. Herndon CM, Dankenbring DM. Patient perception and knowledge of acetaminophen in a large family medicine service. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. 2014; 28: 109–116.
9. Bunchorntavakul C, Reddy KR. Acetaminophen-related Hepatotoxicity. *Clin Liver Dis*. 2013; 17: 587–607.

10. McGill MR, Jaeschke H. Metabolism and disposition of acetaminophen: recent advances in relation to hepatotoxicity and diagnosis. *Pharm Res.* 2013; 30: 2174–2187.
11. Jaeschke H, McGill MR. Cytochrome P450-derived versus mitochondrial oxidant stress in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Lett.* 2015; 235: 216–217.
12. McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *J Clin Invest.* 2012; 122: 1574–1583.
13. Clária J, Horrillo R, Martínez M, Moran E, Titos E, Gonzales A, et al. Mecanismos básicos de lesión hepatocelular. Papel de los mediadores lipídicos de inflamación. 2008; 31(10):582-592.
14. Moreno A, Gonzalez L, Mendoza J, Gracia L, Moreno R. Utilidad de los parámetros analíticos en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas. *An. Med. Interna* 2007; 24(1):38-46.
15. Arce F, Magaña M. “Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de morus nigra l. (mora), en daño hepático inducido en *rattus norvegicus*, arequipa 2018” [Tesis]. Perú; Universidad Privada Autónoma Del Sur. 2018 [consultado 10 julio del 2020]. Disponible en: <http://repositorio.upads.edu.pe/bitstream/UPADS/34/1/TESIS%20%20%20FIORELA%20ARCE-MARIA%20MAGA%C3%91O.pdf>
16. Cronquist, A. The evolution and classification of flowering plants. New York: The New York Botanical Garden, 555. (1988).
17. Aguirre, Z., Yaguana C. Y Merino B. Plantas medicinales de la zona andina de la provincia de Loja. Primera Edición. Loja, Ecuador. 2014. 193 p. Consultado el 11 de mayo del 2024. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Zhofre-Aguirre/publication/301200536_Plantas_medicinales_de_la_zona_andin

a_de_la_provincia_de_Loja/links/570bc8fe08ae8883a1ffd8da/Plantas-medicinales-de-la-zona-andina-de-la-provincia-de-Loja.pdf

18. Bussmann, W., Sharon, D. Plantas Medicinales de los Andes y la Amazonía - La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú». William L. Brown Center, Missouri Botanical Garden (St. Louis): 149. ISBN 978-0-9960231-3-9. doi:10.13140/RG.2.1.3485.0962. Perú-2015. Consultado el 11 de mayo del 2024. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283355334_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LOS_ANDES_Y_LA_AMAZONIA_-_La_Flora_magica_y_medicinal_del_Norte_del_Peru
19. Acaro F. Efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* "Manayupa" en ratas Holtzmann [Internet]. 2020. Dialnet. [cited el 10 de mayo del 2024]. Available from: <https://es.scribd.com/document/348366534/DialnetEfectoAnticonceptivoYPostcoitalDelExtractoEtanolic-4813718-pdf>
20. Mestanza, R. E. C. Efecto hepatoprotector de una mezcla de plantas medicinales y vitaminas en *Rattus norvegicus* con intoxicación hepática. *Agroindustrial Science*, 2022;12(1), 21-27.
21. Peralta-Adauto, L. P., Barrera-Jiménez, J. A., Medina-Pérez, G., Jiménez-Alvarado, R., González-Lemus, U., & Campos-Montiela, R. G. Efecto antiinflamatorio y hepatoprotector de extractos vegetales. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP México*. Publicación semestral, 2021; Vol. 7, No. 14 (2021) 10-13
22. Gato, M.C., Dianavell, M.R. & Rayza, H.D. *Cúrcuma longa*, restaurador histológico en la hepatotoxicidad por paracetamol. *En cibamanz*. 2021. [citado 11 de mayo de 2024]; Disponible en: <https://cibamanz2021.sld.cu/index.php/cibamanz/cibamanz2021/paper/viewFile/461/344>.
23. Estela, P.Y.S. Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico de *Desmodium molliculum* ("manayupa") en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *Revista Científica Ágora*, 2019: 6(2), e4-e4.

24. Frisancho, M. Efecto hepatoprotector del extracto etanólico y acuoso de hojas y flores de Lavatera arbórea var. Sp (Malva silvestre) en ratones de laboratorio, Cusco–2021. 2022.
25. Gordillo Rocha G, Bonilla Rivera P, Zúñiga Cáceres H, Parreño Tipian J, Guerra Brizuela G, Hernández Calderón L, Solano Canchaya G. Efecto protector del Desmodium molliculum EAM (Manayupa) en ratas con toxicidad hepática inducida por Naproxeno. Rev. Perú Med. Integr. [Internet]. 9 de diciembre de 2019 [citado 11 de mayo de 2024];4(3):76-82. Disponible en: <https://rpmi.pe/index.php/rpmi/article/view/501>
26. Hernández S, Fernández C, Baptista P. Metodología de la Investigación. Interamericana Editores. México, 2014.
27. Sánchez H, Reyes C, Mejía K. Manual de términos en investigación, tecnológica y humanística. Vicerrectorado de Investigación. Universidad Ricardo Palma. Lima, 2018. 46
28. Ñaupas H, Valdivia M, Palacios J, Romero H. Metodología de la Investigación. Cuantitativa-Cualitativa y Redacción de la Tesis. Ediciones de la U. Colombia, 2018.
29. Kinnear T. y Taylor J. Investigación de mercados. México: Mc Graw Hill. 1998.
30. Villar A. Farmacognosia General. Editorial Síntesis. Madrid, 1999.
31. Waseem U, Waseem A, Majeed N, Qureshi F, Qasim M, Rizwana S. Gastroprotective effects of plants extracts: Acacia catechu on gastric mucosal injury in experimental albino rats model. International Journal of Basic & Clinical Pharmacology. 2021;10(1):347-352.
32. CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de Técnicas de investigación; 1995. p.220.
33. Llorens Molina, J. A. Solubilidad. 2015.

34. Lock, O. Generalidades sobre el análisis fitoquímico. En Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales (3.a ed.). 2017.
35. Ochoa C, Granada C, Borja R., Borjas P, Ortiz J, et al. Efecto protector del *Peumus boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por paracetamol. CIMEL. 2018: 13(1).
36. Valderrama, S. Pasos para elaborar proyectos de investigación científica (2.a ed., Vol. 1). Alianza Editorial. 2015.
37. Fuentes F, Mendoza R, Rosales A, Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: ratón. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. Perú, 2008.
38. Brack Egg A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú. Centro Bartolomé de las Casas, Cuzco.: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo; 1999. 588 p.
39. Rosario P. Efecto protector de la almendra de semillas de *Cucurbita ficifolia* Bouché (calabaza blanca) en el daño hepático inducido por paracetamol en ratones. [Internet]. [Lima]: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Escuela Profesional de Nutrición; 2019 [citado 30 de junio de 2024]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/11459/Rosario_lp.pdf?sequence=4&isAllowed=y
40. Kiruthiga PV, Pandian SK, Devi KP. Silymarin protects PBMC against B(a)P induced toxicity by replenishing redox status and modulating glutathione metabolizing enzymes—An in vitro study. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1 de septiembre de 2010;247(2):116-28.
41. Liu Q, Pan R, Ding L, Zhang F, Hu L, Ding B, et al. Rutin exhibits hepatoprotective effects in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease by reducing hepatic lipid levels and mitigating lipid-induced oxidative injuries. *Int Immunopharmacol.* agosto de 2017;49:132-41.

42. Jain R, Sharma A, Gupta S, Sarethy I, Gabrani R. Solanum nigrum: Current Perspectives on Therapeutic Properties. *Altern Med Rev J Clin Ther.* 1 de marzo de 2011;16:78-85.

ANEXOS

ANEXO A: Operacionalización de las variables

Variable independiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Índice	Escala de medición	Valor
Extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	Sustancia extraída de un proceso de maceración etanólica de las hojas pulverizadas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa) durante un periodo de tiempo.	Concentración y dosis de aplicación	Concentraciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	Mililitros administrados por vía oral del extracto etanólico de las hojas de <i>Desmodium molliculum</i> (manayupa).	mL/Kg	Razón	0-100%
				Dosis del extracto 50 mg/kg 100 mg/kg 200 mg/kg			

Variable dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Índice	Escala de medición	Valor
Efecto hepatoprotector en <i>Rattus rattus</i> con intoxicación hepática inducido por paracetamol.	Protección del hígado contra agentes tóxicos.	Lesión hepática causada por el paracetamol.	Criterios bioquímicos	Niveles de enzimas hepáticas (TGO y TGP)	U/L	Intervalo	79.5-248 U/L 20.2 – 69.8 U/l
				Proteínas totales	g/dL	Intervalo	6.11-17.49 g/dL
				Bilirrubina total	Mg/dL	Intervalo	0.005-0.19 mg/dL
			Criterios histopatológicos	Macroscópico (peso y aspecto del hígado)	Peso (gramos)	ordinal	5.5 – 7 gramos
					Color y aspecto	nominal	Color/aspecto

ANEXO B: Instrumentos de recolección de datos

N°	Tratamientos	Peso (g)	CT	HDL	TRI	U	TGP	FA
1	SSF 4 mL/Kg	7,3	144	45	149	40	50	121
2	SSF 4 mL/Kg	7	150	42	150	38	54	123
3	SSF 4 mL/Kg	7,2	147	40	154	40	48	125
4	SSF 4 mL/Kg	7,5	150	45	150	38	50	120
5	SSF 4 mL/Kg	7,4	148	44	152	37	53	124
6	SSF 4 mL/Kg	6,9	160	48	147	41	56	29
7	Silimarina 15 mg/Kg	6,8	98	80	92	20	22	65
8	Silimarina 15 mg/Kg	7,2	95	85	90	22	25	62
9	Silimarina 15 mg/Kg	6,9	90	81	95	18	23	60
10	Silimarina 15 mg/Kg	6,3	89	77	83	25	29	58
11	Silimarina 15 mg/Kg	6,7	96	83	88	23	25	61
12	Silimarina 15 mg/Kg	6,7	90	85	89	19	25	60
13	manayupa 50 mg/Kg	7,3	132	45	127	44	47	94
14	manayupa 50 mg/Kg	7,1	135	44	131	41	44	89
15	manayupa 50 mg/Kg	6,9	139	38	124	40	45	91
16	manayupa 50 mg/Kg	6,8	138	42	125	42	44	93
17	manayupa 50 mg/Kg	7,4	142	40	126	38	41	95
18	manayupa 50 mg/Kg	7,3	140	39	125	41	40	93
19	manayupa 100 mg/Kg	6,6	118	56	102	33	40	72
20	manayupa 100 mg/Kg	7	123	54	98	31	39	73
21	manayupa 100 mg/Kg	7,5	119	55	100	28	38	70
22	manayupa 100 mg/Kg	6,9	125	49	97	29	35	73
23	manayupa 100 mg/Kg	7,1	129	52	96	30	36	69
24	manayupa 100 mg/Kg	7,2	128	51	104	36	34	72
25	manayupa 200 mg/Kg	6,9	103	77	84	23	33	66
26	manayupa 200 mg/Kg	7,3	105	78	82	25	35	65
27	manayupa 200 mg/Kg	6,7	103	82	79	22	29	63
28	manayupa 200 mg/Kg	7	98	80	76	26	33	60
29	manayupa 200 mg/Kg	6,8	111	79	80	24	29	62
30	manayupa 200 mg/Kg	7	102	75	81	27	34	58

Dónde: CT=colesterol total, HDL=Lipoproteínas de alta densidad, TRI= triglicéridos, U=urea, TGP= transaminasa Glutámico Pirúvica, FA= fosfatasa alcalina.

ANEXO C: Evidencia del trabajo de campo

Anexo C.1. Constancia de ejecución de actividad experimental en institución privada.

ASOCIACION PERUANA DE CIENCIA, TECNOLOGIA Y MEDIO
AMBIENTE SALUDABLE - ASOCIACIÓN PERUANA CTYMAS

CONSTANCIA

A quien corresponda:

LA "ASOCIACION PERUANA DE CIENCIA, TECNOLOGIA Y MEDIO AMBIENTE SALUDABLE", identificada con RUC N° 20604190291 ubicada Av. Huánuco 468 Florida Alta, Ancash-Santa – Chimbote, debidamente representada por su presidente, Sr. César Braulio Cisneros Hilario, identificado con DNI N°40245434

HACE CONSTAR:

Las alumnas Bachilleres de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Pedro Sra. Moreno Honores, Jemina|Victoria con DNI N° 40964622 y Osorio Bayona, Esperanza Diana con DNI N° 73573373, ejecutaron la etapa experimental de su proyecto de investigación "EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Desmodium molliculum* (MANAYUPA) EN *Rattus rattus*", la misma que consistió en la adquisición de animales de experimentación *Rattus rattus* variedad albina, Cepa Holtzman, acondicionamiento en jaulas, periodo de aclimatación, inducción de daño hepático, administración de tratamientos, toma de muestras, análisis macroscópicos de hígados y análisis de bioquímica sanguínea (perfil hepático).

Se expide el presente documento, para los fines que el interesado crea conveniente.

Chimbote, 03 de abril del 2024.



César Braulio Cisneros Hilario
Presidente A.P. CTYMAS

Anexo C.2. Fotografía de muestra vegetal y acondicionamiento para identificación taxonómica



Especie vegetal: *Desmodium molliculum* (manayupa)



Acondicionado para determinación taxonómica de especie vegetal.

Anexo C.3. Constancia de identificación taxonómica de muestra vegetal



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

CONSTANCIA N° 122-USM-MHN-2024

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

La muestra vegetal (estéril) recibida de **Jemina Victoria Moreno Honores**, estudiante de pregrado de la Universidad María Auxiliadora ha sido estudiada y clasificada como: *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Fabales Bromhead

FAMILIA : Fabaceae Lindl.

GÉNERO : *Desmodium* Desv.

ESPECIE : *Desmodium molliculum* (Kunth) DC.

Nombre vulgar: "Manayupa"

Procedencia: Distrito Masin, provincia Huari, región Ancash

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago

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

Lima, 12 de junio de 2024

Dra. Joaquina Albán Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Anexo C.4. Flujograma sobre la obtención del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).



Anexo C.5. Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (manayupa).



Anexo C.6. Toma de muestras sanguíneas de las ratas para determinar el perfil hepático.



Anexo C.7. Evaluación macroscópica de los hígados de las ratas para evaluar el daño causado por paracetamol.

