



Efecto protector del *Desmodium molliculum* EAM (manayupa) en ratas con toxicidad hepática inducida por naproxeno

Gloria Gordillo¹; Pablo Bonilla²; Haydée Zúñiga¹; Juan Parreño¹; Gustavo Guerra¹; Luz Hernández; Gabriela Solano¹

Información del artículo

Historia del artículo

Recibido: 12/07/2019
Aprobado: 30/08/2019

Autor corresponsal

Gloria Gordillo Rocha
ggordillor@unmsm.edu.pe
999706010

Financiamiento

Autofinanciado

Contribución de autores:

GG, PB, HZ, JP, GG, LH y GS intervinieron en la concepción y diseño del artículo, recolección de datos, análisis e interpretación de datos, redacción del artículo; revisión crítica del artículo y aprobación de la versión final.

Citar como

Gordillo G; Bonilla P; Zúñiga H; Parreño J; Guerra G; Hernández L; Solano G. Efecto protector del *Desmodium molliculum* EAM (manayupa) en ratas con toxicidad hepática inducida por naproxeno. Rev Peru Med Integrativa.2019;4(3):76-82.

Resumen

Objetivo. Verificar el efecto protector del extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* EAM (manayupa), en la toxicidad hepática inducida por el naproxeno en ratas *Ratus norvegicus* variedad Wistar albino, hembras. **Materiales y métodos.** Estudio experimental. Se utilizaron 36 ratas hembras de 250 ± 10 g, divididas en seis grupos de seis: A (control -); B (control + naproxeno); patrón C (silimarina 100 mg / kg) y 3 experimental (EAM): D 80 mg/kg; E 160 mg/kg y F 240 mg/kg). Los grupos B, C, D, E, F recibieron por vía oral naproxeno 27,38 mg, los primeros cinco días y durante 14 días. El efecto protector hepático se determinó mediante el análisis bioquímico: GOT, GPT, GGT, proteínas totales, albúmina sérica, fosfatasa alcalina y creatinina. **Resultados.** Se encontró que el grupo B perdió peso (180,65 ± 6,5 g), bilirrubina total (0,76 ± 0,4) bilirrubina directa (1.7 ± 0,8), TGO (160 ± 10,4) y TGP (412 ± 20,4) alto, comparado con el grupo A, C, D, E y F. **Conclusiones.** El EAM tiene efecto protector sobre la toxicidad hepática inducida por naproxeno en ratas, evidenciado por los parámetros bioquímicos.

Palabras clave: *Desmodium molliculum*; Hepatotoxicidad; Naproxeno.

Protective effect of *Desmodium molliculum* EAM (manayupa) in rats with naproxen-induced liver toxicity

Abstract

Objective. To verify the protective effect of the aqueous extract of leaves and stems of *Desmodium molliculum* EAM (manayupa), on the hepatic toxicity induced by Naproxen in rats *Ratus norvegicus* albino Wistar variety, females. **Materials and methods.** 36 female rats of 250 ± 10 g were used, divided into six groups of six: A (Control -), B (Control + Naproxen), Pattern C (Silymarin 100 mg / kg) and 3 Experimental (EAM): D 80 mg / kg, E 160 mg / kg and F 240 mg / kg). Groups B, C, D, E, F orally received Naproxen 27.38 mg, the first five days and for 14 days. The hepatic protective effect was determined by the biochemical analysis: GOT, GPT, GGT, total proteins, serum albumin, alkaline phosphatase, creatinine. **Results.** group B was found to lose weight (180.65 ± 6.5 g), total bilirubin (0.76 ± 0.4) direct bilirubin (1.7 ± 0.8), TGO (160 ± 10.4) and TGP (412 ± 20.4) high, compared to group A, C, D, E and F. **Conclusion.** EAM has a protective effect on hepatic toxicity induced by naproxen in rats, evidenced by biochemical parameters.

Keywords: *Desmodium molliculum*; Hepatotoxicity; Naproxen.

¹ Instituto de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo.

² Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales "Juan de Dios Guevara".

Introducción

Nuestro territorio cuenta con diversidad de suelos y climas privilegiados en recursos naturales, presenta una abundante y variada flora distribuida en sus diferentes regiones. Constituye un reto a la capacidad del hombre peruano, quien como respuesta a las dificultades que le impone la naturaleza, se adapta al uso de plantas medicinales con fines preventivos y/o curativos para luchar contra las enfermedades en forma empírica y por tradición^(1, 2). En la actualidad, habiendo cobrado vigencia el uso de plantas medicinales es necesario tener conocimiento integral sobre ellas, de acuerdo con el avance de la ciencia y tecnología moderna, y así tener la seguridad de alcanzar el efecto medicinal con un criterio científico debidamente comprobado.

La especie *Desmodium molliculum* conocida como «manayupa», se usa por sus variadas propiedades medicinales tales como: antirreumáticas, antiinflamatorias, antiasmáticas, antipiréticas, calmantes y sudoríficas, pero sin la comprobación de sus posibles beneficios o efectos tóxicos⁽²⁻⁴⁾.

El presente estudio tiene por objeto contrastar científicamente una de sus propiedades para emplearla como alternativa en la prevención y recuperación de la salud, disminuir el costo del tratamiento con medicamentos de patente y evitar las acciones adversas que conllevan dichos medicamentos (acostumbramiento, dependencia, alergia, resistencia, reacciones adversas, etc.)^(5, 6).

En nuestro medio, la causa más común de enfermedad hepática es el hígado graso no alcohólico y la esteatohepatitis no alcohólica. La enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) es muy frecuente y de curso insidioso, consiste en la aparición de cambios por infiltración grasa en el hígado, no relacionados con el consumo de alcohol. Esta patología comprende un amplio rango de lesiones hepáticas, que va desde esteatosis hepática simple (hígado graso), hasta esteatohepatitis⁽³⁾ o cirrosis (dolor de hígado, cólicos, litiasis, colecistitis, inflamación, etc.). La prevalencia de EHGNA^(3, 7) varía entre 10-25% de la población occidental, y asciende hasta 4 - 6 veces más en la población obesa. Otros factores de riesgo asociados a EHGNA son el perímetro abdominal (>102 cm en hombres y >88 cm en mujeres), dismenorreas primarias, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia y alteraciones en el metabolismo de la glucosa o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM)^(7, 8). La EHGNA suele cursar asintomática y con grados variables de alteración en las pruebas de laboratorio. Suelen ser causa de

esta enfermedad los malos hábitos alimenticios o la ingestión de alimentos que perjudican la salud del hígado como las grasas, embutidos, salazones, y el consumo de medicamentos para evitar la inflamación y el dolor⁽⁹⁻¹¹⁾. El extracto acuoso de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* (manayupa, pega – pega, amor seco) es usado en la medicina tradicional para el tratamiento de los síntomas de enfermedades respiratorias, como antiinflamatorio, en asma, o en trastornos hepáticos, con resultados alentadores⁽¹²⁻¹⁴⁾; este vegetal posee diversos compuestos activos (identificados mediante cromatografía líquida de alto rendimiento, HPLC) como derivados de la triptamina, esteroides, flavonoides (vitexina e isovitexina), isoflavonoides (genisteína y daizeína) saponinas triterpenoides (soyasaponinas I y III, dehidrosoyasaponina I), antocianinas, polifenoles, taninos, terpenos, ácidos grasos insaturados y trazas de alcaloides.

Dentro de los xenobióticos transformados por el hígado se encuentra el naproxeno, que utiliza la vía de conjugación con glucoronato (93%) y la conjugación con glutatión para su excreción (7%). Se metaboliza en hígado dando lugar al 6-desmetilnaproxeno, el cual se acumula fijándose por enlace covalente a aminoácidos de enzimas y otras proteínas hepáticas a las cuales inactiva, desencadenando lesiones hepáticas, fundamentalmente necrosis centro lobulillar⁽⁹⁾. En el caso de estudios de toxicidad hepática mediada por naproxeno en ratas, este producía alteraciones a dosis medias de 200 mg/kg, generando un cuadro de necrosis hepática irreversible, el cual podía llegar a comprometer otros órganos como el riñón y el corazón produciendo insuficiencia renal y alteración miocárdica⁽¹⁰⁾. Asimismo, es causante de degeneración grasa hepática y necrosis hepatocelular⁽⁶⁾. La intoxicación aguda con naproxeno puede simular un cuadro de hígado graso no alcohólico (NAFLD) o de esteatohepatitis no alcohólica (NASH)⁽⁷⁾.

La silimarina es el principio activo del cardo mariano, *Silybum marianum*, un producto natural con demostrado efecto hepatoprotector pues actúa en la membrana celular lesionada, estabilizándola y protegiendo del daño por sustancias nocivas al tejido hepático. Se reporta, incluso, que posee efecto protector en la intoxicación producida por la seta venosa *Amanita falloides*, donde es capaz de proteger el tejido hepático y prevenir la muerte. Se sustenta además que, la silimarina es capaz de inducir producción hepática de proteínas, con lo que favorece la regeneración hepática y que aumenta 35% los niveles de glutatión en el tejido hepático, el cual es un aminoácido necesario para

la detoxificación hepática, ya que neutraliza los radicales liberados y residuos metabólicos. Los mecanismos de acción de la silimarina son tres: 1) Modificación de la membrana celular externa del hepatocito para impedir el ingreso de toxinas; 2) Estimulación de la síntesis ribosomal de proteínas y 3) Capacidad de regeneración hepática mediante el incremento de la actividad de la polimerasa A nucleolar y un efecto antioxidante que disminuye las concentraciones de radicales liberados formados a partir de metabolitos reactivos.

Se han realizado múltiples trabajos que resaltan los efectos benéficos de la manayupa en el sistema respiratorio como antiinflamatorio; sin embargo, existe poca bibliografía disponible sobre su efecto protector hepático frente a los xenobióticos. Por ello, el presente trabajo tiene como fin comprobar experimentalmente a nivel bioquímico que el extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum*, manayupa, tiene efecto protector en ratas *Ratus norvegicus*, variedad albina Wistar hembra con toxicidad hepática inducida por naproxeno.

Materiales y métodos

Estudio experimental, analítico, prospectivo, aleatorizado. Las hojas y tallos frescos de *Desmodium molliculum* fueron recolectados en el Caserío Chaqui - Encañada, distrito de La Encañada Cajamarca – Cajamarca y fueron analizados en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Para la obtención del extracto acuoso de hojas y tallos de *Desmodium molliculum* se siguió el método tradicional de infusión. Las hojas y tallos fueron secados en una estufa del laboratorio MEMMERT a 45 °C de temperatura por tres días. Luego, se pesaron 80 g en una balanza electrónica previamente calibrada. Posteriormente, fueron molidas en un molino de café hasta obtener un polvo fino, el cual se diluyó en 500 mL de agua a 100 °C por 30 min. De dicha manera, se obtuvo un extracto acuoso de manayupa a una concentración de 160 mg/mL. Se realizó un estudio fitoquímico primario del extracto acuoso de hojas y tallos de manayupa, para lo cual se utilizó el método de Rondina y Cousio⁽¹³⁾. Se realizaron un conjunto de reacciones colorimétricas, en tubos de ensayo y sobre papel de filtro, que permitieron detectar los grupos de compuestos fitoquímicos.

Estudio fitoquímico

La planta que estudiamos ha sido clasificada en el Herbario del Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional

Mayor de San Marcos, correspondiéndole la siguiente posición taxonómica: *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C manayupa. Su recolección se realizó durante los meses de mayo a agosto (La encañada - Cajamarca). En el tamizaje fitoquímico de las hojas y tallos se encontró cantidad abundante de saponinas, esteroides, taninos y triterpenos. En las pruebas físico-químicas de las hojas y tallos se encontró: humedad 7,71%; cenizas 9,17%; proteínas 11,50; grasas 4,03%; fibras 56,81% y carbohidratos 6,78%.

Estudio en los animales de experimentación

Los animales fueron colocados en jaulas individuales de acero inoxidable en el bioterio del Departamento de Bioquímica la Facultad de Farmacia Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tuvieron un período de climatización de 7 días, con ciclos alternados de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad, en un ambiente estándar de temperatura (22 ± 2 °C) y humedad constante (55 + 5%). Se alimentó a las ratas con 20 g de ratina al día, adquirida en el Centro de Ventas de la Universidad Nacional Agraria La Molina y agua *ad libitum*. Posteriormente, los animales fueron divididos en seis grupos homogéneos y equitativos de manera aleatoria. Antes del experimento, las ratas fueron pesadas y a cada una se les extrajo una muestra de sangre arterial por punción cardiaca para los análisis basales de enzimas hepáticas: transaminasa glutámico-oxalacética (GOT) o aspartato aminotransferasa (AST), transaminasa glutamicopirúvica (GPT) o alanina aminotransferasa (ALT), gamma glutamil transferasa (GGT), proteínas totales y fraccionadas, fosfatasa alcalina, úrea y creatinina.

Los animales fueron tratados durante 14 días, de acuerdo con el siguiente protocolo:

Tabla 1. Esquema del tratamiento de los grupos experimentales. Seis animales por grupo

GRUPO	Soluciones y dosis administradas diariamente	Vía utilizada
A Control (-)	Solución salina (1 mL/kg)	Orogástrica
B Control (+)	Naproxeno (164,28 mg/kg): 27,38mg	Orogástrica.
C Patrón	Silimarina (100 mg/kg) y una hora después una dosis de naproxeno.	Orogástrica. Orogástrica.
D	EAM (80 mg/kg) y una hora después una dosis de naproxeno.	Canulación gástrica Orogástrica.
E	EAM (160 mg/kg) y una hora después una dosis de naproxeno.	Canulación gástrica Orogástrica.
F	EAM (240 mg/kg) y una hora después una dosis de naproxeno.	Canulación gástrica Orogástrica.

Tratamiento con las hojas y tallos

Después de los cinco días con la inducción del naproxeno, se inició el tratamiento con infusión acuosa de hojas y tallos (EAM) de manayupa; del sexto al décimo cuarto día se continuó el tratamiento EAM a los grupos D, E y F.

Al término del período experimental (14 días), los animales, previo ayuno de 14 horas, fueron anestesiados por inhalación de éter etílico en una campana de vidrio. La sangre se extrajo por punción cardiaca, se separó el suero para el análisis bioquímico de enzimas hepáticas (TGO y TGP), fosfatasa alcalina, gamma glutamil transferasa; bilirrubinas y proteínas totales y fraccionadas, que se realizaron por medición espectrofotométrica usando kits de la marca Wiener. Finalmente, los animales fueron sacrificados por decapitación y se obtuvieron los hígados intactos para análisis histopatológico. Posteriormente, se separó el hígado, el que fue perfundido con una solución isotónica de NaCl y se colocó en una placa Petri sobre hielo. Se midieron los pesos de los hígados y se tomaron tres muestras histológicas del lóbulo derecho. Se fijaron en formol y se obtuvieron muestras para obtener láminas teñidas con HE. Se analizaron al microscopio de luz a 40X y 100X por diez campos cada muestra.

El peso corporal de las ratas al iniciar el experimento estuvo comprendido entre: 230 y 250 g y al final entre: 156 y 236 g. El peso corporal final no mostró diferencia estadísticamente significativa entre los grupos.

Pruebas estadísticas

Los resultados se presentan como media y desviación estándar. Se usó la prueba de Kruskal Wallis entre los seis grupos, y la prueba de Mann Whitney en pares de grupos para determinar las diferencias en los niveles de transaminasas hepáticas (TGP); fue considerada significativa toda diferencia con $p < 0,05$.

Consideraciones éticas

Se tuvo en cuenta la guía para el uso de los animales de laboratorio, (Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2010); se emplearon los animales necesarios, procedimientos menos invasivos; instalaciones para el alojamiento de los animales con espacio y ventilación adecuados, asimismo la iluminación, limpieza y cambio de viruta, entre otros. El alimento y el agua se proporcionaron

a libertad. Se consideró evitar el dolor o estrés. Para la obtención de muestras de sangre los animales fueron sedados con pentobarbital 20 mg/kg. Al finalizar el experimento los animales fueron eutanizados previa administración pentobarbital sódico a dosis de 100 mg/kg, respetando las normas internacionales del cuidado de animales de experimentación (Veterinary Research News, 2007).

Resultados

Análisis bioquímico

Los resultados de las pruebas de transaminasas en el grupo B o control (+) fueron elevados; sin embargo, los grupos con tratamiento de manayupa presentaron niveles inferiores de transaminasas. El grupo tratado con naproxeno presenta niveles de transaminasas de $412,36 \pm 48,12$ U/L. Por otro lado, los grupos con tratamiento de manayupa muestran niveles inferiores de 46,80 U/L hasta 70,25 U/L. En el caso del grupo tratado con EAM 160 mg/kg se observan niveles de transaminasas inferiores al grupo B, la fosfatasa alcalina tiene una concentración inicial con el grupo B-F de 677,8. La fosfatasa alcalina a los 14 días de tratamiento fue en el grupo B: 670 - 596; el grupo C: 239-126; el grupo D: 450 - 420; el grupo E :345,2, y el grupo F 245,3-120,4 (Tabla 2).

Las medias de transaminasas en el grupo B o control (+) fueron elevadas; sin embargo, los grupos con tratamiento de manayupa presentaron concentraciones inferiores de transaminasas. El grupo tratado con naproxeno presenta valores medios de transaminasas de $412,36 \pm 24$. Por otro lado, los grupos con tratamiento de manayupa muestran niveles inferiores de $70,80 \pm 20,0$ hasta $220 \pm 10,09$. En el caso del grupo tratado con EAM 160 mg/kg se observan concentraciones de transaminasas inferiores al grupo B, la gamma glutamil transferasa tiene una concentración inicial con el grupo B DE $71 \pm 0,6$; con el grupo C $11 \pm 0,2$; grupo D $44 \pm 0,2$; grupo E $34 \pm 0,4$, y con el grupo F $4 \pm 0,9$ (Tabla 3).

Análisis anatomopatológico

Los resultados de los pesos se muestran en la Tabla 4. Se encontraron variaciones en el peso relativo de los hígados *post mortem*. El análisis anatomopatológico del grupo control (+) muestra focos hiperémicos con signos de inflamación y necrosis a diferencia de los grupos de tratamiento, silimarina y EAM, donde el parénquima hepático se encuentra normal. Congestión hepática aguda

Tabla 2. Niveles de parámetros bioquímicos en ratas *Ratus novergicus*, variedad albina Wistar tratadas con *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C., manayupa en los grupos: control, patrón, y experimental, basales y luego de 14 días de tratamiento respectivo en cada grupo.

Grupos (N.º ratas:6)	A-F	B-F	A: Control(-)	B: Control(-)	C: Patrón	D	E	F
Días de tratamiento:	Basal	5	14	14	14	14	14	14
Naproxeno (164,8 mg/kg)		Sí		Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
Agua destilada (1 mL)			Sí					
Silimarina (100 mg/kg)					Sí			
EAM (mg/kg)						80	160	240
Fosfatasa alcalina (UI/L)	85,7-286,7	677,8-606,2	95,7-136,7	670,1-596,1	239,6-126,3	450,4-420,4	345,2-285,6	245,3-120,4
Gamma glutamil transferasa (UI/L)	0,5-1,96	65,2-70,4	0,5-1,96	78,7-84,3	2,86-14,36	40,3-56,2	18,3-36,3	1,12-4,25
GOT/AST (UI/L)	99,8-235,4	100,2-250,3	125,3-260,3	108,4-200,4	104,4-240,4	132,6-210,4	129,5-236,6	120,4-232,2
GPT/ALT (UI/L)	36,3-80,4	300,3-401,1	10,8-78,7	412,4-456,0	99,4-180,4	202,3-254,3	140,7-199,9	46,8-70,3
Albúmina (g/L)	2,98-4,9	2,22-2,96	2,98-4,56	1,96-2,12	2,44-4,90	3,2-4,02	2,99-3,96	2,05-3,2
Bilirrubina total (mg/dL)	0,024-0,4	0,56-0,8	1,26-1,36	0,66-0,94	0,74-1,10	0,5-0,59	0,39-0,56	0,42-0,62
Bilirrubina directa (mg/dL)	0,2-0,7	1,6-1,8	0,3-0,7	1,7-1,8	0,8-1,4	1,2-1,4	1,0-1,2	0,6-0,8
Proteínas totales (g/dL)	5,92-7,25	4,56-4,42	5,99-6,26	3,96-4,01	5,12-5,26	4,96-5,02	5,26-5,78	5,46-6,02
Urea (mg/dL)	39,4-75,8	93,4-135,2	40,2-74,6	101,4-190,4	69,9-96,3	89,0-84,3	83,3-86,7	83,3-78,3
Creatinina (mg/dL)	0,62-0,88	0,95-1,3	0,63-0,89	0,99-1,19	0,72-0,99	0,92-1,14	0,86-0,91	0,66-0,88
Ciclooxigenasa (ng/mL)	0,3-0,55	1,98-4,8	0,36-0,53	0,33-0,56	0,96-2,63	1,99-3,28	1,02-0,84	0,4-0,66

Tabla 3. Valores medios bioquímicos en suero sanguíneo (*Ratus novergicus*, variedad Albina Wistar) tratadas con *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C.

Grupos (N.º ratas:6)	A-F	B-F	A: Control(-)	B: Control(-)	C: Patrón	D	E	F
	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
Días de tratamiento:	Basal	5	14	14	14	14	14	14
Gamma glutamil transferasa (UI/L)	1,4 ± 0,4	60 ± 0,5	1,5 ± 0,4	71 ± 0,6	11 ± 0,2	44 ± 0,2	34 ± 0,4	4 ± 0,9
GOT/AST (UI/L)	140 ± 20,8	152 ± 5,4	145 ± 15,2	160 ± 10,4	150 ± 10,5	180 ± 10,5	165 ± 5,4	1142 ± 10,6
GPT/ALT (UI/L)	65 ± 10,6	360 ± 20,4	55 ± 10,8	412 ± 20,4	100 ± 10,9	220 ± 10,9	160 ± 20,5	70 ± 20,4
Albúmina (g/L)	1,5 ± 0,9	2,22 ± 0,96	3,77 ± 0,86	201 ± 4,1	3,30 ± 1,9	3,4 ± 0,5	3,2 ± 0,6	2,5 ± 0,2
Bilirrubina total (mg/dL)	0,2 ± 0,3	0,7 ± 0,5	0,4 ± 0,3	0,76 ± 0,4	0,68 ± 0,6	0,7 ± 0,9	0,4 ± 0,3	0,34 ± 0,6
Bilirrubina directa (mg/dL)	0,4 ± 0,7	1,7 ± 0,8	0,3 ± 0,4	1,7 ± 0,8	0,2 ± 0,8	1,3 ± 0,6	1,0 ± 0,8	0,6 ± 0,2
Proteínas totales (g/dL)	6,0 ± 1,22	4,76 ± 0,42	5,8 ± 0,28	4,10 ± 0,6	5,12 ± 0,56	5,0 ± 0,82	5,3 ± 0,3	5,8 ± 0,92
Úrea (mg/dL)	42,4 ± 2,8	93,4 ± 135,2	40,0 ± 4,6	101,4 ± 7,4	79,6 ± 0,9	89,0 ± 0,8	85,0 ± 0,7	81,7 ± 0,9
Creatinina (mg/dL)	0,62 ± 0,5	1,2 ± 0,3	0,6 ± 0,31	0,9 ± 0,6	0,72 ± 0,4	0,99 ± 0,14	0,8 ± 0,85	0,46 ± 0,3
Ciclooxigenasa (ng/mL)	0,35 ± 0,5	2,02 ± 0,8	0,36 ± 0,23	0,35 ± 0,3	2,19 ± 0,65	2,99 ± 0,28	1,01 ± 0,3	0,5 ± 0,32

Tabla 4. Evaluación microscópica de los hígados de ratas *Ratus novergicus*, variedad albina Wistar tratadas con *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. de los Grupos A – F, según parámetros histopatológicos y grado de afectación

Parámetros microscópicos	Grupos de trabajo					
	A	B	C	D	E	F
Congestión hepática aguda	-	++++	+	++	+	-
Infiltración vacuolar	-	+++	+	+	+	-
Esteatosis hepática	-	++++	-	+	-	-

Leyenda: (-): negativo; (+): leve; (++) : moderado; (+++) : severo; (++++): muy severo.

o vacuolar, esteatosis hepática, con degeneración grasa. Anotándose con cruces según grado de afectación: leve, moderado, severo o muy severo.

Parámetro clínico

Se determinó la variación en el peso de los animales de los diferentes grupos experimentales. La Media±D.E. de los pesos iniciales de los diferentes grupos, expresados en g, fueron: A 250±0; B 240±27,83; C 243±18,2; D 253,3±19,7; E 243±18,45 y F 249,3±9,7. Mientras que la Media±D.E. de los pesos finales de los diferentes grupos fueron: A 250,2±1,7; B 193,6±2,7; C 181,5±3,4; D 196,8±6,2; E 181,5±3,36 y F 236,8±6,2. El promedio de diferencia de pesos en los diferentes grupos, expresados en g, fueron: A 4,8±1,7; B

16,4±17,9; C 1,08±19,3; D 6,5±19,3; E 4,5±2,2 y F 2,1±0,5, hallándose diferencia significativa con $p<0,05$ en la variación

de peso entre los grupos experimentales analizada por la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis (Tabla 5).

Tabla 5. Evaluación de diferencia de pesos de ratas *Ratus norvegicus*, variedad albina Wistar tratadas con *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. de los grupos A – F

	A	B	C	D	E	F
Basal	248 ±2,5	249,5±0,5	240,5±5,5	245±5	246±4,5	247,5±6,2
7 días	249±3,5	230±5,5	232,6±2,5	224,5±3,0	229,5±5	235±5,5
14 días	250,5±2,5	180±6,5	218,5±3,5	2094±,5	212±6,5	216±6

Discusión

En el presente estudio se determinó el efecto protector del extracto acuoso de *Desmodium molliculum* (manayupa) mediante los parámetros: clínicos (variación de peso), bioquímicos (perfil hepático) y morfológicos (macroscopía y microscopía) en 36 ratas hembras.

El grupo control positivo (B) presentó signos celulares de inflamación, caracterizado por venas centrolobulillares congestivas y congestión sinusoidal. Se observó lesión celular con vacuolas intracelulares de grasa, aumento de células con núcleos hiper cromáticos, disminución de la relación de tamaño núcleo/citoplasma, aumento de células apoptósicas y necróticas pericentrolobulillares. A diferencia del grupo control positivo, las láminas de los tratados con EAM mostraron mejoría en la arquitectura y conservación hepatocelular dosis dependiente. No se observaron signos de inflamación en el grupo EAM 240 y 160 mg/kg, las venas centrolobulillares y los sinusoides están permeables, no hay degeneración grasa y los núcleos presentan cromatina laxa y tamaño normales. Sin embargo, en el tratamiento con EAM 80 mg/kg se observan escasos focos de inflamación con congestión de las venas y algunos focos de necrosis en menor grado, para aliviar los síntomas. Los principales componentes antioxidantes de la manayupa son los flavonoides, saponinas y alcaloides. Se ha demostrado que el extracto acuoso de hojas secas de manayupa mantiene las propiedades de los flavonoides, saponinas y alcaloides principales.

Se presenta un estudio del efecto protector de la manayupa en un modelo animal de hepatotoxicidad inducida por naproxeno. En los resultados se observa que los niveles de transaminasas hepáticas son significativamente menores en las ratas tratadas con manayupa ($p<0,01$). También se observa una mejoría de las características anatomopatológicas e histopatológicas de los grupos tratados con manayupa comparadas con el control positivo. Las transaminasas son indicadores de la función hepática, sobre todo del nivel de necrosis de los hepatocitos. El nivel normal de TGP en una rata sana es de 38 U/L. En este estudio, así como en otros, los niveles de transaminasas se elevan ante la presencia de un hepatotóxico como el paracetamol u otros AINES. Estudios similares de intoxicación hepática con tetracloruro de carbono demuestran que se elevan los niveles de transaminasas cuando existe lesión en hepatocitos⁽¹²⁾. Los

niveles de TGP de las ratas del grupo control muestran niveles altos de transaminasa, lo que evidencia daño celular en el hígado. Los resultados obtenidos demuestran que hubo una disminución significativa en las concentraciones finales de transaminasas de los grupos tratados con manayupa respecto al grupo control ($p<0,05$). Similares resultados se obtuvieron en un experimento de protección hepática en ratas utilizando *Allium satibum* y *Petrocelinum satibum*⁽¹³⁾. En este estudio se realizó una evaluación anatomopatológica del hígado *post mortem*, antes de la fijación en formol, y los resultados muestran la presencia de focos de hemorragia, congestión y ausencia de necrosis hepatocelular en el grupo control; en el análisis macroscópico de hígados expuestos a paracetamol se observan zonas de hemorragia, congestión y ausencia de necrosis. No se observó disminución del peso de la rata ni variaciones de peso del hígado entre los distintos grupos experimentales, como sí se observó en un estudio realizado en ratas Sprague-Dawley, donde hallaron disminución de peso de los distintos grupos experimentales en los que se usó flavonoides como protector y tetracloruro de carbono como inductor del daño hepático^(13,14).

Los estudios histopatológicos nos permiten determinar la patología exacta de las enfermedades hepáticas, así como los verdaderos cambios celulares debido al tratamiento. En el análisis histopatológico de un hígado de rata normal se observan venas centrolobulillares permeables, definidas y con pared regular. La presencia de hematíes en las venas es mínima y el parénquima hepático se nota uniforme y es posible observar los lobulillos hepáticos con los espacios sinusoidales permeables⁽¹⁴⁾.

El paracetamol en dosis tóxicas induce muerte de los hepatocitos y produce cambios en los eosinófilos, necrosis centrolobulillar en hepatocitos, caracterizado por coagulación y colapso de hepatocitos con pérdida de núcleos, infiltrado inflamatorio y cambios grasos.

Además, en el presente trabajo se observó disminución del peso de la rata, variaciones de peso en el hígado entre los distintos grupos. En un estudio entre los diferentes grupos experimentales realizado en ratas Sprague-Dawley, donde hallaron disminución de peso de los distintos grupos

experimentales en los que se usó flavonoides como protector y tetracloruro de carbono como inductor de daño hepático ⁽¹⁵⁾.

El naproxeno en dosis tóxicas induce muerte de los hepatocitos y produce cambios en los eosinófilos, necrosis centrolobulillar en hepatocitos caracterizado por coagulación y colapso de hepatocitos con pérdida de núcleos, infiltrado inflamatorio y cambios grasos.

La fosfatasa alcalina en ratas, ratones, conejos y hámster tratados con una sobredosis de acetaminofén presentan niveles elevados de fosfatasa alcalina sérica, los cuales se relacionan con la severidad de las lesiones hepáticas ⁽¹⁵⁾. La bioquímica después de la administración de naproxeno

evidenció la hepatotoxicidad de la droga. La silimarina y el EAM tienen efecto protector según los datos obtenidos.

Conclusiones

1. El extracto acuoso de hojas y tallos *Desmodium molliculum* (manayupa) posee efecto protector en la toxicidad hepática inducida por naproxeno en ratas *Rattus norvegicus*, variedad albina Wistar hembra, según los parámetros clínicos, bioquímicos y morfológicos estudiados.

2. El efecto protector del extracto acuoso de las hojas y tallos de *Desmodium molliculum* en la toxicidad hepática inducida por naproxeno es comparable al efecto protector de la silimarina.

Referencias bibliográficas

1. Camasca Vargas A, Estudio de la demanda y estimación del valor cultural y económico de plantas medicinales comercializadas en la ciudad de Ayacucho. Ayacucho-Perú, 2012.
2. Acero Carrión B, Millones Sánchez D, Ticona Rebagliati I, Torres Bravo L. "Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de *Desmodium molliculum* en el modelo murino de asma." Estudiante de Medicina. Facultad de Medicina Humana "San Fernando", Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú 2012.
3. Barba JR. Esteatosis hepática, esteatohepatitis y marcadores de lesión hepática. Rev. Mex. Patol. Clin. 2008; 55:216-32.
4. Parés A, Tresserras R, Núñez I, Cerralbo M, Plana P, Pujol FJ, et al. Prevalencia y factores asociados a la presencia de esteatosis hepática en varones adultos aparentemente sanos. Med Clin (Barc). 2000; 114:561-5.
5. Amine E, Baba N, y col. Dieta, Nutrición y Prevención de Enfermedades Crónicas. Informe de una consulta Mixta de Expertos OMS/ FAO. Serie de informes técnicos 916. Ginebra. Suiza. Organización mundial de la Salud 2013.
6. Pares A. Caballera J, Altamirano J. Enfermedades Hepáticas Inducidas por el Alcohol. España. Medicine 2012; 11(10). 443-52.
7. Acaro F, "Efecto anticonceptivo y postcoital del extracto etanólico de las hojas del *Desmodium molliculum* (HBK). DC "manayupa" en ratas hembras Holtzmann" Facultad de farmacia y bioquímica. ECI Perú: Revista del Encuentro Científico Internacional, ISSN-e 1813-0194, Vol. 9, N.º. 2 (marzo), 2013, págs. 33-4.
8. Hanco Y, Gonzales I, Vargas R, "Efecto del *Desmodium molliculum* (Manayupa) sobre la fertilidad y el peso en ratas *Rattus norvegicus*". Arequipa, 2016.
9. Landeta J, Naranjo L. "Evaluación de la actividad antibacteriana de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. Treinta Reales, utilizando un modelo *in vivo*". Quito, marzo, 2015.
10. Lozano N, Bonilla P, Arroyo J. "Evaluación fitoquímica y actividad biológica de *Desmodium molliculum* (H.B.K.) D.C. (manayupa)". Ciencia e Investigación Vol. IV (2), 2001.
11. Barreto Danilo, Bonilla Pablo. Metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico de hojas de *Desmodium molliculum* (Kunth) DC. (Manayupa) Ciencia e Investigación 2017; 20(1):3-8.
12. Veloz D. Determinación de la actividad hepatoprotectora de Boldo (*Peumus boldus*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Tesis Riobamba-Ecuador. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (2013). Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2474/1/56T00342.pdf>
13. Troncoso L, Guija E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. ISSN 1025 – 5583 Págs. 333-43.
14. Valle M, Puig N, Mendoza Castaño S, Oyarzabal A, Mendoza N, Goicochea E. Efectos del D-002 sobre la hepatotoxicidad inducida por paracetamol en ratas. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/anu/vol_1_1_12/tox03111.htm
15. Prescoft LF. Paracetamol overdosage. Drug 1983; 25:290-314.