

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA.

“Año del Diálogo y Reconciliación Nacional”



**EFECTO HEPATOPROTECTOR DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO DEL FRUTO *Selenicereus
megalanthus* “PITAYA” EN RATAS CON INDUCCIÓN A
HEPATOTOXICIDAD AGUDO**

Bachiller:
HERRERA VENTOCILLA SANDRA NATALYA

Asesor:

Dr. Nesquen José Tasayco Yataco

LIMA – PERÚ

2018

DEDICATORIA

Esta tesis dedico primordialmente a Dios que me ha dado la fortaleza necesaria para concluir este trabajo.

A mi madre Hayde y hermana Luz quienes permanentemente me apoyaron con su espíritu alentador, contribuyendo incondicionalmente a lograr mis metas y objetivos propuestos y a todas las personas que confiaron en mí.

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a la Universidad Inca Garcilaso de la vega por haberme aceptado ser parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar mi carrera.

Así como también a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Un agradecimiento especial a mi asesor de tesis el Dr. Nesquen José Tasayco Yataco por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico así como también haberme tenido toda la paciencia del mundo para guiarme durante todo el desarrollo de la tesis.

Agradezco inmensamente a mi familia por ser el mejor ejemplo de constancia, fortaleza, responsabilidad y amor.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice General	
Índice Tablas	
Índice de Figuras	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2. Formulación del problema	3
1.3. Problema general	3
1.4. Problemas específicos	3
1.5. Objetivos	4
1.5.1. Objetivo general	4
1.5.2. Objetivos específicos	4
1.6. Justificación e importancia del estudio	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	6
2.1. Antecedentes del estudio	6
2.1.1. Nacionales	6
2.1.2. Extranjeros	8
2.2. Bases teóricas	10
2.2.1. Fisiología hepática	10

2.2.2. Exámenes para evaluación de lesión hepática	11
2.2.3. Enfermedades hepáticas	12
2.2.4. Obtención de extractos	15
2.2.5. Componentes activos de las plantas	16
2.2.6. <i>Selenicereus megalanthus</i> (Pitaya)	20
2.2.7. Screening fitoquímico	24
2.2.8. Identificación de parámetros bioquímicos hepáticos	25
2.3. Hipótesis	30
2.3.1. Hipótesis general	30
2.3.2. Hipótesis específicas	30
2.4. Variables	30
2.4.1. Tabla de operacionalización de variables	30
2.5. Marco conceptual	31
CAPÍTULO III: MÉTODO	32
3.1. Tipo de estudio	32
3.2. Diseño del estudio	32
3.3. Población y muestra de la investigación	36
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	36
3.5. Procesamiento de datos	37
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	38
4.1. Presentación de resultados	38
4.1.1. Principales grupos de componentes activos	38
4.1.2. Ensayo de efecto hepatoprotector	39

4.2. Contrastación de hipótesis	45
4.3. Discusión de resultados	46
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	48
5.1. Conclusiones	48
5.2. Recomendaciones	48
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49
ANEXOS	54
Anexo 1: Matriz de consistencia	54
Anexo 2: Análisis ANOVA del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Selenicereus megalanthus</i> "pitaya" en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo	56
Anexo 3: Análisis de comparaciones múltiples post hoc del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Selenicereus megalanthus</i> "pitaya" en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo	57
Anexo 4: Testimonios fotográficos	59

ÍNDICE DE TABLAS

		Pág
Tabla 1.	Clasificación de enfermedades hepáticas por depósito	14
Tabla 2.	Flavonoides su estructura y parte de sustitución	17
Tabla 3.	Flavonoides y sus principales efectos farmacológicos	17
Tabla 4.	Valor nutricional en 100 g de pulpa de Pitaya	21
Tabla 5.	Identificación de principales grupos de componentes activos en extractos de plantas	24
Tabla 6.	Determinación de los principales grupos de componentes activos del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> "pitaya"	38
Tabla 7.	Valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas (TGO, TGP) y Fosfatasa Alcalina del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> "pitaya"	40

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág
Figura 1. Esquema del desarrollo de un tumor hepático maligno	15
Figura 2. Estructura básica y tipos de los flavonoides	16
Figura 3. Compuestos fenólicos simples	18
Figura 4. Biosíntesis de terpenos, ruta mevalónica	19
Figura 5. Biosíntesis de terpenos, ruta no mevalónica	19
Figura 6. Alcaloides, aspectos biogénéticos	20
Figura 7. Pitaya Amarilla (<i>Selenicereus</i>) (<i>Hylocereus</i>)	Figura 2. Pitaya roja 23
Figura 8. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> "pitaya"	39
Figura 9. Valores medios de TGO (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	40
Figura 10. Valores medios de TGP (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	41
Figura 11. Valores medios de Fosfatasa Alcalina (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	41
Figura 12. Valores medios de Albúmina (g/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	43
Figura 13. Valores medios de Proteínas Totales (g/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	43
Figura 14. Valores medios de Bilirrubina Directa (mg/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	44
Figura 15. Valores medios de Bilirrubina Total (mg/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento	44

Resumen

El objetivo fue determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* "Pitaya" tiene efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo. El estudio fue de tipo experimental, prospectivo, transversal. Para inducir hepatotoxicidad agudo a ratas se usó el método de Ochoa modificado en la dosis del agente inductor; el agente inductor fue el paracetamol 400 mg/kg de peso corporal administrado por vía intraperitoneal por 5 días. Se administraron por vía oral 100, 300 y 500 mg/Kg del extracto durante 5 días. Resultados: los grupos de componentes activos hallados en el extracto fueron; flavonoides, taninos y alcaloides. Los niveles séricos de TGO, TGP, Fosfatasa alcalina, bilirrubina directa y bilirrubina totales aumentaron en forma significativa ($p < 0,05$) con la inducción de hepatotoxicidad, mientras que los niveles de albúmina y proteínas totales el aumento no fue significativo ($p > 0,05$), luego de los 5 días de tratamiento con el extracto se halló disminución significativa de los niveles de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, bilirrubina directa y bilirrubina total, mientras que los niveles de albúmina y proteínas totales no fue significativo comparado con el grupo control, los tres niveles de dosis mostró efecto hepatoprotector siendo el mejor efecto con la dosis de 500 mg/Kg. Se concluye que según las condiciones experimentales del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* "Pitaya" tiene efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad.

Palabras clave: Pitaya, *Selenicereus megalanthus*, hepatoprotector, perfil hepático

Abstract

The objective was to determine whether the hydroalcoholic extract of the *Selenicereus megalanthus* "Pitaya" fruit has a hepatoprotective effect in rats with induction of acute hepatotoxicity. The study was experimental, prospective, transversal. To induce acute hepatotoxicity in rats, the modified Ochoa method was used in the dose of the inducing agent; the inducer agent was paracetamol 400 mg / Kg of body weight administered intraperitoneally for 5 days. 100, 300 and 500 mg / Kg of the extract were orally administered for 5 days. Results: the groups of active components found in the extract were; flavonoids, tannins and alkaloids. Serum levels of TGO, TGP, alkaline phosphatase, direct bilirubin and bilirubin totals increased significantly ($p < 0.05$) with the induction of hepatotoxicity, while albumin and total protein levels were not significant ($p > 0.05$), after 5 days of treatment with the extract, there was a significant decrease in the levels of TGO, TGP, alkaline phosphatase, direct bilirubin and total bilirubin, while albumin and total protein levels were not significant compared to the control group, the three dose levels showed hepatoprotective effect being the best effect with the dose of 500 mg / Kg. It is concluded that according to the experimental conditions of the hydroalcoholic extract of the *Selenicereus megalanthus* fruit "Pitaya" has hepatoprotective effect in rats with induction to hepatotoxicity.

Key words: Pitaya, *Selenicereus megalanthus*, hepatoprotector, liver profile

INTRODUCCIÓN

Las funciones que cumple el hígado son muy variadas, cumple de manera general funciones de depuración y síntesis, depura la sangre de microorganismos que llegan desde el tubo digestivo, metaboliza y elimina sustancias tóxicas que ingresan al organismo, así mismo sintetiza proteínas, produce bilis, participa en el metabolismo de los biopolímeros como lípidos, proteínas y carbohidratos, algunas vitaminas suelen almacenarse en el hígado y las afecciones hepáticas suelen alterar la dinámica cardiovascular.¹ Las causas que originan enfermedades hepáticas son las producidas por virus como la hepatitis viral, otros como el consumo crónico de alcohol, la obesidad, diabetes mellitus, la hipercolesterolemia, toxicidad causada por medicamentos y la cirrosis hepática.²

En los extractos obtenidos de plantas medicinales y dependiendo de sus características podemos encontrar diversos componentes activos como alcaloides, taninos, compuestos fenólicos, esteroides y/o triterpenoides, flavonoides entre otros, siendo los flavonoides al que se le atribuye propiedades antioxidantes por su capacidad de quelar hierro, depurar radicales libres e inhibir enzimas oxidantes como lipooxigenasas, ciclooxigenasas, xantina oxidasas, evitando de esta forma producción de especies reactivas de oxígeno.³ En las plantas medicinales podemos encontrar diversos componentes activos que se potencian entre sí, no se acumulan en el organismo y sus reacciones adversas son limitadas, sin embargo es necesario realizar diversas investigaciones con la finalidad de encontrar nuevos componentes activos y evaluar sus efectos biológicos.

En el presente estudio para evaluar el efecto hepatoprotector del fruto de la pitaya variedad amarilla, se diseñó una metodología experimental pre clínico in vivo, prospectivo y transversal, se evaluaron indicadores como TGO, TGP, fosfatasa alcalina, albúmina, proteínas totales, bilirrubina directa y bilirrubina total empleando técnicas propias de laboratorio clínico y sustentados en investigaciones publicadas en revistas reconocidas nacionales e internacionales.

CAPITULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Descripción de la realidad problemática

Se ha reportado que las causas más comunes de hepatopatías son la infección por virus, de los cuales son conocidos cinco tipos de virus de hepatitis A, B, C, D y E, otras causas son el consumo de alcohol en forma crónica, el hígado graso originado por sobrepeso u otras alteraciones como la diabetes mellitus, aumento de colesterol en sangre (hipercolesterolemia), la obesidad, así mismo la hepatitis tóxica originado principalmente por medicamentos y otra causa como la cirrosis hepática.² En el mundo las causas más frecuentes de la cirrosis hepática son la enfermedad viral crónica y consumo crónico de alcohol. Se estima que la cirrosis hepática en nuestro país ocupa el quinto lugar en las defunciones, el segundo lugar en patologías hepatobiliares y digestivas y una de las primeras causas de consultas externas y hospitalizaciones.⁴ Según la Organización Mundial de la Salud, estima que el mundo supera los dos billones de habitantes infectados por el virus de Hepatitis B, de esta cifra 350 millones serían portadores crónicos del antígeno HBsAg, y con hepatitis aguda serían unos cinco millones y, las muertes por año serían de un millón relacionados directamente con la infección por el virus de la hepatitis B.⁵ Para inducir hepatotoxicidad en modelos de animales de experimentación se han usado diferentes sustancias como el acetaminofén, tetracloruro de carbono y etanol.⁶ El tetracloruro de carbono al metabolizarse produce triclorometil que es un radical libre, éste reacciona con el oxígeno para dar origen al radical triclorometil peroxil que interacciona con estructuras fosfolipídicas de las membranas produciendo su destrucción (peroxidación lipídica), el efecto de esta destrucción produce pérdida de enzimas relacionadas con las membranas, necrosis y antioxidantes.⁷ El consumo de acetaminofén en sobre dosis causa problemas hepáticos agudos, la hepatotoxicidad aguda es una de las frecuentes causas del retiro de medicamentos del mercado

farmacéutico.⁸ Para usar adecuadamente las especies vegetales medicinales es necesario conocer con certeza sus propiedades terapéuticas, esto se logra mediante la investigación, investigaciones fitoquímicos y farmacológicos pre clínicos y clínicos, para que en el futuro puedan incorporarse en la terapéutica. La Pitaya (*Hylocereus peruvianus Backeb*) pertenece al orden de Cactales, familia de Cactaceae, es originaria de américa con amplia distribución en México, la variedad de Pitaya amarilla se encuentra en zonas tropicales altas, su fruto tiene forma ovoide, adopta color amarillo en la madurez, su pulpa es blanca con gran cantidad de semillas, es dulce al gusto, posee bajas calorías y presenta alto contenido de vitamina C en un aproximado de 55%, se le atribuye propiedades antioxidantes y entre otros beneficios para la salud..

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

1. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” tendrá efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo?

1.2.2. Problemas específicos

- a. ¿Cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” qué tendrán efecto hepatoprotector en ratas?
- b. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afectará el perfil hepático en ratas?
- c. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afectará los indicadores bioquímicos en ratas?

a. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

1. Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” tendrá efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo

1.3.2. Objetivos específicos

- a. Determinar cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” que tendrán efecto hepatoprotector en ratas
- b. Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afectará el perfil hepático en ratas
- c. Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afectará los indicadores bioquímicos en ratas

a. Justificación e importancia del estudio

En la vida de la especie humana el uso de las plantas ha sido y es fundamental ya que ayudan a la satisfacción de necesidades básicas como alimentos, medicina e incluso para ceremonias rituales.⁹ Se pretende con el presente estudio brindar mayor conocimiento sobre la especie vegetal Pitaya variedad amarilla sobre sus propiedades terapéuticas como agente hepatoprotector y ofrecer alternativa para su cultivo y comercialización con fines terapéuticos. Por otro lado orientar a la producción de extractos con la finalidad de ofrecer productos más estables y con mayor concentración en componentes activos y aprovechar mejor sus usos medicinales. Se ha descrito que los extractos son de interés comercial en la industria farmacéutica, de alimentos, cosméticos y constituiría una fuente de ingreso para los usuarios que se dedican al cultivo y producción de plantas medicinales. Por otro lado se contribuye a proponer alternativa sólo o como

coadyuvante para el tratamiento de enfermedades hepáticas por el cual se promoverá mayor consumo en la población del fruto de pitaya.

1.5. Delimitación de la investigación

El presente trabajo de investigación se orienta a evaluar el efecto hepatoprotector in vivo pre clínico, se usa el modelo de intoxicación hepática inducido por paracetamol.

1.6. Limitaciones de la investigación

1. Limitación Interna: La presente investigación limita sus resultados en la medida que los datos obtenidos son válidos sólo para la muestra en estudio no pudiendo extenderse a otras muestras similares sin el control de las variables en estudio

2. Limitación externa: Referidas en torno a lo siguiente; disponibilidad presupuestaria y la obtención de recursos económicos para la ejecución del programa experimental y otros recursos materiales, disponibilidad de tiempo para recolección de datos y búsqueda de información.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

2.1.1. Nacionales

Mezones L et al. 2016. Realizaron el estudio “Efecto hepatoprotector del *Asparagus officinalis* (espárrago verde) en daño inducido por fármacos antituberculosos”. Utilizaron 32 ratas machos cepa Holtzman y tallos de espárrago, formaron 4 grupos experimentales de 8 ratas cada uno, al grupo 1 administraron solución salina fisiológica por vía oral, a los grupos 2, 3 y 4 administraron espárrago en dosis de 25 mg/Kg, 50 mg/Kg y 100 mg/Kg respectivamente. A todos los grupos administraron Isoniazida y Rifampicina 50 mg/Kg por 21 días. Los criterios de observación fueron; peso, cambio en orina y heces, transaminasa (ALT, AST), bilirrubina total, observación macroscópica de hígado y estructuras hepatocelulares. Hallaron disminución del peso en 8,06% en el grupo 1, así mismo observaron en este grupo que la orina y heces fueron de color marrón oscuro en mayor porcentaje, aumentaron los niveles de transaminasa de manera significativa en el grupo 1 con respecto a los otros grupos. El grupo 1 presentó severa dilatación sinusoidal, infiltración de células inflamatorias y congestión alrededor de vena centrolobulillar a diferencia de los otros grupos de tratamiento. Concluyen que el espárrago tiene efecto hepatoprotector frente al daño producido por fármacos antituberculosos en ratas.¹⁰

Sánchez C et al. 2015. Realizaron el estudio “Efecto hepatoprotector de fruta de la *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol”. Obtuvieron el zumo de tuna mediante un extractor casero y usaron 36 ratas machos con peso comprendido entre 269 g ± 22 g. Para producir intoxicación hepática emplearon paracetamol vía oral 400 mg/Kg y como indicadores determinaron en sangre de rata alanina

aminotransferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), gamma glutamil transferasa (GGT), albúmina sérica, bilirrubina directa, indirecta y total, proteínas totales séricas, especies reactivas de ácido tiobarbitúrico en suero e hígado u el índice hepático. Hallaron que la tuna disminuyó significativamente ALT en tres grupos tratados y el AST y GGT en el grupo IV, en el grupo V y VI disminuyeron la bilirrubina total, en tres grupos tratados con tuna disminuyó el TBARS en tejido hepático y suero respecto al grupo II, el índice hepático fue menor en los grupos IV y VI. Concluyen que la tuna presenta efecto hepatoprotector.¹¹

Guevara A et al. 2014. Realizaron el estudio “Efecto del infuso de *Petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en *Rattus norvegicus var. Albinus*”. Usaron el paracetamol 1 g/Kg/día vía oral por 3 días para inducir a ratas insuficiencia hepática. Formaron 5 grupos de 8 ratas cada uno distribuidos al azar: G1 grupo blanco, G2 grupo control, G3 Grupo experimental perejil 150 mg/Kg luego del daño hepático, G4 grupo patrón silimarina luego de la inducción, G5 grupo experimental II o preventivo perejil antes de la inducción. A los grupos G1, G2, G3 y G4 primero se le indujo daño hepático y a los diez días se realizaron controles de GPT, al grupo G5 primero se administró perejil 150 mg/Kg luego paracetamol, además realizaron a todos los grupos estudios histopatológico de hígado. Hallaron que la insuficiencia hepática inducido por paracetamol fue mayor en los grupos control evidenciando aumento de valores de GPT y mayor alteración en células hepáticas, el perejil disminuyó significativamente los niveles de GPT y menor daño en los hepatocitos, Concluyen que el perejil posee efecto hepatoprotector en ratas frente a la inducción de insuficiencia hepática por paracetamol.¹²

Cañamero C et al. 2014. Realizó el estudio “Pitahaya (*Hylocereus undatus*) deshidratada por ósmosis en algarrobina”. Nos dice que elaboraron pitaya deshidratada con tratamiento térmico, sin tratamiento térmico y con cáscara, con tratamiento térmico cáscara y secado y como fuente de proteínas y fibra y para aceptabilidad del usuario usaron personas con hipercolesterolemia. Hallaron que el mejor tratamiento fue con la pitaya con tratamiento térmico, cáscara y secado ya que disminuyó los niveles de colesterolemia total y LDL, mientras que el HDL no cambios significativos.¹³

2.1.2. Extranjeros

Almasi F et al. 2017. Realizaron el estudio “Efectos Hepatoprotectores del Extracto Hidroalcohólico de *Tribulus terrestris* en Ratas con Inducción de Hígados Grasos no Alcohólico”. Para el estudio usaron ratas Wistar macho divididos en 5 grupos de 6 ratas cada uno. Los grupos experimentales fueron tratados por inyección intraperitoneal diaria de 500 mg/Kg, 700 mg/Kg y 1000 mg/Kg de extracto de T. terrestris en combinación con una dieta alta en fructosa (70%). Al grupo control administraron alimento estándar. Evaluaron los biomarcadores séricos hepáticos, perfil lipídico y estudio histopatológico de hígado. Para el análisis estadístico usaron el análisis de varianza y la prueba pos-hoc de Tukey. Hallaron mejoras en los niveles de perfil lipídico y biomarcadores del tejido hepático en ratas alimentadas con dieta de fructosa y que fueron tratados con el extracto, los niveles de lípidos en hepatocitos también disminuyeron significativamente. Concluyen que el extracto hidroalcohólico de T. terrestris tiene efectos hepatoprotector frente al hígado graso no alcohólico.¹⁴

Tillán I et al. 2009. Realizaron el estudio “Actividad hepatoprotectora del extracto acuoso seco de *Boerhavia erecta* L. (tostón) en ratas”.

Usaron como material biológico ratas machos Wistar a las cuales administraron el extracto acuoso seco por vía oral 250 mg/Kg y 500 mg/Kg por 5 días, el último día indujeron daño hepático con una mezcla de tetracloruro de carbono y aceite de oliva (1:1) 1 mL/Kg, luego de 24 horas obtuvieron muestras de sangre para evaluar la actividad enzimática de alanino aminotransferasa, luego cada animal fue sacrificado y se extrajo el hígado para realizar estudio histológico. Hallaron que la actividad de la alanino aminotrasferasa disminuyó significativamente y con la dosis de 500 mg/Kg hubo protección del 100 % del parénquima de los animales. Demostraron que el extracto acuoso tiene efecto hepatoprotector in vivo.¹⁵

Bafna A et al. 2005. Realizaron el estudio. “Efecto del extracto de metanol de *Achyranthes aspera linn.* Sobre la hepatotoxicidad inducida por rifampicina en ratas”. Utilizaron extracto de metanol de las partes aéreas de *Achyranthes aspera linn*, para inducir hepatotoxicidad a ratas usaron rifampicina 1 g/Kg y el extracto en cinco diferentes niveles de dosis. La hepatotoxicidad se evidenció con aumento significativo de los niveles de los indicadores SGPT-ALT, SGOT-AST, FA y bilirrubina como indicadores de daño hepático agudo y obstrucción biliar. Luego del tratamiento con el extracto de metanol se evidenció disminución en dosis dependiente de los indicadores antes mencionado, hallaron que la mínima dosis eficaz del extracto de metanol fue 100 mg/Kg, en los estudios histopatológicos también mejoraron la actividad hepatoprotectora. Concluyen que el extracto de metanol tiene efecto antihepatotóxico in vivo frente a la intoxicación inducida por rifampicina.¹⁶

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Fisiología hepática

El hígado se encuentra situado debajo del diafragma, en la parte superior derecha de la cavidad abdominal, debajo de las costillas y encima del riñón y estómago, es de color marrón rojizo, pesa en los adultos 1,3 Kg aproximadamente, tiene la capacidad de regenerar sus tejidos y volver a su estado inicial. Cada minuto fluye aproximadamente 1.5 L de sangre. Por medio de la arteria hepática recibe sangre oxigenada, y la vena porta suministra sangre que contienen sustancias absorbidas en el intestino, nutrientes y toxinas, luego de filtrar la sangre las deriva mediante la vena hepática al corazón.¹⁷ El hígado realiza más de 500 funciones y es el gran órgano depurador del organismo, entre sus funciones mencionamos:

1. Filtrar y depurar la sangre procedente del intestino
2. Producir bilis, la misma que se encarga de; metabolizar colesterol y bilirrubina, absorber vitaminas liposolubles, digerir grasa en el intestino, transporte a la mucosa intestinal de las inmunoglobulinas A.
3. Metabolizar proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales, convertir en grasa a las proteínas y carbohidratos. En el metabolismo de los carbohidratos (produce glucosa a partir de galactosa y fructosa, almacena glucógeno); en el metabolismo de lípidos (gluconeogénesis, formación de fosfolípidos, lipoproteínas y colesterol); en el metabolismo de proteínas (desaminación de aminoácidos, produce úrea y suprime el amoniaco en líquidos corporales, producción de proteínas plasmáticas)
4. Función de desintoxicación. Las células de Kupffer presentes en el hígado tienen la capacidad de fagocitar bacterias, virus, parásitos y macromoléculas provenientes del intestino el cual forman una barrera para las toxinas. Existen también en el hígado células PIT similares a linfocitos granulares y células asesinas las cuales protegen contra

infecciones por virus. Por otro lado participan en la formación de antígenos durante procesos de infección e inflamación.

5. Producción de fibrinógeno, heparina y protrombina.

2.2.2. Exámenes para evaluación de lesión hepática

Los exámenes para evaluación de lesión hepática se realizan para; observar la presencia o ausencia de daño hepático, realizar diagnóstico específico, establecer diagnóstico y determinar severidad así como para el monitoreo de daño hepático. Los indicadores recomendados para evaluar la función hepática son: Albúmina, Proteínas totales, Alanino aminotransferasa (ALT o TGP), Aspartato aminotransferasa (AST o TGO), fosfatasa alcalina, bilirrubina directa y total.¹⁸

1. La aminotransferasas (ALT Y AST) son los más utilizados para determinar la presencia de necrosis hepática. Estas enzimas utilizan vitamina B6 como cofactor y catalizan la transferencia de grupos aminos para dar origen ácido pirúvico y oxalacético, aumentan en el plasma cuando se produce daño en la membrana celular del hepatocito. El ALT se encuentra principalmente en el parénquima hepático y el AST en el hígado, músculo esquelético, miocardio, pulmones y páncreas.¹⁹
2. Fosfatasa Alcalina (FA) y Gammaglutamiltranspeptidasa (GGT). La enzima GGT se encuentra en el epitelio biliar y hepatocitos y la FA se encuentra en hueso, hígado, intestino y placenta, la elevación en los niveles de estas enzimas refleja un estado de colestasis.¹⁹
3. Bilirrubina. Es producto del catabolismo de la hemoglobina presente en suero en forma no conjugada (bilirrubina indirecta liposoluble) o conjugada (bilirrubina directa hidrosoluble). Su elevación puede englobar alteraciones en el transporte y captación dentro de los

hepatocitos del pigmento, alteraciones en la glucoronoconjugación o alteración en la excreción.¹⁹

4. **Albúmina.** Se sintetiza en el hígado y posee vida media de 20 días, útil para indicar fallo hepático agudo, disminuye en la cirrosis hepática y otras alteraciones extra hepáticas como enteropatías, desnutrición, neuropatías, trastornos hormonales o síndrome nefrótico. Por tanto no es específico para indicar daño hepático y suele emplearse como pronóstico en cirrosis hepática.¹⁹

2.2.3. Enfermedades hepáticas

- a. **Cirrosis Hepática.** Se refiere al aumento de consistencia del hígado debido a la fibrosis (cicatrices) hepática como resultado de procesos inflamatorios y destrucción de hepatocitos en forma crónica.²⁰ Los estudios histopatológicos revelan fibrosis, necrosis celular y nódulos de regeneración. Representa el estado final de enfermedades crónicas hepáticas como hepatitis viral. Alcohólica, obesidad, metales pesados o alteraciones autoinmunes. Se manifiesta con ictericia, hipoalbuminemia, ascitis, disminución del tiempo de protrombina y plaquetopenia, en estados avanzados produce alteraciones en el estado mental es decir encefalopatía hepática.²¹
- b. **Ictericia.** Se manifiesta por coloración amarilla de la piel y mucosa debido a la acumulación del pigmento biliar. Se produce por alteración en el metabolismo de la bilirrubina y cuando esta supera los 2 mg/dL. La bilirrubina puede encontrarse en forma no conjugada (liposoluble) o conjugada (hidrosoluble), la primera suele depositarse en la piel y mucosas y no es filtrado a nivel renal, el segundo se deposita en la esclerótica, piel, paladar y vasos sanguíneos y si es filtrado a nivel renal.²²
- c. **Colestasis.** Caracterizado por ictericia, prurito y aumento de fosfatasa alcalina en sangre además, alteración de excreción de bilis y aniones orgánicos. Esta alteración se manifiesta en los hepatocitos en el parénquima hepático y recibe el nombre de colestasis

intrahepática, si la alteración es posterior a la salida de vías biliares recibe el nombre de extrahepático.²²

- d. **Hepatitis Viral.** Es una infección causada por un grupo de virus denominado A, B, C, D, y E, los cuales producen inflamación aguda del hígado y se caracteriza por fiebre, problemas gastrointestinales como vómitos, náuseas e ictericia, las lesiones histopatológicas que producen son idénticas. Es un problema de salud que ataca con frecuencia al ser humano a nivel mundial.²³
- e. **Cirrosis Alcohólica.** La función hepática se altera cuando el hígado elimina alcohol en cantidades importantes el cual puede llegar a destrucción de células hepáticas o puede alterarse por infiltración de grasa, se inflaman (hepatitis alcohólica) o sufrir fibrosis (cicatrices) e irreversibles (cirrosis). La cirrosis por alcohol suele desarrollarse después de más de 10 años de consumo de alcohol en forma crónica y sólo se desarrolla en aproximadamente 20% en los individuos por lo que parece existir predisposición genética. Así mismo casi el 100 % de los individuos que consumen alcohol en exceso desarrollan diversas formas de daño al hígado, de estos individuos suele presentar hígado graso con inflamación (heteatohepatitis) y cirrosis.²
- f. **Hepatopatías por depósito:** Las alteraciones hepáticas por depósitos suelen aparecer por acumulación de proteínas, metales, lípidos u otras sustancias causados por trastornos metabólicos adquiridos o hereditarios que conducen a insuficiencia hepática aguda o crónica.²⁴

Tabla 1. Clasificación de enfermedades hepáticas por depósito

	Sustancia acumulada	Tratamiento
<i>Enfermedades hereditarias</i>		
Hemocromatosis	Hierro	Flebotomías, trasplante
Enfermedad de Wilson	Cobre	Quelantes del cobre, cinc, trasplante hepático
Déficit de α -1-antitripsina	α -1-antitripsina	Sintomático, trasplante hepático
<i>Porfirias hepáticas</i>		
Porfiria aguda intermitente	Ácido delta-aminolevulínico y porfobilinógeno	Arginato de hematina, Glucosa y tratamiento sintomático
Porfiria cutánea tarda	Uroporfirina, hepatocaroxiporfirina, inclusiones aciculares	Flebotomías, cloroquina
Porfiria eritropoyética	Protoporfirina, cristales birrefringentes	Arginato de hematina, ácidos biliares, colestiramina, trasplante hepático
Glucogenosis tipo I, III, IV, VI y IX	Glucógeno	Dietético. Trasplante hepático
Mucopolisacaridosis tipo I, II, III, IV y VII	Mucopolisacáridos	Trasplante de médula ósea
Enfermedad de Gaucher	Glucosilceramida	Reposición enzimática
Enfermedad de Niemann-Pick	Esfingomiéline, colesterol	Reposición enzimática
Síndrome de Dubin-Johnson	Pigmento similar a melanina	No precisa
<i>Enfermedades adquiridas</i>		
Sobrecarga férrica en enfermedades hematológicas	Hierro	Quelantes del hierro
Sobrecarga férrica en hepatopatías crónicas	Hierro	Flebotomías
Esteatosis hepática	Triglicéridos	Sintomático
Amiloidosis secundaria	Amiloide	Sintomático
Intoxicación por Cobre	Cobre	Quelantes del cobre. Retirada de recipientes de latón para preparación de alimentos
(cirrosis infantil de la India)		
Porfirias hepáticas secundarias	Ácido delta-aminolevulínico, porfobilinógeno, protoporfirinógeno o coproporfirinógeno	Sintomático
Glucogenosis hepática diabética	Glucógeno	Sintomático

Fuente: Quintero y Pardo 2007.²⁴

g. Cáncer Hepático. Enfermedad en que las células hepáticas se alteran y crecen sin control hasta formar tumores, es decir las células normales pasan a ser células tumorales debido a cambios en su DNA, y con capacidad de emigrar a otros lugares y causar metástasis y por poseer el hígado diferentes tipos de células pueden causar diferentes tipos de tumores, siendo el más común el carcinoma hepatocelular (hepatocarcinoma). La cirrosis es el factor de riesgo de mayor importancia para el desarrollo del tumor maligno, la inflamación crónica que acompaña y precede a la cirrosis favorece la aparición de mutaciones en el DNA y desarrollo de focos pretumorales y en conjunto con otros factores suelen desarrollar tumores.²⁴

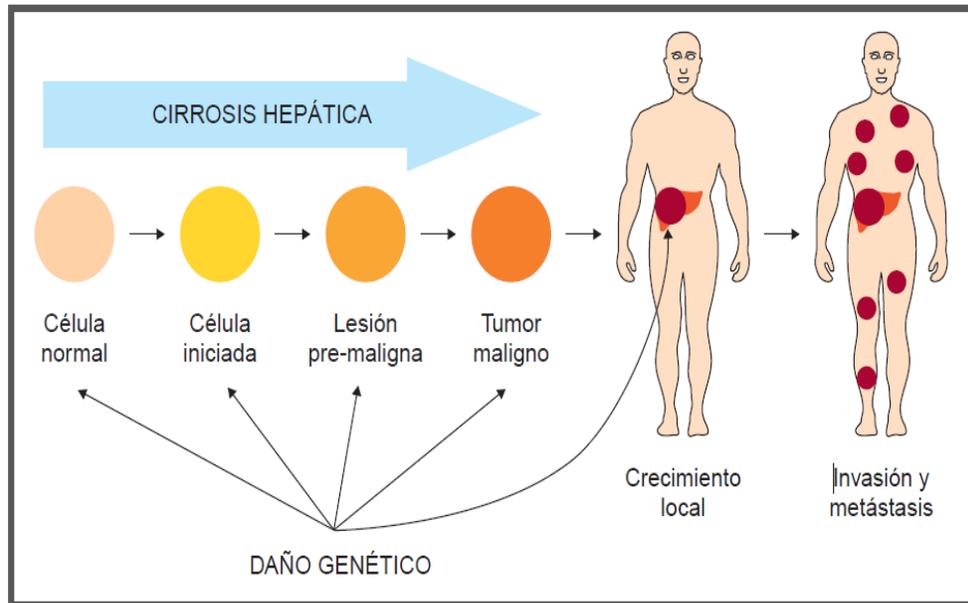


Figura 1. Esquema del desarrollo de un tumor hepático maligno

Fuente: Quintero y Pardo 2007.²⁴

2.2.4. Obtención de extractos

Se obtienen extractos por mezclas de diversos tejidos de plantas con solventes adecuados como agua, etanol, metanol entre otros. El tejido vegetal debe someterse a tratamiento preliminar como; inactivación de enzimas, trituración o molienda, los materiales contaminantes deben ser eliminados antes del proceso de extracción. Los métodos de extracción más comúnmente usados tenemos: Destilación simple, destilación por soxhlet, percolación, maceración. Los extractos permiten aumentar los conocimientos de los recursos naturales para brindar mejor aprovechamiento y proporcionar valor agregado a la comercialización como sustancias puras o extractos. Previo a la obtención de extractos es necesario realizar la identificación taxonómica, luego realizar el tamizaje fitoquímico para determinar cualitativamente los componentes activos presentes en la especie vegetal.²⁵

2.2.5. Componentes activos de las plantas

a. Flavonoides. Se encuentran principalmente en las hojas, flores y frutos de las plantas y muy poco en algas y hongos, sintetizados por el metabolismo secundario en las especies vegetales. La ruta biosintética de los flavonoides consiste en primer lugar en condensación de una molécula de p-cumaril-CoA con tres moléculas de malonil-CoA, reacción catalizada por la calcona sintasa para producir naringerina calcona, precursor de las antocianinas y flavonoles, por otro lado la condensación catalizada por la estilbeno sintasa conduce a la formación de estilbenos importante para el mecanismo de protección de las plantas frente a patógenos.²⁶ Estudio in vivo han demostrado diversas propiedades farmacológicas de los flavonoides como actividad analgésica, antiinflamatoria, antitumoral, antianginoso, antiulceroso, hepatoprotector, antialérgico, protección vascular.²⁷

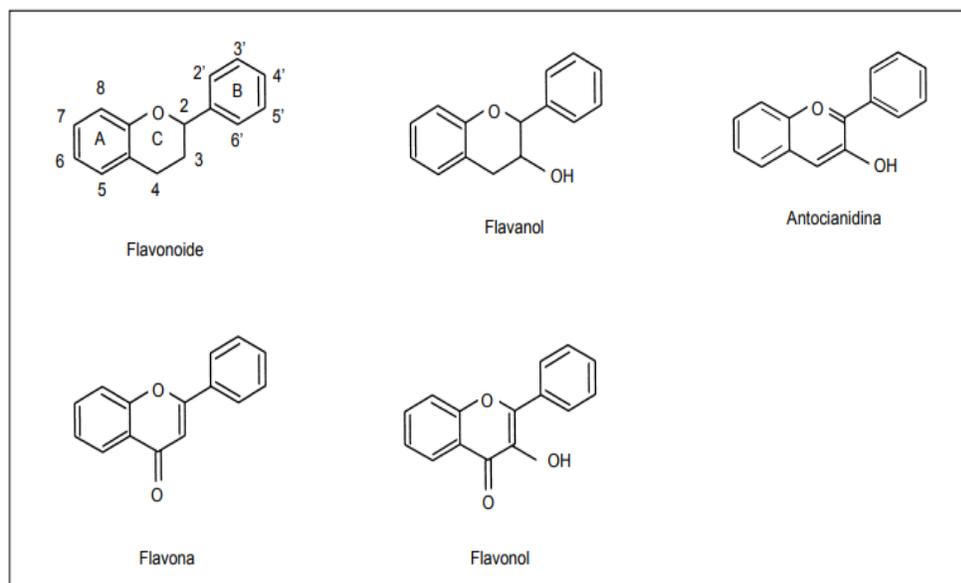


Figura 2. Estructura básica y tipos de los flavonoides

Fuente: Martínez S, et al. 2002.²⁸

Tabla 2. Flavonoides su estructura y parte de sustitución

Flavonoide	Estructura anillo C	Parte de sustitución
Flavanona	naringina	5,4'-OH;7-O-Neo ^a
	hesperidina	5,3'-OH;4'-OMe ^a
	eriodictiol	5,7,3',4'-OH
Flavona	tangeritina	5,6,7,8,4'-OMe ^a
	luteolina	5,7,3',4'-OH
	apigenina	5,7,4'-OH
	kaemferol	5,7,3,4'-OH
Flavonol	guercetina	5,7,3,3',4'-OH
	rutina	5,7,3',4'-OH;3-o-Rut ^a
	genisteina	5,7,4'-OH
Isoflavonoides	diadzeina	7,4'-OH
	orobol	5,7,3',4'-OH
	apigenidina	5,7,4'-OH
Antocianidinas	luteolinidina	5,7,3,4'-OH
	cianidina	3,5,7,3',4'-OH
	sulfuretina	6,3',4'-OH
Auronas	leptosidina	6,3',4'-OH;7-OMe ^a

^aNeo: neohesperidosa; Me: metilo, Rut: rutinosa

Fuente: Cartaya et al. 2001.²⁹

Tabla 3. Flavonoides y sus principales efectos farmacológicos

ACTIVIDADES FARMACOLÓGICAS	COMPUESTOS
Analgésica	Quercetina, hesperidina, miricitrina, 5,7-dimetoxi-flavanona-4'-O-[β-D-apiofuranosil-(1→2)]-β-D-glucopiranosido, 2'-hidroxi-4',6'-dimetoxi-chalcona-4-O-β-D-glucopiranosido
Antialérgica	Quercetina
Antiatérogénica	Quercetina
Anticancerígena	Baicaleína, epigallocatequina, kaenferol-3-O-β-D-glucopiranosido, nobiletina, quercetina, rutina, tangeretina, tricina, woogonina
Antidiabética	Quercetina
Antidiarréica	Apigenina, kaenferol, morina, miricitrina, naringenina, quercetina, quercitrina
Antihepatotóxica	Gospipina, hispidulina, hidroxietilrutósido, kolavirona, quercetina, silimarina
Antiinflamatoria	Apigenina, crisina, gospipina, hibrifolina, hipolaetina-8-β-D-glucósido, luteolina, miricitrina, nepetina, quercetina, quercitrina, rutina, sidertoflavonona
Antiosteoporótica	Ipriflavona
Antiespasmódica	Apigenina, crisina, kaenferol, quercetina
Antiulcerosa	Hipolaetina-8-glucósido, kaenferol, quercetina, rutina, solona, naringina
Protector Vascular	Antocianidina, citrina, rutósido

Fuente: Cartaya et al. 2001.²⁹

b. Compuestos fenólicos. Se encuentran en las plantas generalmente formando glicósidos, son solubles en agua por su naturaleza polar, al reaccionar con cloruro férrico presentan color purpura, verde, azul o negro. En su biosíntesis interviene la ruta del ácido siquímico y del ácido malónico, en el primero se forma el ácido siquímico y derivados de aminoácidos aromáticos. En el segundo se produce en hongos y bacterias y es importante fuentes de fenoles.²⁶

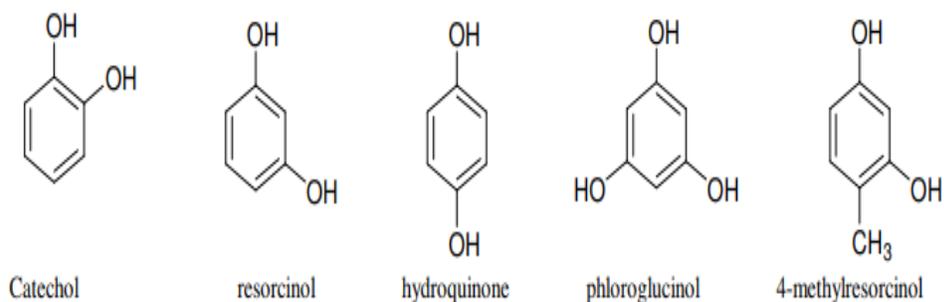


Figura 3. Compuestos fenólicos simples

Fuente: Peñarrieta J, et al. 2014.³⁰

c. Esteroides y/o triterpenoides. Los esteroides derivan del escualeno y en su estructura contienen un grupo alcohol, los principalmente encontrados en las plantas son el estigmasterol y el sitosterol. Los triterpenos por lo general son tetra y pentacíclicos en las cuales se pueden encontrar grupos hidroxilo, ácido carboxílico y cetónicos.²⁶

d. Taninos. Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. Los taninos se utilizan en el curtido porque reaccionan con las proteínas de colágeno presentes en las pieles de los animales, uniéndolas entre sí; de esta forma, aumenta la resistencia de la piel al calor, a la putrefacción por agua y al ataque por microbios.

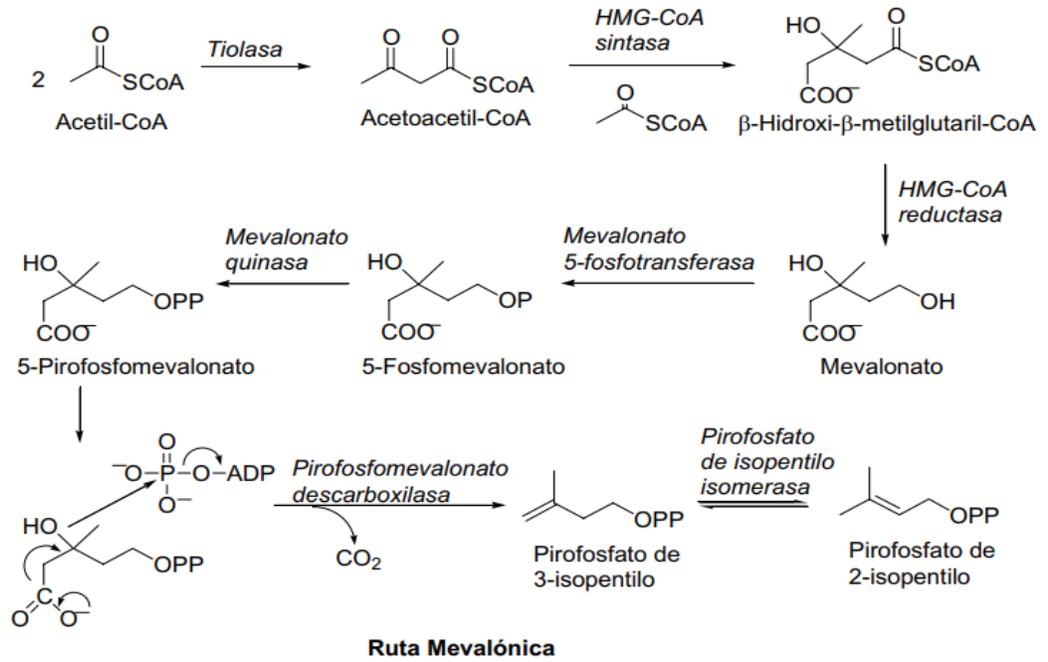


Figura 4. Biosíntesis de terpenos, ruta mevalónica

Fuente: Rosellón A. 2005.³¹

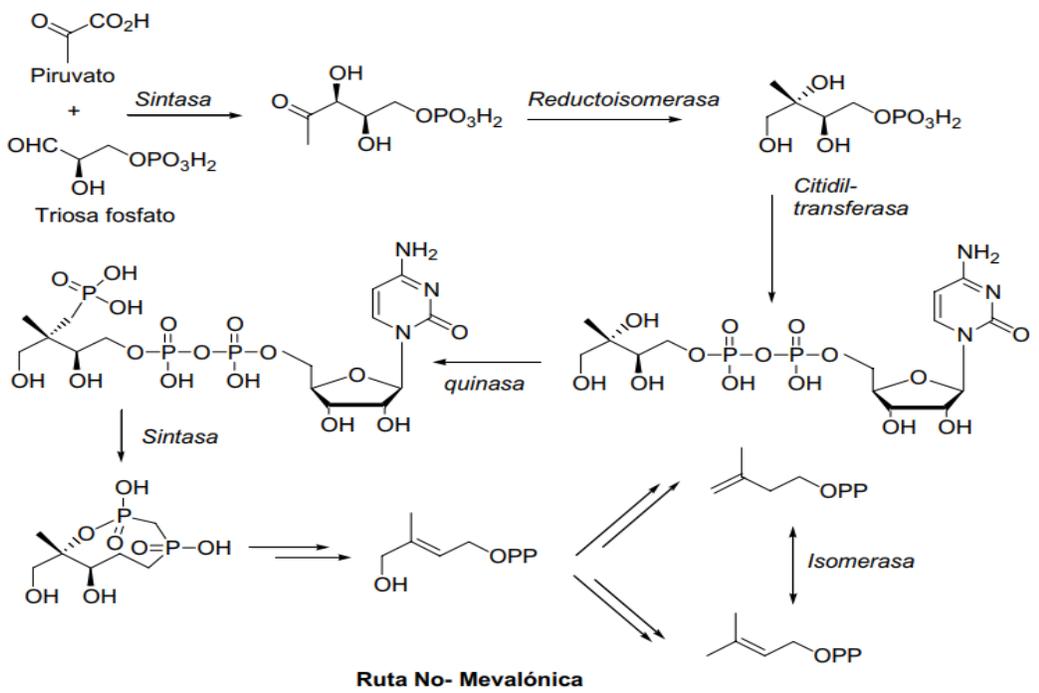


Figura 5. Biosíntesis de terpenos, ruta no mevalónica

Fuente: Peñarrieta J, et al. 2014.³¹

e. Alcaloides. Son compuestos nitrogenados deriva de aminoácidos y se encuentran libres o formando glicósidos, sintetizados generalmente a partir del triptófano, lisina y tirosina, son activos fisiológicamente y se le atribuyen diversas propiedades biológicas como analgésicos, antiespasmódicos, sedantes, cicatrizantes entre otros.²⁶

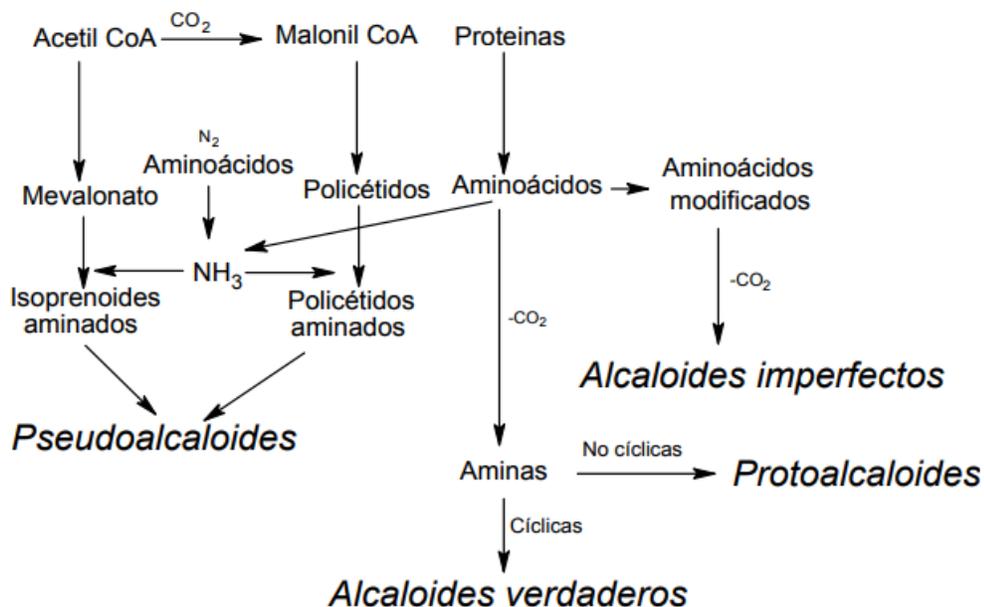


Figura 6. Alcaloides, aspectos biogénéticos

Fuente: , et al. 2014.³²

2.2.6. *Selenicereus megalanthus* (Pitaya)

La pitaya se ubica en la siguiente clasificación taxonómica

Clase	Equisetopsida
Sub clase	Magnoliidae
Súper orden	Caryophyllanae
Orden	Caryophyllales
Familia	Cactaceae
Género	<i>Selenicereus</i>
Especie	<i>Selenicereus megalanthus</i>
Nombre común	Pitaya amarilla

La pitaya es una especie vegetal que pertenece a la familia Cactaceae, orden Caryophyllales, sus flores son blancas, su fruto tiene forma aovada. En América Central lo encontramos generalmente en Costa Rica y Nicaragua, en América del Sur es posible encontrar en Venezuela, Ecuador, Colombia y Perú. En Perú se puede encontrar en la costa norte y valle del río Marañon. También es conocida como pitahaya. Basado en su apariencia se comercializa en el mercado internacional como exótica, su pulpa constituye alimento dulce y fresco y tiene un alto contenido de vitamina, B, C y E y son aceptados por su valor nutricional como se indica en la tabla 4.³³

Tabla 4. Valor nutricional en 100 g de pulpa de Pitaya

Composición de 100g de parte comestible	
Calorías	54
Agua	89,40 g
Proteínas	1,40 g
Grasa total	0,40 g
Carbohidratos	13,20 g
Ceniza	0,60 g
Calcio	10,0 mg
Fósforo	26,0 mg
Hierro	1,30 mg
Tiamina	0,04 mg
Riboflavina	0,04 mg
Niacina	0,30 mg
Ácido ascórbico	8,0 mg

Fuente. Vite. 2014.³³

Así mismo en el fruto se han encontrado la presencia de antioxidantes por su contenido de fenoles, le atribuyen propiedades

anticancerígenas por su propiedad de inhibir la mitosis en células cancerígenas, en el fruto y la cáscara abundan los polifenoles que disminuyen el crecimiento de células del melanoma. Por otro lado se han encontrado la presencia de un pigmento nitrogenado derivado de la tirosina, la betalaina, al cual se le atribuye la propiedad de calmar el estrés, y puede ser de utilidad como colorante para productos alimenticios y reemplazar a los colorantes artificiales. Otra propiedad del fruto es como laxante natural el cual es consumido a lo natural o en zumos. La planta luego de la siembra a los 3 ó 4 años alcanza la producción máxima y puede llegar a una vida útil superior a los diez años, se ha observado que en México el rendimiento por hectárea puede alcanzar de 8 a 10 toneladas pudiendo llegar hasta 15 toneladas, su precio en el mercado peruano puede ser entre 25 a 30 soles por kilo el cual su cultivo resulta ser rentable. La cosecha se inicia a partir del segundo año con promedio de 4 frutos por planta, al quinto o sexto año alcanza su producción promedio.³³ En Boyacá Colombia, se cultiva entre 1200 a 1800 msnm y temperatura entre 18 a 20 °C, siendo las zonas adecuadas para su cultivo entre 1400 a 1700 msnm y temperatura entre 14 y 26 °C.³⁴

Las especies vegetales de la familia Cactaceae son de género *Hylocereus* (pitaya roja), *Selenicereus* (pitaya amarilla) y *Stenocereus* (pitaya roja y amarilla). Los frutos de la variedad amarilla poseen espinas en las mamilas y la variedad rojo no y, de acuerdo a la especie los frutos pueden tener cáscara verde o roja. Los cladiolos de la pitaya amarilla es color verde, opaca y bordes cóncava y la pitaya roja es verde más oscuro, brillantes y el borde de las aristas es convexo.³⁵



Figura 7. Pitaya Amarilla (*Selenicereus*) **Figura 2.** Pitaya roja (*Hylocereus*)

Fuente: Medina J. 2013.³⁵

La pitaya amarilla tiene raíces fibrosas con dos o más raíces gruesas de las cuales originan otras raíces de tipo secundaria, pueden alcanzar hasta cuatro o más metros de altura. Desde el punto de vista botánico los tallos se denominan cladiolos, sustituyen a las hojas ya que realizan la fotosíntesis. Los tallos en la pitaya amarilla tiene forma cóncava entre arista y arista, esto le sirve de canal para las aguas que cae en la selva llegue a las raíces, aéreas o las del suelo. Las flores pueden variar en longitud entre 30 y 40 cm con muchas protuberancias y brácteas, sépalos de color amarillo, pétalos blancos, poseen más de 300 estambres y estigmas con múltiples divisiones, se abren en las noches y se cierran en las primeras horas de la mañana. El fruto puede pesar entre 70 y 390 g, y puede medir entre 80 y 140 mm de longitud, es una baya de color amarillo, presenta protuberancias llamada mamilas, tiene gran número de semillas de color negro o café, tiene una cáscara gruesa que suele representar entre el 46 y 55 % del peso total, se ha determinado que la vida media en estante es de cuatro semanas, el fruto es rico en calcio, fósforo y vitamina C y se le atribuye propiedades antioxidantes.³⁵

2.2.7. Screening fitoquímico

Son técnicas cualitativas usadas para identificar grupos de componentes químicos en especial de plantas medicinales, se orienta al fraccionamiento y a la extracción de estos componentes. Se basa en técnicas de coloración y precipitación por el empleo de reactivos específicos el cual es complementado con otras técnicas como la cromatografía para determinar los componentes químicos y una probable estructura.³⁶

Tabla 5. Identificación de principales grupos de componentes activos en extractos de plantas

Identificación	Reactivo	Reacción positiva
Alcaloides	Bouchardat (solución de yodo iodurada)	Precipitado marrón
	Mayer (solución de yodo mercuriato potásico)	Precipitado blanco-amarillo
	Dragendorff (solución de yodo-bismutado potásico)	Precipitado naranja-rojizo
Antraquinonas	Bornträger	Coloración rojiza
Flavonoides	Mg ⁺⁺ y unas gotas de alcohol/HCl	Color rojizo Naranja para flavonas, rojo-rojo cereza para flavonoles, rojo violáceo para flavononas
Saponinas	Soluciones acuosas	Producción de abundante espumas
Taninos	Gelatina salada (solución al 1% de gelatina y 10% de NaCl en agua)	Formación de precipitado, indican presencia de taninos hidrolizables o condensados
	Reacción Stiasny (formol/HCl (2:1)) más calor	Precipitado floculoso presencia de taninos condensados
	Acetato sódico con unas gotas de Cl ₃ Fe	Coloración azul, presencia de taninos hidrolizados

Fuente: Elaboración propia

2.2.8. Identificación de parámetros bioquímicos hepáticos

Para determinar los niveles de parámetros bioquímicos se emplean técnicas de laboratorio clínico como se indican a continuación:

1. Transaminasas

Fundamentos del método

La GOT cataliza la siguiente reacción:



La GPT cataliza la siguiente reacción:



El piruvato formado (el oxalacetato es inestable y se transforma en piruvato), reacciona con la 2,4-dinitrofenilhidracina produciéndose, en medio alcalino, un compuesto coloreado que se mide a 505 nm.

PROCEDIMIENTO

En dos tubos marcados B (Blanco) y D (Desconocido), colocar:

	B	D
Reactivo A (GOT o GPT)	0,5 ml	0,5 ml

Colocar en baño de agua a $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ unos minutos.

Suero	-	100 ul
Agua destilada	100 ul	-

Mezclar por agitación suave e incubar exactamente 30 minutos y agregar:

Reactivo B	0,5 ml	0,5 ml
------------	--------	--------

Mezclar. Dejar 10 minutos a 37°C . Luego agregar:

Reactivo C diluido	5 ml	5 ml
--------------------	------	------

Mezclar por inversión y retirar del baño. Después de 2 minutos leer la absorbancia en fotocolorímetro con filtro verde (500-550 nm); en espectrofotómetro a 505 nm o Hg 546, llevando el aparato a cero D.O. con agua destilada.

2. Fosfatasa alcalina

Fundamentos del método

La fosfatasa alcalina desdobla al fenilfosfato de sodio en medio alcalino tamponado con aminometil propanol (AMP). El fenol liberado se determina por reacción con 4-amino- antipirina y ferrocianuro como agente oxidante. El color desarrollado es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 520 nm.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido) colocar:

	B	S	D
Reactivo A reconstituido	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
Preincubar en baño de agua a 37°C unos minutos. Luego agregar:			
Suero	-	-	50 ul
Standard	-	50 ul	-
Mezclar, incubar exactamente 10 minutos (cronómetro) <u>y agregar:</u>			
Reactivo C	2,5 ml	2,5 ml	2.5 ml

Mezclar de inmediato cada tubo. Retirar los tubos del baño y leer en espectrofotómetro a 520 nm o en fotocolorímetro con filtro verde, llevando el aparato a cero de absorbancia con agua destilada.

3. Albúmina

Fundamentos del método

La albúmina reacciona específicamente (sin separación previa) con la forma aniónica de la 3,3', 5,5'-tetrabromo cresolsulfon ftaleína (BCF). El aumento de absorbancia a 625 nm respecto del Blanco de reactivo, es proporcional a la cantidad de albúmina presente en la muestra.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador/Suero Patrón	-	10 ul	-
Muestra	-	-	10 ul
Reactivo A	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

Mezclar con varilla. Mantener los tubos entre 15 y 28°C durante 10 minutos. Leer en espectrofotómetro a 625 nm o en fotocolorímetro con filtro rojo (620-650 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

4. Proteínas totales

Fundamentos del método

Los enlaces peptídicos de las proteínas reaccionan con el ion cúprico en medio alcalino, para dar un complejo color violeta con máximo de absorción a 540 nm, cuya Intensidad es proporcional a la concentración de proteínas totales en *la* muestra.

PROCEDIMIENTO

En tres tubos marcados B (Blanco), S (Standard) y D (Desconocido), colocar:

	B	S	D
Calibrador / Suero Patrón	-	20 ul	-
Muestra	-	-	20 ul
Reactivo A	2,0 ml	2,0 ml	2,0 ml

Mezclar con varilla. Incubar durante 15 minutos a 37°C. Leer en espectrofotómetro a 540 nm o en fotocolorímetro con Filtro verde (520-560 nm) llevando a cero con el Blanco de Reactivo.

Fundamentos del método

La bilirrubina reacciona específicamente con el Ácido sulfanilicodiazotado produciendo un pigmento color rojo - violáceo (azobilirrubina) que se mide fotocolorimétricamente a 530 nm. Si bien la bilirrubina conjugada (directa) reacciona directamente con el diazorreactivo, la bilirrubina no conjugada (indirecta) requiere la presencia de un desarrollador acuoso (Reactivo A) que posibilite su reacción. De forma tal que, para que reaccione la bilirrubina total (conjugada y no conjugada) presente en la muestra, debe agregarse benzoato de cafeína al medio de reacción.

PROCEDIMIENTO

I- TECNICA RARA SUERO

En tres tubos marcados B (Blanco). D (Directa) y T (Total) colocar:

	B	D	T
Muestra (suero)	200 ul	200 ul	200 ul
Agua destilada	2.5 ml	2,5 ml	-
Reactivo a	-	-	2.5 ml
Reactivo b	200 ul	-	-
Diazorreactivo	-	200 ul	200 ul

Mezclar de inmediato cada tubo por inversión. Luego de 5 minutos, leer en espectrofotómetro a 530 nm o en fotocolorímetro con filtro verde (520-550 nm). Llevando el aparato a cero con agua destilada. Las lecturas pueden efectuarse entre 4 y 15 minutos, excepto para la bilirrubina directa que debe leerse a los 5 minutos exactos. Si se lee antes, habrá subvaloración de los resultados por reacción incompleta. Si se lee después, habrá sobrevaloración porque comienza a reaccionar la bilirrubina libre.

Sueros ictericos: debe emplearse la técnica descrita pero con menores cantidades de muestra, de acuerdo a la severidad de la ictericia. De tal forma, en caso de ictericia moderada se usarán 50 ul de suero mientras que frente a una ictericia intensa se requieren solo 20 ul. Multiplicar los resultados obtenidos por

3,79 y 9.38 respectivamente.

II- TECNICA PARA LIQUIDO AMNIOTICO

Se determina bilirrubina total. En dos tubos marcados B (Blanco) y T (Total) colocar:

	B	T
Muestra (líquido amniótico)	1 ml	1 ml
Agua destilada	1.5 ml	-
Reactivo A	-	1.5 ml
Reactivo B	0.2 ml	-
Diazorreactivo	-	0.2 ml

Proceder de la misma manera que en la técnica 1. Dividir el resultado final por 5.37.

2.3. Hipótesis

2.3.1. Hipótesis general

- 1 El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” si tiene efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo

2.3.2. Hipótesis específicas

- a. El extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” tiene metabolitos secundarios responsables del efecto hepatoprotector en ratas
- b. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afecta el perfil hepático en ratas
- c. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “Pitaya” afecta los indicadores bioquímicos en ratas

2.4. Variables

2.4.1. Tabla de operacionalización de variables

Variables	Definición operacional	Dimensión o aspecto	Indicadores
Variable Independiente Extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya”	Los componentes activos presentes en extractos de especies vegetales presentan propiedades biológicas muy variadas y suelen aplicarse en la terapia de diferentes enfermedades.	Principales grupos de metabolitos secundarios	Flavonoides, Taninos Alcaloides. Esteroides y/o triterpenoides, Azúcares reductores, Leucoantocianidinas Sesquiterpenlactonas
Dependiente: Actividad hepatoprotectora	Los modelos de animales de experimentación son muy empleados en la valoración de actividad biológica de diferentes sustancias y sirven de sustento científico para el empleo efectivo y seguro de extractos vegetales	Aspectos bioquímicos de Perfil hepático	Inducción de intoxicación hepática con Paracetamol y se evaluarán los indicadores: Transaminasa (TGP Y TGO), Fosfatasa alcalina, albúmina, bilirrubina directa e indirecta, ,

2.5. Marco conceptual

1. **Albúmina:** Proteína soluble en agua, contiene azufre y se encuentra en la clara del huevo, plasma sanguíneo y linfático
2. **Antioxidantes.** Conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales u oxidantes como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando sus funciones vitales
3. **Bilirrubina:** Es un pigmento de color amarillo, se produce por degradación de la hemoglobina y se ubica en la bilis
4. **Cirrosis:** Enfermedad irreversible y crónica hepática, se produce por disfunción de las células del hígado y aumenta el tejido fibroso hepático.
5. **Colestasis:** Afección que disminuye u obstruye el paso de la bilis del hígado
6. **Fibrinógeno:** Sustancia presente en sangre, soluble, albuminoide, que se descomponen y dan origen a fibrina
7. **Fosfatasa alcalina:** Enzima presente en hígado, riñones, hueso, sistema digestivo, ante algún daño hepático se filtra a la circulación, los niveles altos indican afecciones hepáticas o problemas óseos
8. **Flavonoides:** Son compuestos naturales presentes en las plantas, administrado en el organismo protege del daño oxidativo
9. **Ictericia:** Exceso de bilirrubina en sangre y se manifiesta con coloración amarilla en la piel y esclerótica de los ojos
10. **Proteína total:** La prueba de proteína total mide la presencia de globulina y albúmina en sangre, la primera importante para el sistema inmunitario y el segundo impide escape de líquido de los vasos sanguíneos
11. **Principios activos:** Sustancias químicas usadas para el tratamiento de enfermedades o evitar procesos fisiológicos adversos
12. **Taninos:** Compuestos polifenólicos con propiedades astringentes y responsables del sabor amargo en las plantas
13. **Transaminasas:** Enzima encargadas de transferir grupos aminos de una molécula a otra

CAPÍTULO III: MÉTODO

3.1. Tipo de estudio

El presente es un estudio de tipo experimental, prospectivo, transversal

- a. Experimental: Porque se trabajó con grupos controles, se manipuló la variable independiente, las muestras obtenidas fueron al azar
- b. Prospectivo: Porque se realizó del presente al futuro
- c. Transversal: Porque se realizó una sola medición

3.2. Diseño del estudio

3.2.1. Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* "Pitaya" (CYTED³⁷ 1995)

Se usó el fruto de la Pitaya variedad amarillo adquirido en el Mercado San Francisco del distrito de Villa María del Triunfo provincia y departamento de Lima. De 1 kg de fruto se obtuvo 200 mL de pulpa las cuales se maceraron en etanol 70 % por 10 días con agitación diaria cada 12 horas, posteriormente se filtró, primero con gasa luego con papel de filtro N° 4, el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtención de un extracto seco, el extracto obtenido se pesó, se almacenó en frasco color ámbar y se colocó a refrigeración hasta posterior uso.

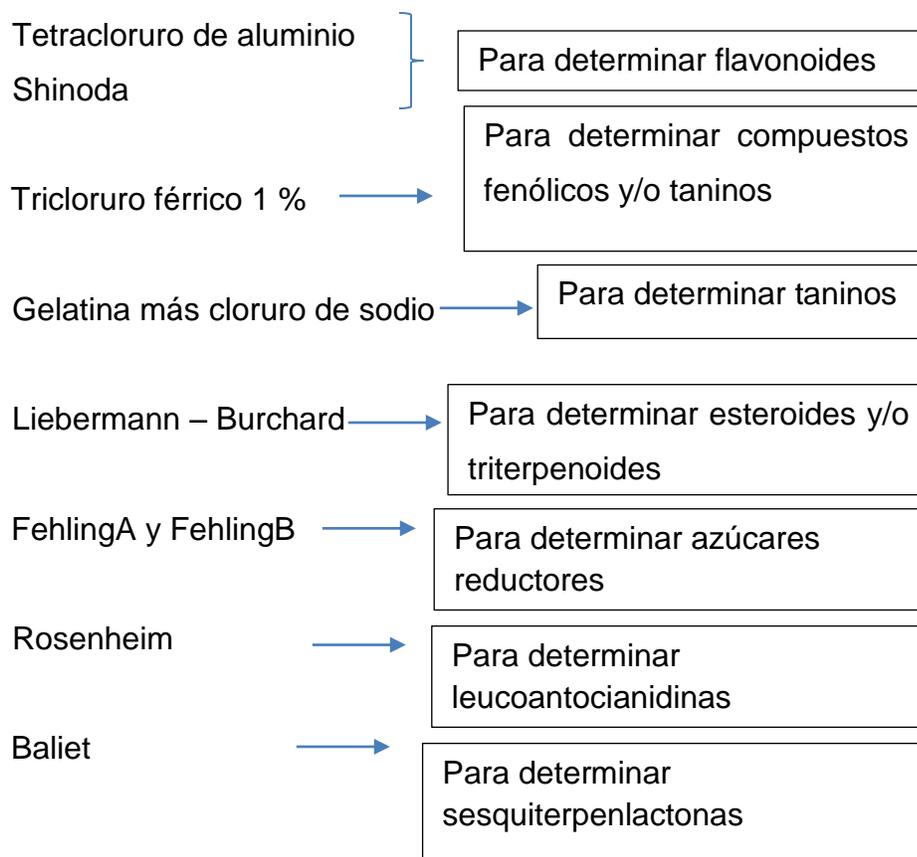
i. Tamizaje fitoquímico (Lock de Ugaz³⁸, 1994)

a) Tamizaje Fitoquímico

Se coge aproximadamente 20 mg de extracto seco, se solubiliza con solvente soluble, luego se agrega entre I a V gotas de los reactivos siguientes:

Mayer,
Dragendorf,
popoff,
Wagner,
Sonneschein

Para determinar alcaloides



3.2.3. Determinación de la actividad hepatoprotectora (Método Ochoa et al.³⁹ modificado en la dosis del paracetamol)

a. Animales de Experimentación

Se usa 30 ratas cepa Holtzman, machos albinos con peso promedio de 220 ± 20 g adquiridos del Instituto Nacional de Salud, mantenidas en condiciones normales de humedad y temperatura; 12 horas luz y 12 horas noche. Las ratas se alimentan con agua y alimento obtenidos del Instituto Nacional de Salud. Antes de la administración de los tratamientos se les hace ayunar por 12 horas.

b. Efecto Hepatoprotector

Se usa el método de intoxicación hepática inducido con paracetamol. Se forman 5 grupos de 6 ratas cada uno distribuidos al azar:

Grupo 1: Solución Salina Fisiológica (5 mL/kg) vía oral;

Grupo 2: Solución salina fisiológica (5 mL/kg) vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/kg). Este procedimiento se realiza por 5 días;

Grupo 3: Extracto hidroalcohólico del fruto de Pitaya 100 mg/kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/kg). Este procedimiento se realiza por 5 días;

Grupo 4: Extracto hidroalcohólico del fruto de Pitaya 300 mg/kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/kg). Este procedimiento se realiza por 5 días;

Grupo 5: Extracto hidroalcohólico del fruto de Pitaya 500 mg/kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/kg). Este procedimiento se realiza por 5 días.

Para la obtención de la muestra se anestesian a los animales con Pentobarbital 30 mg/kg y se obtiene aproximadamente 4 mL de sangre mediante punción cardiaca. En sangre se determina los siguientes indicadores: Transaminasa (TGO y TGP), bilirrubina directa y total, albúmina, fosfatasa alcalina, proteínas totales. Se determinó el peso al inicio y final del experimento.

3.2.4. Materiales, Equipos y Reactivos

a. Materiales

Beacker de vidrio de 50 mL, 100 mL y 250 mL

Algodón CKF 200 g

Gasa Médica 20 x 20 cm

Papel de filtro whatman N° 40
Bagueta de vidrio
Gotero de plástico
Frasco de vidrio color ámbar de 2 L
Fuente de vidrio Pyrex
Guantes de látex descartable
Mascarilla descartable
Gorro descartable
Pipeta de vidrio 1 mL, 2 mL, 5 mL y 10 mL
Propipeta de goma
Mortero y pilón de porcelana
Espátula de metal
Tubos de ensayo de vidrio 13 x 100 mL
Probeta de 100 mL
Cocinilla eléctrica
Sonda orogástrica para ratas
Jaula de metal para ratas
Jeringa de insulina graduada 1 mL Terumo

b. Equipos

Balanza semi analítica marca Sartorius
Balanza analítica marca Sartorius
Balanza triple brazo
Estufa marca Memmert
Campana extractora
Molino casero

c. Reactivo

Acetato de etilo
Agua destilada
Benceno

Cloroformo
Etanol
n-butanol
n. Hexano
Metanol
Mayer
Draguendorff
Tricloruro férrico
Gelatina más cloruro de sodio
Fehling A y Fehling B
Tricloruro de aluminio
Shinoda
Ninhidrina
Liebermann – Burchard
Paracetamol Q.P.
Extracto hidroalcohólico del fruto de Pitaya

3.3. Población y muestra de la investigación

Para el estudio del efecto hepatoprotector, la población de estudio está conformada por ratas cepa Holtzman y la muestra es de 30 ratas con inducción a hepatotoxicidad con paracetamol, de los cuales se obtiene 30 muestras de sangre para evaluación de indicadores descrito en el diseño experimental.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Los datos fueron recogidos individualmente de cada muestra en estudio y se realizaron las tablas y gráficas correspondientes, tal como se muestran en los resultados.

3.5. Procesamiento de datos

Los datos se expresan como media aritmética \pm error estándar, porcentajes, figuras. Para el análisis estadístico se empleó el análisis de varianza de una vía (One-way ANOVA) para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa para la variable evaluada intergrupos e intragrupos, luego se realizó un análisis post hoc mediante el test de tukey. El nivel de significancia fijado fue para $P < 0.05$. Se usó el software estadístico SPSS for Windows versión 20.

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Principales grupos de componentes activos

Los principales grupos de componentes activos del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya” se muestran en la tabla 6 y figura 8. Se hallaron la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides.

Tabla 6. Determinación de los principales grupos de componentes activos del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya”

Nº	Reactivo	Metabolito primario y/o secundario	Coloración y/o precipitación	Resultados
1	AlCl ₃	Flavonoides	Precipitado blanco	+++
2	shinoda		Transparente	+++
3	Gelatina	Taninos	Precipitado blanco	++
4	Mayer	Alcaloides	Precipitado blanco	++
5	Dragendorff		Precipitado rojo o naranja	+++
6	Popoff		Precipitado amarillo	+++
7	Wagner		Precipitado marrón	-
8	Sonneschein		Precipitado naranja	-
9	Liebermann – Burchard	Esteroides y/o triterpenoides	Rojo anaranjado (glicósido triterpénico)	-
10	Fehling A y Fehling B	Azúcares reductores	Color rojo anaranjado	-
11	Rosenheim	Leucoantocianidinas	Color rojo	-
12	Baljet	Sesquiterpenlactonas	Color rojo	-
13	FeCl ₃	Fenoles	Color verde	-
		(+) Presencia	(-) ausencia	

+ = Poco

++ = Regular

+++ = Abundante

Fuente: Elaboración propia

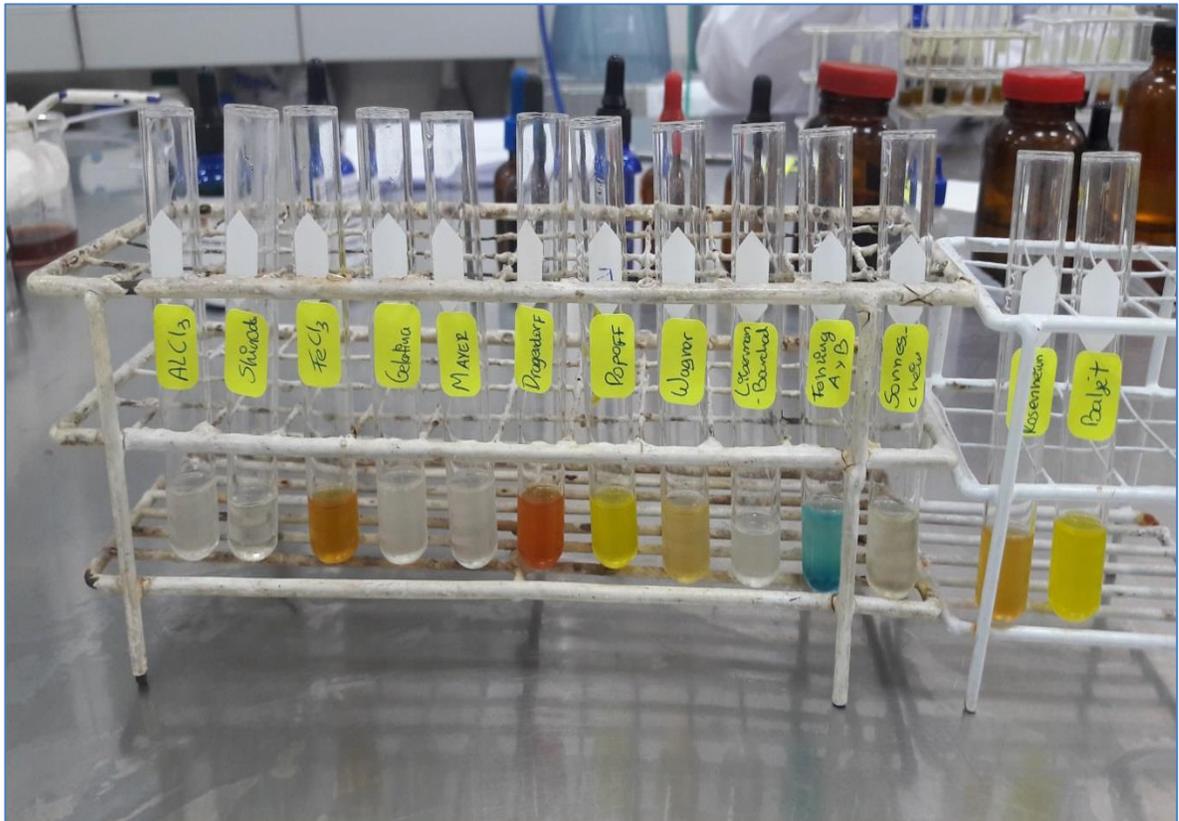


Figura 8. Tamizaje fitoquímico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya”

Fuente: Elaboración propia

4.1.2. Ensayo del efecto hepatoprotector

En la tabla 7 y figura 9, 10 y 11 se aprecia las observaciones de actividad enzimática de las transaminasas (TGO, TGP) y Fosfatasa Alcalina, se halló que existen diferencias significantes entre el grupo control y los grupos de tratamiento con el extracto hidroalcohólico del fruto de la “pitaya”.

Tabla 7. Valores medios de la actividad enzimática de las transaminasas (TGO, TGP) y Fosfatasa Alcalina del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya”

Perfil Hepático	TGO (U/L)	TGP (U/L)	Fosfatasa Alcalina (U/L)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSF	9,71 ± 0,7	12,37 ± 2,5	112,02 ± 5,4
SSF + Paracetamol	41,28 ± 2,0	58,58 ± 2,7	161,34 ± 3,5
Pitaya 100 mg/Kg + Paracetamol	39,29 ± 2,5	45,68 ± 3,3	130,33 ± 2,1
Pitaya 300 mg/Kg + Paracetamol	35,72 ± 2,9	42,09 ± 4,2	123,32 ± 2,4
Pitaya 500 mg/Kg + Paracetamol	33,00 ± 5,2	38,49 ± 4,5	116,79 ± 6,8

DE = Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

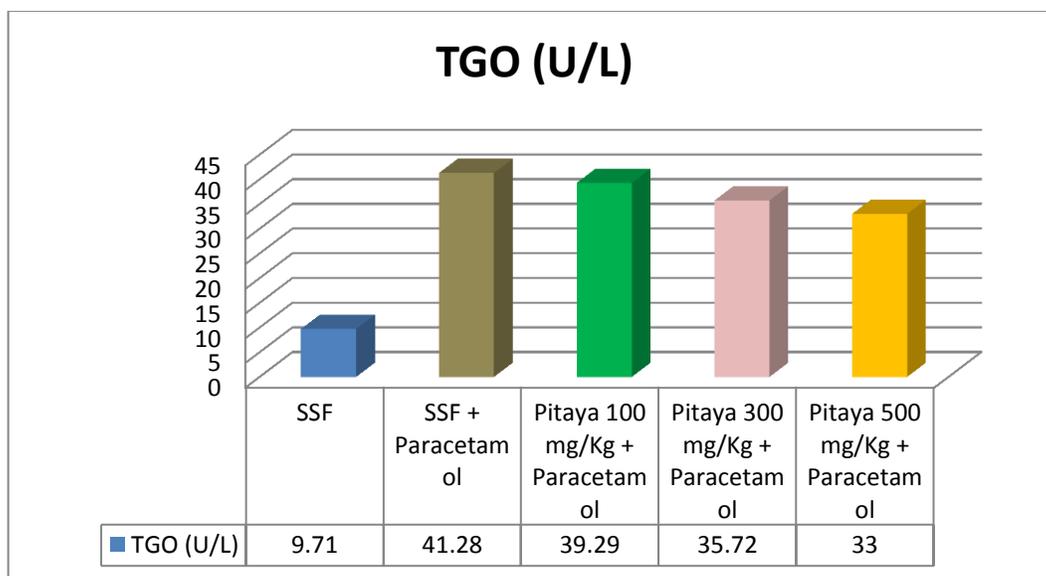


Figura 9. Valores medios de TGO (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

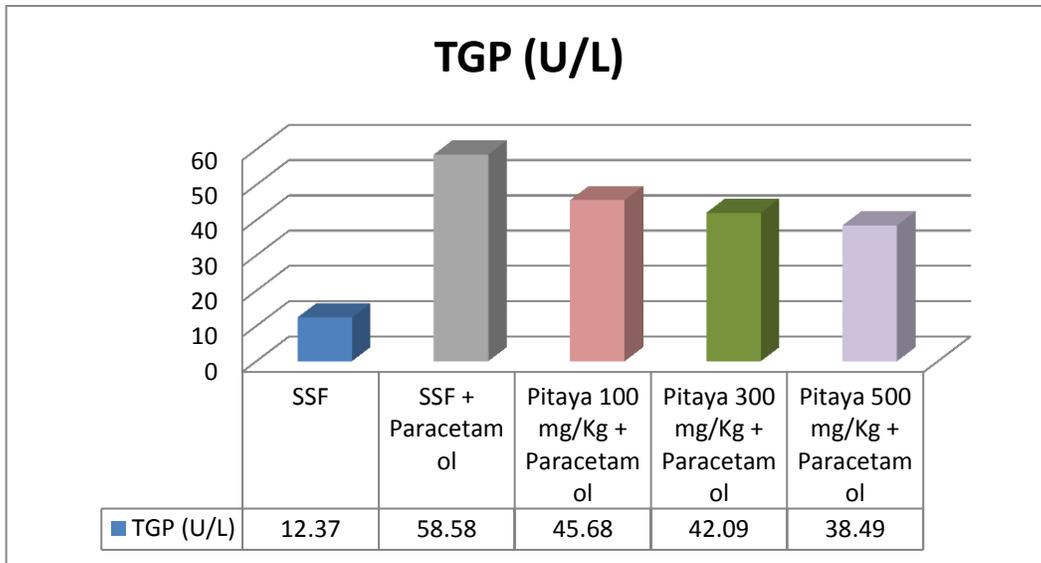


Figura 10. Valores medios de TGP (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

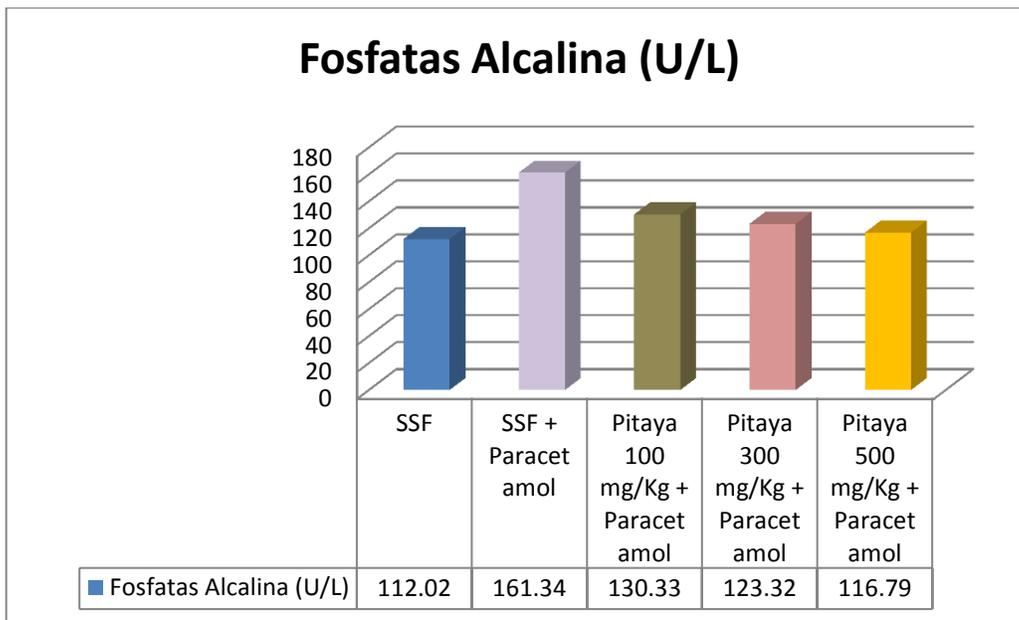


Figura 11. Valores medios de Fosfatasa Alcalina (U/L) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

En la tabla 8 y figura 12, 13, 14 y 15 se aprecia las observaciones de los valores medios bioquímicos de la albúmina, proteínas totales, bilirrubina directa y total, se halló que existen diferencias significantes entre el grupo control y los grupos de tratamiento con el extracto hidroalcohólico del fruto de la “pitaya” ($p < 0,05$)

Tabla 8. Valores medios bioquímicos en suero sanguíneo de ratas del extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya”

Perfil Hepático	Albúmina (g/dL)	Proteínas totales (g/dL)	Bilirrubina directa (mg/L)	Bilirrubina total (mg/dL)
Tratamiento	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE	Media ± DE
SSF	3,70 ± 0,4	7,02 ± 0,3	0,67 ± 0,1	4,16 ± 0,3
SSF + Paracetamol	3,22 ± 0,1	7,20 ± 0,4	1,30 ± 0,3	5,38 ± 0,5
Pitaya 100 mg/Kg + Paracetamol	3,34 ± 0,1	6,93 ± 0,4	1,36 ± 0,1	3,53 ± 0,4
Pitaya 300 mg/Kg + Paracetamol	3,62 ± 0,1	6,90 ± 0,3	1,18 ± 0,1	3,26 ± 0,3
Pitaya 500 mg/Kg + Paracetamol	3,77 ± 0,1	6,81 ± 0,4	0,98 ± 0,1	2,93 ± 0,1

DE = Desviación estándar

Fuente: Elaboración propia

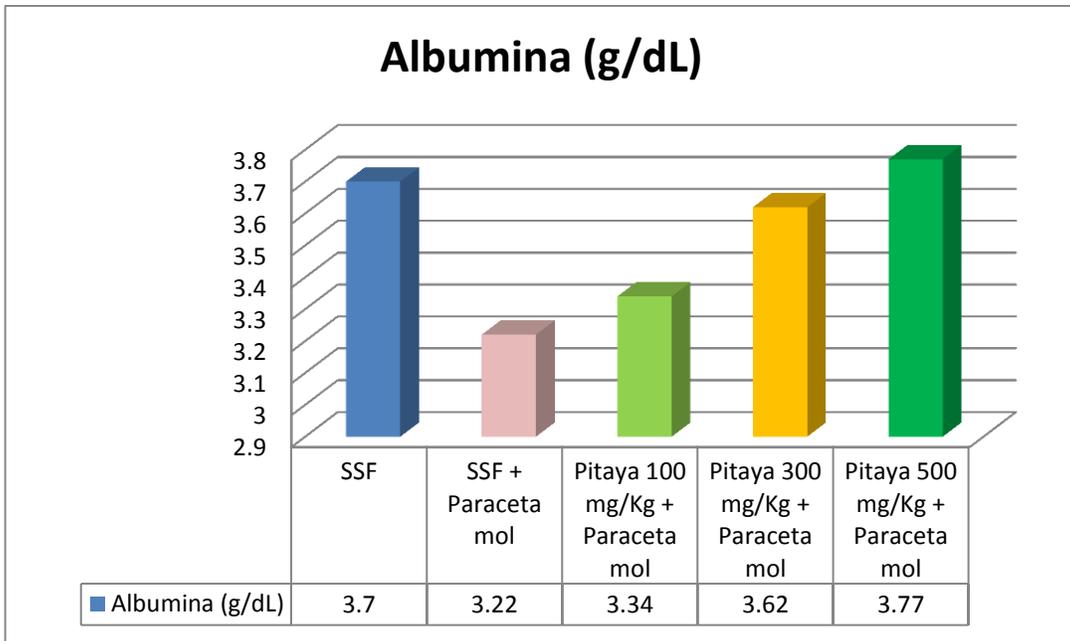


Figura 12. Valores medios de Albúmina (g/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

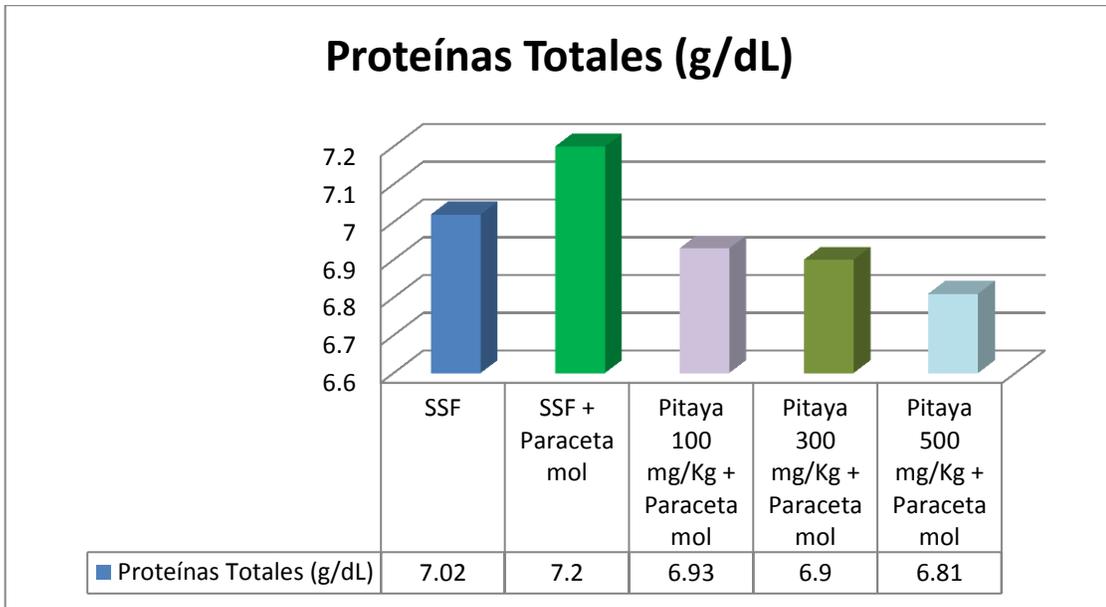


Figura 13. Valores medios de Proteínas Totales (g/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

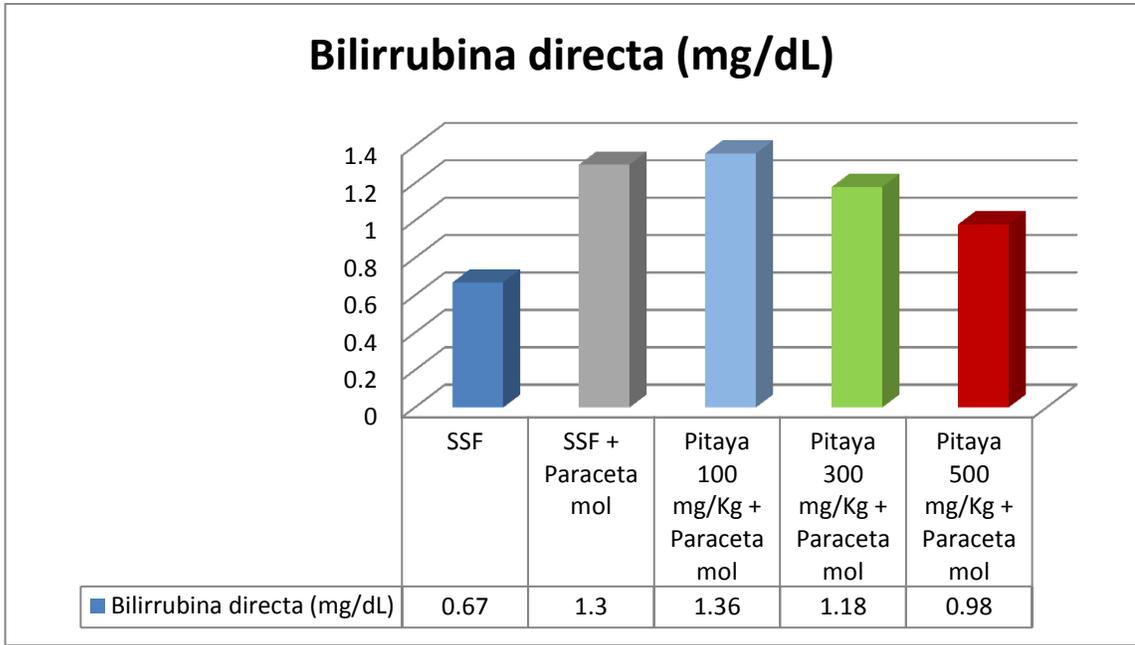


Figura 14. Valores medios de Bilirrubina Directa (mg/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

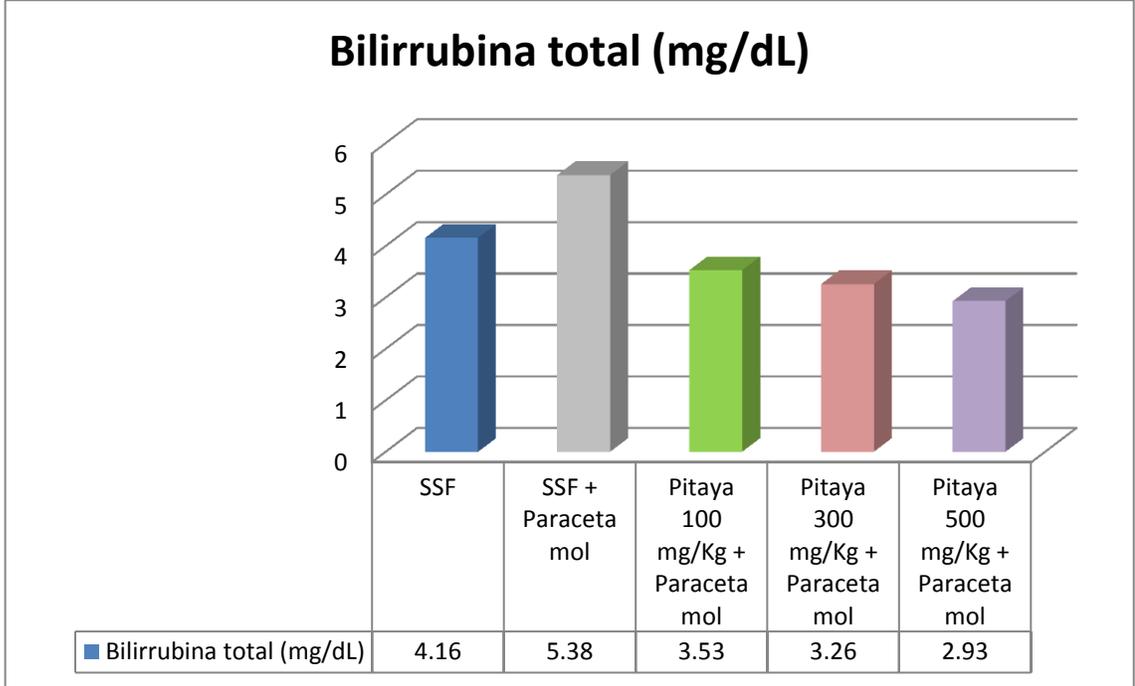


Figura 15. Valores medios de Bilirrubina Total (mg/dL) en suero sanguíneo de ratas según grupos de tratamiento

Fuente: Elaboración propia

4.2. Contrastación de hipótesis

4.2.1. VARIABLE DEPENDIENTE

Efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad

Tipo de Variable : Cuantitativa

Estadístico : Promedio

Conclusión : Se compararon los promedios o medias

4.2.2. VARIABLE INDEPENDIENTE

Extracto hidroalcoholico del fruto "Pitaya"

Número de grupos : 5

Grupo 1 y 2 : Grupo Control blanco, Control negativo

Grupo 3, 4 y 5 : Grupos experimentales sometidos a tratamientos con dosis distintas del extracto hidroalcohólico del fruto de "Pitaya"

Conclusión : Se compararon los promedios o medias de cada grupo

4.2.3. HIPÓTESIS ALTERNA

$\mu_1 \neq \mu_2$

4.2.4. PRUEBA ESTADÍSTICA

Los datos tienen distribución normal y se trabajó con más de tres grupos, se realizó el análisis ANOVA (Análisis de varianza). Para determinar la significancia estadística para la variable intergrupos e intragrupos se realizó el análisis post hoc mediante la prueba de Tukey.

4.2.5. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El análisis se realizó en el paquete estadístico SPSS versión 20, y los resultados se expresaron en promedios y presentados en tablas y gráficos, se trabajó a un nivel de significancia del 95% ($p < 0,05$)

4.3. Discusión de resultados

El paracetamol o n-acetil-para-aminofenol posee propiedades analgésicas y antipiréticas, en el hígado es conjugado a glucorónido o sulfatos (90 a 93%) los cuales son excretados por la orina y aproximadamente el 2% es eliminado sin cambios por la orina y entre el 3 a 8% es metabolizado por el citocromo P450 (CYP2E1, CYP1A2 Y CYP3A) por oxidación el cual produce un metabolito tóxico el N-acetil-para-benzoquinona imina (NAPQI) que es ligado al glutatión y desintoxicado. Cuando existe disminución del glutatión por debajo del 30% se produce exceso de NAPQI que supera el sistema de desintoxicación, ocasiona entonces adherencia del NAPQI a las membranas de las células hepáticas ocasionando muerte celular y necrosis hepática, a la vez puede producir insuficiencia renal aguda.⁴⁰ Este daño genera radicales libres de oxígeno, ocasionando peroxidación lipídica por daño a los ácidos grasos polinsaturados de membrana.⁴¹ En el presente estudio se evidenció el efecto hepatotóxico producido por el paracetamol en ratas luego de administrar 400 mg/Kg durante 5 días, aumentaron los niveles de transaminasas (TGO y TGP), fosfatasa alcalina, bilirrubina y proteínas totales siendo significativo con respecto al grupo control solución salina fisiológica ($p < 0,05$) tabla nº 7 y 8, figura nº 9, 10, 11, 13 y 14. Luego de 5 días de tratamiento con el extracto hidroalcohólico del fruto de “pitaya” se evidenció disminución de los niveles de TGO, TGP, fosfatasa alcalina, bilirrubina total ($p < 0,05$) y aumento significativo de los niveles de albúmina ($p < 0,05$), en las dosis ensayadas 100, 300 y 500 mg/Kg se halló los efectos descritos, presentando mejor efecto la dosis de 500 mg/Kg ($p < 0,05$). Los niveles de proteínas totales aumentaron en el grupo de paracetamol y en los grupos de tratamiento con el extracto de “pitaya” disminuyó ($p < 0,05$). En el extracto en estudio se halló la presencia de flavonoides, taninos y alcaloides, así mismo, ausencia de esteroides y/o triterpenoides, azúcares reductores, leucoantocianidinas y sesquiterpenlactonas. Los flavonoides son apreciados por sus diversas propiedades terapéuticas siendo una de ellas sus efectos antioxidantes por su capacidad de eliminar radicales

libres³ el cual se puede asociar esta propiedad con su efecto hepatoprotector. Por otro lado los taninos tienen la propiedad de precipitar a las proteínas⁴² el cual estaría contribuyendo al efecto hepatoprotector por protección de la membrana celular hepática de los radicales libres. Se puede concluir que según lo observado en el estudio el extracto hidroalcohólico del fruto de “pitaya” ejerce efecto hepatoprotector en ratas con intoxicación aguda producida por paracetamol.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1. Los principales grupos de metabolitos secundarios presentes en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya” son los flavonoides, taninos y alcaloides a los cuales se le puede atribuir su efecto hepatoprotector por contribuir a eliminar los radicales libres producidos por el paracetamol.
2. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya” disminuyó significativamente ($p < 0,05$) los niveles de transaminasas (TGO, TGP), fosfatasa alcalina y bilirrubina comparado con el grupo control paracetamol
3. El extracto hidroalcohólico del fruto de *Selenicereus megalanthus* “pitaya” aumentó de manera significativa ($p < 0,05$) los niveles de albúmina en especial con la dosis de 500 mg/Kg, así mismo disminuyó los niveles de proteínas totales comparado con el grupo control paracetamol

5.2. Recomendaciones

1. Realizar estudios de toxicidad sub agudo y crónico para determinar posibles efectos adversos a largo plazo.
2. Realizar estudio para evaluar su actividad sobre otros componentes bioquímicos como los grupos sulfidrilos en citosol de hígado de ratas y estudios histopatológicos.
3. Realizar estudios farmacológicos a nivel molecular para determinar el mecanismo de acción así como determinar su estructura química de los componentes activos presentes en el extracto.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Escobar R, Bermúdez D, Boffill M, Betancourt E, Igualada I, Alonso B. Evaluación del potencial hepatoprotector de la *Mentha piperita* L. previo a la inducción de hepatotoxicidad con acetaminofén. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2014; 13 (6): 545 – 556
2. Bruguera M, Castro A. Enfermedades Hepáticas, concejos prácticos. Publicaciones Permanyer, Barcelona. 2007
3. Escamilla C, Cuevas E, Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. Rev Fac Med UNAM. 2009; 52(2)
4. Bustios C, Dávalos M, Román R, Zumaeta E. Características epidemiológicas y clínicas de la cirrosis hepática en la unidad de hígado del HNERM Es-Salud. Rev. Gastroenterol. Perú. 2007; 27(3): 238-245
5. Cabezas C. Hepatitis viral B y Delta en el Perú: epidemiología y bases para su control. Rev. Perú. Med. Exp. Salud Pública. 2007; 24(4): 378-97
6. Arnao A, Suárez S, Trabucco J, Cisneros R, Rodrigo M. Efecto hepatoprotector del extracto acuoso de *Smallanthus sonchifolius* (yacón) en un modelo de intoxicación con acetaminofén. An. Fac. Med. 2012; 73(3): 239-244
7. Arce F, Ortiz C, Pablo J, Soto S, Meléndez C, Estela M. Efecto hepatoprotector y antioxidante de *Taraxacum officinale* en el daño hepático inducido por el tetracloruro de carbono en la rata. Rev. Mex. Cienc. Farm. 2013; 44(4): 53-61
8. Hañari Q, Arroyo J, Herrera O, Herrera H. Efecto hepatoprotector del extracto hidroetanólico atomizado del maíz morado (*Zea mays* L.) en lesiones hepáticas inducidas en ratas. An Fac med. 2015;76(2):123-28
9. Celis A, Mendoza C, Pachón M, Cardona J, Delgado W, Cuca L. Extractos vegetales utilizados como biocontroladores con énfasis en la familia Piperaceae. Una revisión. Agronomía Colombiana. 2008; 26(1): 97-106
10. Mezones L, Lara R, Paredes R, Goñi A, Cenizario L, Chiclayo Y, Garibay R, Huamán L, Neyra N, Flores M, Chávez R. Efecto hepatoprotector del

- Asparagus officinalis* (espárrago verde) en daño inducido por fármacos antituberculosos. Revista Peruana de Medicina Integrada. 2016; 1(3): 19-26
11. Sánchez C, Sotomayor G. Efecto hepatoprotector de fruta de la *Opuntia ficus indica* (tuna) variedad morada en ratas con intoxicación hepática inducida por paracetamol. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Cybertesis. 2015. En línea fecha de acceso 10 de enero 2018. URL disponible: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4192>.
 12. Guevara A, Marín C, Mantilla E, Ybañez R. Efecto del infuso de *Petroselinum sativum* sobre la insuficiencia hepática inducida en *Rattus norvegicus* var. *albinus*. Revista Farmaciencia. 2014; 2(1): 39-47
 13. Cañamero C, Arévalo M. Pitahaya (*Hylocereus undatus*) deshidratada por ósmosis en algarrobina. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión. Tesis para optar el título de licenciado en Bromatología y Nutrición. 2014
 14. Almasi F, Khazaei M, Chehrei S, Ghanbari A. Hepatoprotective Effects of *Tribulus terrestris* Hydro-Alcoholic Extract on Non-Alcoholic Fatty Liver-Induced Rats. Int. J. Morphol. 2017; 35(1): 245-350
 15. Tillán I, Bueno V, Carrillo C, Agüero S, Valdés O. Actividad hepatoprotectora del extracto acuoso seco de *Boerhavia erecta* L. (tostón) en ratas. Rev Cubana Plant. Med. 2009; 14(3): 29-36
 16. Bafna A, Mishra S. Efecto del extracto de metanol de *Achyranthes aspera* linn. Sobre la hepatotoxicidad inducida por rifampicina en ratas. Ars. Pharm. 2005; 45(4): 343-351
 17. Franciscus A, Highleyman L. Introducción sobre el hígado. Hoja informativa HCSP. 2017. En Línea. Fecha de acceso 10 enero 2018. URL disponible: http://hcvadvocate.org/hepatitis/sp_factsheets/EI%20h%C3%ADgado.pdf
 18. Fernández E, Fernández J, Moreno I, Moreno M. Aproximación al diagnóstico de enfermedades hepáticas por el laboratorio clínico. Medina & Laboratorio. 2008; 14(11): 533-546
 19. Cortés L, Montoro M. Datos de Laboratorio: pruebas hepáticas alteradas. Unidad de Gastroenterología y Hepatología, Hospital de San Jorge,

- Huesca. 2017. En Línea. Fecha de Acceso 10 enero 2018. URL disponible: http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/48_Datos_laboratorio_Pruebas_hepaticas_alteradas.pdf
20. Planas R, Salmerón J. Enfermedades hepáticas. Consejos Prácticos. Asociación Española para el estudio del Hígado. Publicaciones Penmanyer. En Línea. Fecha de acceso 10 enero 2018. URL disponible en: <http://www.owlmetabolomics.com/enfermedades-hepaticas.aspx>
21. Mesejo A, Juan M, Serrano A. Cirrosis y encefalopatía hepáticas: consecuencias clínico-metabólicas y soporte nutricional. *Nutr. Hosp.* 2008; 23(2): 8-18
22. Rodés J. Ictericia y Colestasis. Hospital Clinic. Barcelona. 2017. En Línea. Fecha de acceso 10 enero 2018. URL disponible en: http://www.aegastro.es/sites/default/files/archivos/ayudas-practicas/10_Ictericia_y_colestasis.pdf
23. Rodríguez C. Actualización sobre hepatitis viral: etiología, patogenia, diagnóstico microbiológico y prevención. *Rev. Cubana. Med. Gen. Integr.* 2000; 16(6): 574-85
24. Quintero E, Pardo A. Tratamiento de las enfermedades hepáticas por depósito. *Gastroenterol Hepatol.* 2007; 30(1): 51-6
25. Cubides A, Gonzales E. *Farmacognosia*, Ed. UNAD. Bogotá. 2002
26. Ávalos A, Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal.* 2009; 2(3): 119-145
27. Churampi L, Montes E. Evaluación de la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico del fruto de *Passiflora mollissiana* (Kunth) “tumbo serrano” y su uso como activo biológico en industria cosmética. Lima. 2015
28. Martínez S, González J, Culebras M, Tuñón J. Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutr. Hosp.* 2002; 17(6): 271-278
29. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales.* La Habana. 2001; 22(2): 5-14
30. Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química.* 2014; 31(2): 68-81

31. Rosellón A. Nuevas estrategias sintéticas hacia triterpenos irregulares y cromano derivados. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada (Tesis Doctoral). 2005
32. Arango G. Alcaloides y Compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. 2008. En línea, acceso 14 abril 2018. URL disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/856/alcaloides.pdf>
33. Vite A. Posibilidades de introducción del cultivo de pitaya en el distrito de Frías (Ayabaca – Piura). Espacio y Desarrollo. 2014; 26(1): 129-142
34. Alvarado A. Sistema productivo del cultivo de pitaya amarilla (*Selenicereus megalanthus*) en Boyacá Colombia. Espacio I+D innovación más desarrollo. 2015; 6(9): 155-170
35. Medina J, Rebolledo A. Tecnología para el manejo de pitaya amarilla *Selenicereus megalanthus* (K. Schum. Ex Vaupel) Moran en Colombia. Corpoica. Palmira. 2013
36. Sharapin N., Rocha L., Pinzón. CYTED Organization, and Convenio Andrés Bello Organization. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Programa Iberoamericano de Ciencias y Tecnología para el Desarrollo: Subprograma X Química Fina Farmacéutica, 2000
37. 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
38. Lock de Ugaz, O. Investigación Fitoquímica. Segunda Edición. Lima: Editorial Fondo Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994
39. Ochoa C, Granda C, Chapoñan M, Borja R, Borjas P, Ortiz J, Ugaz G, Puerta E, Pucutay M. Efecto Protector de *Peumus Boldus* en ratas con toxicidad hepática inducida por Paracetamol. CIMEL Ciencia e Investigación Médica. Estudiantil Latinoamericana. 2008
40. Secretaria de Salud del Estado de Veracruz. Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por paracetamol. En línea, fecha de acceso 14 abril 2018. Disponible en URL:

<https://www.ssaver.gob.mx/citver/files/2014/03/Intoxicaci%C3%B3n-por-Paracetamol.pdf>

41. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Biol.* 2007; 39: 44-84
42. Nwafor P, Okwuasaba F, Binda L. Antidiarrhoeal and antiulcerogenic effects of methanolic extracts of *Asparagus pubescens* root in rats. *J Ethnopharmacol.* 2000; 72(3): 421 – 427

ANEXOS

Anexo 1. Matriz de consistencia

Efecto hepatoprotector del extracto hidroalcoholico del fruto *Selenicereus megalanthus* “pitaya” en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGÍA
<p>GENERAL</p> <p>1. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” tendrá efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo?</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>1. ¿Cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” que tendrán efecto hepatoprotector en ratas?</p> <p>2. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” afectará el perfil hepático</p>	<p>GENERAL</p> <p>1.Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” tendrá efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>1.Determinar cuáles serán los principales grupos de metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” que tendrán efecto hepatoprotector en ratas</p> <p>2.Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” afectará el perfil hepático en ratas</p>	<p>GENERAL</p> <p>1.extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” si tiene efecto hepatoprotector en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>1.El extracto hidroalcohólico del fruto <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” tiene metabolitos secundarios responsables del efecto hepatoprotector en ratas</p> <p>2. El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” afecta el perfil hepático en ratas</p> <p>3. El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya” afecta los indicadores bioquímicos en ratas</p>	<p>VI</p> <p>Extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Selenicereus megalanthus</i> “Pitaya”</p> <p>VD</p> <p>Efecto hepatoprotector</p>	<p>Principales grupos de metabolitos secundarios</p> <p>Aspectos bioquímicos hepáticos</p>	<p>Flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides y triterpenoides, leucoantocianidinas, sesquiterpenlctonas, azúcares reductores</p> <p>Perfil hepático</p> <p>Variables bioquímicos</p>	<p>Grupo 1: Solución Salina Fisiológica (5 mL/Kg) vía oral;</p> <p>Grupo 2: Solución salina fisiológica (5 mL/Kg) vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/Kg). Este procedimiento se realizó por 5 días);</p> <p>Grupo 3: Extracto hidroalcohólico del fruto de Pitaya 100 mg/Kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/Kg). Este procedimiento se realizó por 5 días);</p> <p>Grupo 4: Extracto hidroalcohólico del fruto de pitaya 300 mg/Kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/Kg). Este procedimiento se realizó por 5 días);</p> <p>Grupo 5: Extracto hidroalcohólico del fruto</p>

<p>en ratas?</p> <p>3. ¿El extracto hidroalcohólico del fruto de Selenicereus megalanthus "Pitaya" afectará los indicadores bioquímicos en ratas?</p>	<p>3.Determinar si el extracto hidroalcohólico del fruto de Selenicereus megalanthus "Pitaya" afectará los indicadores bioquímicos en ratas</p>				<p>de Pitaya 500 mg/Kg vía oral, luego de media hora una dosis intraperitoneal de Paracetamol (400 mg/Kg). Este procedimiento se realizó por 5 días)</p>
	<p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p>Tipo: Experimental</p> <p>Tipo de estudio: Estudio prospectivo, transversal, experimental</p>	<p>Población: 30 ratas machos cepa Holtzman con peso promedio 220g ± 20 g obtenidos del Instituto Nacional de Salud</p> <p>Muestras: Muestras de sangre de ratas inducidas a toxicidad hepática aguda</p>	<p>Técnica: Observación</p> <p>Instrumento: Ficha de observación</p>	<p>Diseño de Investigación : Diseño para evaluar el efecto hepatoprotector por el método de inducción de toxicidad hepática con paracetamol</p>	

Anexo 2. Análisis ANOVA del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “pitaya” en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo.

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Albumina (g/dL)	Inter-grupos	1.354	4	.339	108.444	.000
	Intra-grupos	.078	25	.003		
	Total	1.432	29			
Proteinas Totales (g/dL)	Inter-grupos	.421	4	.105	.830	.519
	Intra-grupos	3.174	25	.127		
	Total	3.596	29			
TGO (U/L)	Inter-grupos	3904.241	4	976.060	104.524	.000
	Intra-grupos	233.454	25	9.338		
	Total	4137.695	29			
TGP (U/L)	Inter-grupos	6875.282	4	1718.820	135.877	.000
	Intra-grupos	316.245	25	12.650		
	Total	7191.527	29			
Fosfatasa Alcalina (U/L)	Inter-grupos	9103.750	4	2275.937	116.283	.000
	Intra-grupos	489.311	25	19.572		
	Total	9593.061	29			
Bilirrubina Directa (mg/L)	Inter-grupos	1.853	4	.463	14.735	.000
	Intra-grupos	.786	25	.031		
	Total	2.639	29			
Bilirrubina Total (mg/L)	Inter-grupos	22.446	4	5.611	48.687	.000
	Intra-grupos	2.881	25	.115		
	Total	25.327	29			

Anexo 3: Análisis de comparaciones múltiples post hoc del efecto hepatoprotector del extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “pitaya” en ratas con inducción a hepatotoxicidad agudo

Variable dependiente	(I) grupo	(J) grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Albumina (g/dL)	SSF	SSf + Paracetamol	.47667	.03226	.000	.3819	.5714
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	.35167	.03226	.000	.2569	.4464
	SSf + Paracetamol	SSF	-.47667	.03226	.000	-.5714	-.3819
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	-.12500	.03226	.006	-.2197	-.0303
		Pitaya 300 mg + Paracetamol	-.40167	.03226	.000	-.4964	-.3069
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	-.55333	.03226	.000	-.6481	-.4586
	Pitaya 100 mg + Paracetamol	SSF	-.35167	.03226	.000	-.4464	-.2569
		SSf + Paracetamol	.12500	.03226	.006	.0303	.2197
		Pitaya 300 mg + Paracetamol	-.27667	.03226	.000	-.3714	-.1819
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	-.42833	.03226	.000	-.5231	-.3336
	SSf + Paracetamol	SSf + Paracetamol	.40167	.03226	.000	.3069	.4964
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	.27667	.03226	.000	.1819	.3714
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	-.15167	.03226	.001	-.2464	-.0569
	SSf + Paracetamol	SSf + Paracetamol	.55333	.03226	.000	.4586	.6481
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	.42833	.03226	.000	.3336	.5231
Pitaya 300 mg + Paracetamol		.15167	.03226	.001	.0569	.2464	
TGO (U/L)	SSF	SSf + Paracetamol	-31.57167	1.76429	.000	-36.7532	-26.3902
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	-29.57500	1.76429	.000	-34.7565	-24.3935
		Pitaya 300 mg + Paracetamol	-26.01167	1.76429	.000	-31.1932	-20.8302
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	-23.28667	1.76429	.000	-28.4682	-18.1052
	SSf + Paracetamol	SSF	31.57167	1.76429	.000	26.3902	36.7532
		Pitaya 300 mg + Paracetamol	5.56000	1.76429	.031	.3785	10.7415
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	8.28500	1.76429	.001	3.1035	13.4665
	Pitaya 100 mg + Paracetamol	SSF	29.57500	1.76429	.000	24.3935	34.7565
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	6.28833	1.76429	.012	1.1068	11.4698
	Pitaya 300 mg + Paracetamol	SSF	26.01167	1.76429	.000	20.8302	31.1932
		SSf + Paracetamol	-5.56000	1.76429	.031	-10.7415	-.3785
	Pitaya 500 mg + Paracetamol	SSF	23.28667	1.76429	.000	18.1052	28.4682
		SSf + Paracetamol	-8.28500	1.76429	.001	-13.4665	-3.1035

		Pitaya 100 mg + Paracetamol	-6.28833	1.76429	.012	-11.4698	-1.1068
Bilirrubina Directa (mg/L)	SSF	SSf + Paracetamol	-6.2500	.10238	.000	-.9257	-.3243
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	-.68500	.10238	.000	-.9857	-.3843
		Pitaya 300 mg + Paracetamol	-.50667	.10238	.000	-.8073	-.2060
	SSf + Paracetamol	SSF	.62500	.10238	.000	.3243	.9257
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	.31833	.10238	.034	.0177	.6190
	Pitaya 100 mg + Paracetamol	SSF	.68500	.10238	.000	.3843	.9857
		Pitaya 500 mg + Paracetamol	.37833	.10238	.009	.0777	.6790
	Pitaya 300 mg + Paracetamol	SSF	.50667	.10238	.000	.2060	.8073
	Pitaya 500 mg + Paracetamol	SSF	.30667	.10238	.044	.0060	.6073
		SSf + Paracetamol	-.31833	.10238	.034	-.6190	-.0177
		Pitaya 100 mg + Paracetamol	-.37833	.10238	.009	-.6790	-.0777

Anexo 4. Testimonios fotográficos



Figura 1. Proceso de filtrado del extracto hidroalcohólico del fruto *Selenicereus megalanthus* “pitaya”



Figura 2. Preparación del material farmacológico para el estudio hepatoprotector



Figura 3. Administración de los tratamientos a ratas

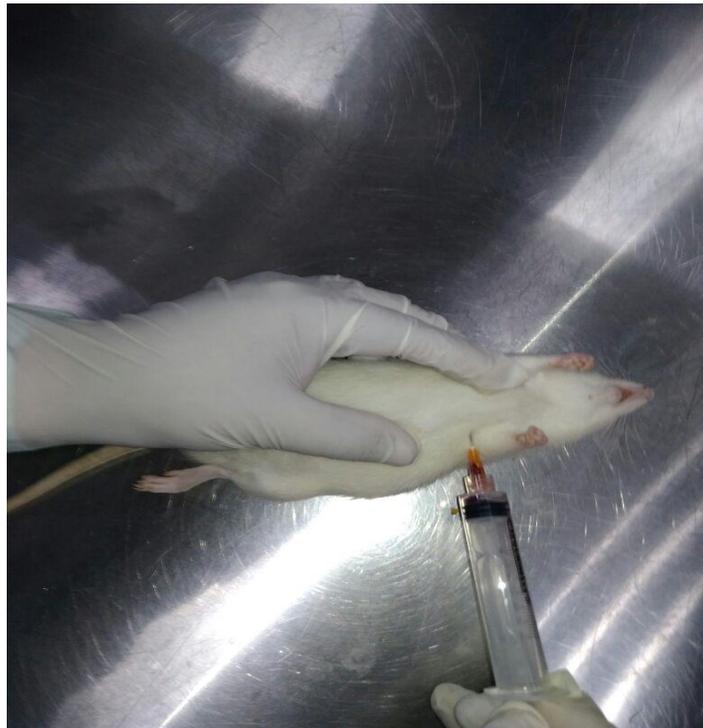


Figura 4. Obtención de muestras de sangre a ratas por punción cardiaca